PETROBRAS

Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos

PMC-BS

8º Relatório Anual

Volume I: Apresentação e Discussão de Resultados Orientados aos Objetivos

Revisão 00

Março/2024

CONTROLE DE REVISÕES

REV.	DESCRIÇÃO	DATA
00	Documento Original	01/03/2024

	Original	Rev. 01	Rev. 02	Rev. 03	Rev. 04
Data	01/03/2024				
Elaboração	Leonardo Wedekin, Ana Cypriano, Carolina Bezamat, Fábio Daura-Jorge, José Olimpio, Alexandre Paro, Marta Cremer, Renan Paitach, Renato Carreira				
Verificação	José Olimpio e Leonardo Wedekin				
Aprovação	José Olimpio				

ÍNDICE GERAL

EQUIPE TÉCNICA DA SOCIOAMBIENTAL RESPONSÁVEL PELO 8º RELATÓRIO ANUAL DO PMC-BS 39
I. INTRODUÇÃO 41
II. RESUMO EXECUTIVO 44
III. RESUMO DOS MÉTODOS 50
IV. ESFORÇO E TAMANHO AMOSTRAL 58
IV.1 Esforço e tamanho amostral no Ciclo de Médio Prazo 59
IV.2 Esforço e tamanho amostral em toda a série temporal 63
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO ORIENTADA PARA OS OBJETIVOS 70
V.1 Descrição da comunidade de cetáceos 70
V.1.1 Material e Métodos – comunidade de cetáceos 71
V.1.2 Resultados – comunidade de cetáceos e uso de habitat 72
V.1.3 Discussão – comunidade de cetáceos e uso de habitat 89
V.2 Distribuição, Uso de Habitat e Movimentos 93
V.2.1 Habitats dos cetáceos na Bacia de Santos 93
V.2.2 Movimentos 113
V.2.3 Estrutura Genética Populacional 150
V.3 Biologia populacional 177
V.3.1 Estimativas de densidade e abundância de cetáceos 177
V.3.2 Estimativa do Tamanho Efetivo da População 194
V.3.3 Diversidade Genética 201
V.3.4 Proporção Sexual 210
V.3.5 Tamanho corporal por fotogrametria 215
V.4 Padrões comportamentais 219
V.4.1 Comportamento de mergulho 219
V.4.2 Repertório acústico 241
V.4.3 Atividades sísmicas e cetáceos 276
V.4.4 Processamento dos dados do PMPAS-BS 365
V.5 Estado de Saúde e Grau de Contaminação 388
V.5.1 Análise de lesões de pele 388

V.5.2 Isótopos Estáveis de carbono ($\delta^{13}C$) e de nitrogênio ($\delta^{15}N$) em Pele 396

V.5.3 Compostos Orgânicos - Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) e Organohalogenados em Tecido Adiposo 411

V.5.4 Biomarcadores..... 450

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 489

VI.1 Avanços obtidos em relação aos anos anteriores e consecução dos objetivos do Projeto..... 489

VI.2 Avaliação dos Resultados Orientados para os Objetivos..... 493

VI.3 Produção Acadêmica do PMC-BS 499

VI.4 Avaliação de Aspectos Antrópicos 500

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 505

LISTA DE TABELAS

Tabela IV.1-1: Esforço amostral e detecções de cetáceos nas Campanhas de Telemetria e de Avistagem Embarcada e MAP do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS. MAP = Monitoramento Acústico Passivo; mn = milhas náuticas. 60

Tabela IV.2-1: Espécies de cetáceos marcadas com sucesso com transmissores satelitais, usando diferentes sistemas de ancoragem, e transmissores arquivais (DTAGs e Cats Cam) durante as Campanhas de Telemetria do PMC na Bacia de Santos entre 2015 e 2023..... 66

Tabela IV.2-2:Número cumulativo de indivíduos em cada catálogo por espécie até o final do Ciclo de Curto Prazo (até a 12ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP) e no Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS (da 13ª até a 16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP*). 68

Tabela IV.2-3: Número total de biópsias coletadas por espécie no Ciclo de Curto Prazo (até a 12ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP 12) e no Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS (da 13ª até a 16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP*). 69

Tabela V.1-1: Espécies de cetáceos avistadas pelo PMC-BS na bacia de Santos entre 2015 e 2023. Tipo de Campanha do PMC-BS: AE = Avistagem Embarcada; AA = Avistagem Aérea; TE = Telemetria. Status de conservação: MMA = Ministério do Meio Ambiente; IUCN = União Internacional para Conservação da Natureza; CR = “Criticamente ameaçada”, EN = “Ameaçado de extinção”, VU = “Vulnerável”, NT = “Quase ameaçada”, LC = “Baixo risco”, DD = “Deficiente em Dados.... 75

Tabela V.1-2: Características do habitat (profundidade e temperatura), tamanho de grupo e presença de filhotes das espécies de cetáceos avistadas pelo PMC-BS na Bacia de Santos entre 2015 e 2023. Classificação da espécie quanto à batimetria de seu habitat: C = costeira (até 30 m); P = plataforma continental (30 a 200 m); T = talude (200 a 2.000 m); O = oceânica (> 2.000 m). * Espécies migratórias. 84

Tabela V.2-1:Espécies ou grupos de cetáceos considerados nas modelagens de distribuição espacial potencial na Bacia de Santos. Notação (ver texto para detalhes): N = número de detecções; AUC = area under the ROC curve; ETSS = Equal Training Sensitivity and Specificity. 96

Tabela V.2-2:Variáveis ambientais utilizadas para a modelagem de distribuição espacial potencial de cetáceos da Bacia de Santos. 97

Tabela V.2-3: Informações sobre os indivíduos marcados com sucesso com transmissores satelitais (n = 94) nas Campanhas de Telemetria dos Ciclos de Curto e de Médio Prazo (sete primeiros anos) do PMC-BS. PTT = número de identificação do transmissor no sistema Argos; $D_{marcação}$= data de marcação do indivíduo; P_{total} = total de pontos de localização registrados para o indivíduo; P_{filtro} = total de pontos resultantes após a filtragem; $\%_{filtro}$ = percentual de pontos remanescentes após a filtragem (com base no Filtro de Freitas); D_{total} = distância percorrida pelo indivíduo desde a data de marcação até o último ponto registrado, em km; $D_{média}$ = distância média percorrida por dia, em km. S = sexo (M = macho; F = fêmea). Não foi possível realizar a biópsia em alguns indivíduos, o que impossibilitou a sexagem genética. 116

Tabela V.2-4:Informações sobre o número de transmissores, número de posições transmitidas, dias de monitoramento e distância monitorada para cada espécie, assim como um resumo das características do habitat de ocorrência das espécies marcadas com transmissores satelitais ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazo (sete primeiros anos) do PMC-BS, considerando os indivíduos para os quais foram obtidas informações (n = 83). N = número de transmissores; P = número de posições; Distância média: distância média percorrida por dia de monitoramento; DP: desvio padrão; mínimo e máximo. Faixa latitudinal: mínimo e máximo em graus decimais. Profundidade da área de ocorrência: média ± desvio padrão (mínimo – máximo), em metros. .. 120

Tabela V.3-2: Modelos de detecção para Stenella frontalis na Bacia de Santos ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike).

Notação: k = número de parâmetros; (cat) = variável categórica; (cont) = variável contínua. 180
Tabela V.3-3: Estimativa de densidade e abundância de Stenella frontalis durante as campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação. 181
Tabela V.3.1-4: Estimativa de densidade e abundância de Stenella frontalis nos diferentes estratos da Bacia de Santos durante as campanhas de Avistagem Embarcada realizadas na estação quente em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação; CN = região costeira norte; CS = região costeira sul; ON = região oceânica norte; OS = região oceânica sul; PN = plataforma continental norte; PS = plataforma continental sul; TN = talude norte; TS = talude sul. 183
Tabela V.3-5: Estimativa de densidade e abundância de Stenella frontalis nos diferentes estratos da Bacia de Santos durante as campanhas de Avistagem Embarcada realizadas na estação fria em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação; CN = região costeira norte; CS = região costeira sul; ON = região oceânica norte; OS = região oceânica sul; PN = plataforma continental norte; PS = plataforma continental sul; TN = talude norte; TS = talude sul. 184
Tabela V.3-6: Modelos de detecção para Tursiops truncatus na Bacia de Santos ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike). Notação: k = número de parâmetros; (cat) = variável categórica; (cont) = variável contínua. 185
Tabela V.3-7: Estimativa de densidade e abundância de Tursiops truncatus durante as campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação. 186
Tabela V.3-8: Estimativa de densidade e abundância de Tursiops truncatus nos diferentes estratos da Bacia de Santos durante as campanhas de

Avistagem Embarcada realizadas na estação quente em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação; CN = região costeira norte; CS = região costeira sul; ON = região oceânica norte; OS = região oceânica sul; PN = plataforma continental norte; PS = plataforma continental sul; TN = talude norte; TS = talude sul. 188

Tabela V.3-9: Estimativa de densidade e abundância de Tursiops truncatus nos diferentes estratos da Bacia de Santos durante as campanhas de Avistagem Embarcada realizadas na estação fria em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação; CN = região costeira norte; CS = região costeira sul; ON = região oceânica norte; OS = região oceânica sul; PN = plataforma continental norte; PS = plataforma continental sul; TN = talude norte; TS = talude sul. 189

Tabela V.3-10: Estimativas de tamanho efetivo contemporâneo das populações de cinco delfinídeos (Tursiops truncatus, Stenella frontalis, S. longirostris, S. attenuata e D. delphis) e um misticeto (Balaenoptera borealis) amostrados no PMC-BS para os diferentes valores críticos (p_{crit}). IC = intervalo de confiança. 197

Tabela V.3-11: Diversidade genética do DNA mitocondrial das espécies de cetáceos amostradas na Bacia de Santos pelo PMC-BS. n = número de amostras, Seq. (pb) = sequência em pares de bases, S = sítios polimórficos, H = haplótipos, h = diversidade haplotípica, π = diversidade nucleotídica (%). 203

Tabela V.3-12: Diversidade genética dos locos de microssatélites dos cetáceos amostrados na Bacia de Santos pelo PMC-BS. n = número de amostras, N = número de locos, A = número médio de alelos por loco, H_O = heterozigozidade observada, H_E = heterozigozidade esperada, $P_{(ID)}$ e $P_{(ID)sib}$ = probabilidades de identidade. 206

Tabela V.3-13: Número de machos e fêmeas identificados geneticamente e proporção sexual (F:M = fêmeas para machos) para cada espécie amostrada nas campanhas de Telemetria e de Avistagem Embarcada e

MAP do PMC-BS. *Inclui 2 amostras (1 macho e 1 fêmea) coletadas no norte do estado de Santa Catarina. 211
Tabela V.4-1:Características dos mergulhos das espécies marcadas com transmissores satelitais ao longo de oito anos de PMC-BS. Os valores mínimos entre parênteses indicam qual a profundidade mínima definida na análise para considerar uma imersão como sendo um mergulho. . 221
Tabela V.4-2: Quantitativo de assobios selecionados e analisados para extração de parâmetros acústicos, para as sete espécies mais representativas registradas pelo PMC-BS, bem como número de assovios ainda a serem analisados (considerando máximo de 50 assovios por detecção). 249
Tabela V.4-3: Conjuntos de dados balanceados e não balanceados utilizado para treinamento do classificador automatizado de assovios de delfinídeos da Bacia de Santos pelo PMC-BS. 253
Tabela V.4-5:Acurácia dos classificadores automatizados de assovios de delfinídeos em desenvolvimento pelo PMC-BS para as diferentes abordagens de treinamento e teste de florestas aleatórias empregadas. Resultados para classificação de assovios individuais e das detecções acústicas e modelos com e sem a variável profundidade incluída. 263
Tabela V.4-6:Parâmetros acústicos dos assovios de delfinídeos registrados pelo PMC-BS na Bacia de Santos e respectivos parâmetros ambientais (abióticas e sociais) correspondentes ao momento das detecções acústicas. (valores de média ± desvio padrão, mínimo–máximo). 272
Tabela V.4-7:Coeficiente estimados das relações observadas pelos GLMM (modelos lineares generalizados mistos) entre os parâmetros acústicos dos assovios de delfinídeos na Bacia de Santos e parâmetros ambientais (abióticos e sociais). 273
Tabela V.4-8: Resumo dos projetos de sísmica, e suas etapas, realizados na Bacia de Santos entre 2015 e 2023. Notação: AE = Campanha de Avistagem Embarcada e Monitoramento Acústico Passivo (MAP); AA = Campanha de Avistagem Aérea. 282

Tabela V.4-9:Resumo das detecções de cetáceos e esforço amostral do PMC-BS coincidentes com status “on” das fontes de atividades de pesquisa sísmica 293
Tabela V.4-10: Modelos Generalizados Lineares Mistos (GLMM) para a taxa de encontro de misticetos do PMC-BS nas áreas de entorno de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos. Modelos considerados plausíveis (Delta AIC menor que dois) foram marcados em negrito e grifados em azul. 296
Tabela V.4-11: Modelos Generalizados Lineares Mistos (GLMM) para a taxa de encontro de odontocetos do PMC-BS nas áreas de entorno de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos. Modelos considerados plausíveis (Delta AIC menor que dois) foram marcados em negrito e grifados em azul. 300
Tabela V.4-12: Resumo do esforço amostral e das avistagens realizadas no entorno do campo de Iracema durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 13ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS (considerando todo o desenho amostral). 307
Tabela V.4-13: Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos de cetáceos observados em esforço por dia durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 13ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Iracema (considerando todo o desenho amostral). 308
Tabela V.4-14: Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos de cetáceos observados em esforço por dia durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 13ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Iracema (considerando somente o buffer de 60 km). 309
Tabela V.4-15: Resumo do esforço amostral e das avistagens realizadas no entorno do campo de Itapu durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 14ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS (considerando todo o desenho amostral). 313

Tabela V.4-16: Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos observados em esforço por dia nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 14ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Itapu (considerando todo o desenho amostral). 314

Tabela V.4-17: Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos observados em esforço por dia nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 14ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Itapu (considerando somente o buffer de 60 km). 316

Tabela V.4-18: Resumo do esforço amostral e das avistagens realizadas no entorno do campo de Iara durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 15ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS (considerando todo o desenho amostral). 321

Tabela V.4-19: Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos observados em esforço por dia nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 15ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Iara (considerando todo o desenho amostral). 322

Tabela V.4-20: Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos observados em esforço por dia nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 15ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Iara (considerando somente o buffer de 60 km). 323

Tabela V.4-21: Modelos de detecção para cetáceos na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos—área de pesquisa sísmica—ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike). PI = modelo point independence; FI = modelo full independence; MR = modelo de marcação-recaptura. 330

Tabela V.4-22: Modelos de detecção para delfinídeos na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos—área de pesquisa sísmica—ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike).

PI = modelo point independence; FI = modelo full independence; MR = modelo de marcação-recaptura. 334
Tabela V.4-22: Modelos de detecção para misticetos na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos—área de pesquisa sísmica—ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike). PI = modelo point independence; FI = modelo full independence; MR = modelo de marcação-recaptura. 336
Tabela V.4-23: Número de observações analisadas para cada tipo de sinal acústico de cetáceos e valores correspondentes de profundidade do glider, níveis de ruído subaquático e distância do canhão de ar na Bacia de Santos. (valores de média ± desvio padrão, mínimo–máximo) 349
Tabela V.4-24:Modelos Generalizados Lineares Mistos (GLMM) para a presença de assovios de delfinídeos em dados coletados por glider no entorno do Campo de Tupi, na Bacia de Santos, durante a atividade de prospecção sísmica. 351
Tabela V.4-25:Modelos Generalizados Lineares Mistos (GLMM) para a presença de assovios de delfinídeos em dados coletados por glider no entorno do Campo de Tupi, na Bacia de Santos, durante a atividade de prospecção sísmica. 352
Tabela V.4-26: Número de dias amostrados e detecções de cetáceos em navios sísmicos da Bacia de Santos, durante o PMBM. 358
Tabela V.4-27: Detalhamento do esforço amostral dos gliders realizado pelo PMPAS-BS até a 51ª Campanha. A tabela mostra na última coluna o número de amostras de 1 minuto fornecidas para análise pelo PMC-BS. 370
Tabela V.4-28:Descrição da base de dados de áudio utilizada para desenvolvimento de classificador de Balaenoptera borealis. 382
Tabela V.5-1: Categorias de lesões de pele observadas durante o PMC-BS e descrição. 388
Tabela V.5-2: Resultados do controle de qualidade obtidos e respectivos erros relativos para isótopos ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) e composição elementar (Corg e Ntotal) do padrão USGS40 (ácido L-glutâmico), obtidos durante

determinação de amostras de biópsia de pele de animais coletados na 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS. * DP = desvio-padrão e CV = coeficiente variação (absoluto). 399

Tabela V.5-3: Amostras recebidas para isótopos estáveis de C ($\delta^{13}C$) e N ($\delta^{15}N$) nas últimas campanhas realizadas no PMC-BS. Obs.: as amostras coletadas na 14ª Campanha de Telemetria já foram contempladas no 7º Relatório Anual. 400

Tabela V.5-4: Resultados da razão de isótopos estáveis de C ($\delta^{13}C$ e $\delta^{13}C$-corr, após equação de Post et al. (2007), de N ($\delta^{15}N$) e razão molar C/N obtidos em biópsias de pele de cetáceos amostradas na 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS. 400

Tabela V.5-6: Resultados do experimento sobre influência do procedimento de extração de lipídios sobrea a assinatura isotópica ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) e elementar (C/N, molar) em tecidos de pele de Tursiops truncatus (n = 9) coletadas nas 13ª e 14ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS. 405

Tabela V.5-8: Informações de coleta e recebimento das amostras para análises de contaminantes do PMC-BS entre 2022 e 2023. Tipo de campanha do PMC-BS: AEMAP – Avistagem Embarcada e MAPA; TELE = Telemetria. 414

Tabela V.5-9: Equipamentos e condições utilizadas para análise de HPA em tecido adiposo de cetáceos oriundos do PMC-BS 420

Tabela V.5-9: Equipamentos e condições utilizadas para análise de PCBs e PBDEs em tecido adiposo de cetáceos oriundos do PMC-BS. 421

Tabela V.5-10: Equipamentos e condições utilizadas para análise de pesticidas em tecido adiposo de cetáceos oriundos do PMC-BS..... 422

Tabela V.5-11:Número de biópsias (n) para cada espécies de cetáceo amostrada pelo PMC-BS no período 2022 e 2023, com vistas à quantificação de HPAs e organohalogenados. Do total de 25 biópsias, duas (códigos 613 e 625, marcadas em vermelho) não tiveram massa suficiente para serem analisadas (i.e., <0,100 mg). 424

Tabela V.5-12:Sumário estatístico dos resultados das análises de HPA e compostos organohalogenados realizadas nas amostras coletadas pelo PMC-BS na 15ª e 16ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP e na 15ª Campanha de Telemetria, nos anos de 2022 e 2023. Todos os valores em ng g^{-1} (peso úmido). 426

Tabela V.5-13: Resultados dos HPAs em ng g-1 (peso úmido), Σ 16 HPAs prioritários e Σ 37 HPAs (total), para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada do PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023). 430

Tabela V.5-14: Resultados de PCBs e PBDEs, em ng g-1 (peso úmido) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023)..... 434

Tabela V.5-15: Resultados de DDTs totais e HCH totais, em ng g-1 (peso úmido,) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023). 440

Tabela V.5-16: Resultados de Drins totais e Clordanas totais, em ng g-1 (peso úmido,) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023). 443

Tabela V.5-17: Resultados de endosulfans totais e metoxicloro, em ng g-1 (peso úmido,) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023). 445

Tabela V.5-18: Resultados de mirex, em ng g-1 (peso úmido,) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BSao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023). 447

Tabela V.5-19: Amostras provenientes do Projeto de Monitoramento de Cetáceos da Bacia de Santos (PMC-BS) destinadas à análise de biomarcadores. As espécies prioritárias para análise de biomarcadores bioquímicos e moleculares estão sinalizadas em azul. 450

Tabela V.5-20:Identificação dos espécimes de Megaptera noveangliae cujas amostras foram utilizadas para a padronização das análises de biomarcadores bioquímicos. 455
Tabela V.5-21:Valores de Kmapp e Vmax para os substratos glutationa reduzida (GSH) e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) em tecido tegumentar de Megaptera noveangliae. 463
Tabela V.5-22: Valores de detecção teórico, intervalo de quantificação e valor de precisão intra-ensaio (repetibilidade) e entre-ensaios (reprodutibilidade) para o ensaio de atividade GST em tecido tegumentar de Megaptera noveangliae. 465
Tabela V.5-23:Condições ótimas de ensaio para determinação de atividade GST em tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae. 466
Tabela V.5-24:Resumo das combinações de concentrações de anticorpos primário e secundário testadas para detecção de CYP1A em tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae. 468
Tabela V.5-25:Sequências de iniciadores selecionadas para amplificação do gene Glutationa S-transferase alfa (GSTα4) em tecido tegumentar de Tursiops truncatus, Stenella longirostris e Balaenoptera brydei. 474
Tabela V.5-26:Valores de R^2 e eficiência calculados com base em uma curva padrão de cDNA de Tursiops truncatus, Stenella longirostris e Balaenoptera brydei. 479
Tabela V.5-27:Sequências de iniciadores selecionadas para amplificação do gene Glutationa S-transferase alfa (GSTa4) em tecido tegumentar de Balaenoptera brydei. 481
Tabela V.5-28:Concentração, pureza e integridade do RNA extraído de tecido tegumentar de Megaptera noveangliae. 483

LISTA DE FIGURAS

Figura III-1:Vista geral da embarcação Sea Route, utilizada para as coletas de dados embarcados do PMC-BS. 51
Figura III-2: Torre de observação da embarcação Sea Route, com observadores em esforço durante campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS. 51
Figura III-3: Cabo de reboque do arranjo de hidrofones sendo lançado com o guincho hidráulico na popa da embarcação, e conectado com o cabo de convés durante Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC - BS. 53
Figura III-4: Estação e operadores de MAP durante Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS. 53
Figura III-5: Vista geral do bote inflável principal (6,3 m) usado nas Campanhas de Telemetria do PMC-BS e equipe de marcação (da esq. para dir.): tagueador (responsável pela implantação do transmissor), coletor de biópsia, fotógrafo e piloto. 55
Figura III-6:Transmissores utilizados nas Campanhas de Telemetria do PMC-BS: transmissor satelital implantável na configuração LIMPET implantado em uma orca (esq.) e transmissor arquival do modelo DTAG implantado em uma baleia-jubarte (dir.). 55
Figura III-7 Exemplos de fotografias utilizadas para a fotoidentificação individual de cetáceos no PMC-BS: padrão de pigmentação da nadadeira caudal de baleia-jubarte (esq.); e marcas na nadadeira dorsal de golfinhos-nariz-de-garrafa (dir.). 56
Figura III-8: Coleta de biópsia a partir da proa do navio (esq.) e posterior triagem da biópsia (dir.) durante Campanha de Telemetria do PMC-BS. 57
Figura IV.1-1: Linhas de transecção percorridas nas Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP durante o Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS. 61
Figura IV.1-2: Esforço amostral nas 13ª e 14ª Campanhas de Telemetria do PMC-BS (Ciclo de Médio Prazo). 62

Figura IV.2-1: Esforço amostral cumulativo (em km percorridos) em todas as campanhas do PMC-BS até o presente (2015-2023). A = Avistagem Embarcada, S = Avistagem Aérea, T = Telemetria. O esforço de Monitoramento Acústico Passivo (MAP) foi excluído por praticamente coincidir com o esforço de Avistagem Embarcada. 64

Figura IV.2-2: Detecções visuais cumulativas de cetáceos durante todas as campanhas do PMC-BS até o presente (2015-2023). A = Avistagem Embarcada, S = Avistagem Aérea, T = Telemetria. 65

Figura V.1-1:Curva cumulativa do número de espécies de cetáceos identificadas em função dos dias amostrados na Bacia de Santos pelo PMC-BS. 73

Figura V.1-2: Número de detecções visuais por espécie identificada durante as campanhas embarcadas do PMC-BS entre 2015 e 2023. Número acima das barras corresponde à frequência em % de cada espécie. 79

Figura V.1-3: Profundidade (em metros) da localidade de detecção das espécies de cetáceos da Bacia de Santos pelo PMC-BS. Linhas tracejadas azuis indicam as profundidades de 200 e 2.000 m. Caixas representam o primeiro e terceiro quartis; linhas horizontais dentro das caixas representam as medianas; linhas verticais representam os valores até 1,5 x a distância entre primeiro e terceiro quartis; e pontos indicam valores extremos. 81

Figura V.1-4: Temperatura (°C)da localidade de detecção das espécies de cetáceos identificadas na Bacia de Santos pelo PMC-BS. Linha tracejada azul indica a temperatura média observadas de 23°C. Caixas representam o primeiro e terceiro quartis; linha horizontal representa a mediana; linhas verticais representam os valores até 1,5 x a distância entre primeiro e terceiro quartis; e pontos indicam valores extremos.... 83

Figura V.2-1: Matriz de dissimilaridade entre as espécies e outros grupos taxonômicos avaliados na Bacia de Santos usando o índice de Jaccard (quanto mais escura a cor da quadrícula, maior dissimilaridade). Dendrogramas construídos usando o método average. Agrupamentos: A

– costeiros; B – plataforma continental; C – plasticidade ambiental; D – platô oceânico; e E – talude. 100
Figura V.2-2: Diagramas mostrando agrupamentos de cetáceos com base no método de particionamento k-means: (A) k = 2 agrupamentos e (B) k = 3. Cores diferentes indicam diferentes agrupamentos. Centróides estão indicados pelos ícones. 102
Figura V.2-3: Diagrama mostrando agrupamentos de cetáceos com base no método de particionamento k-means: (A) k = 4 agrupamentos e (B) k = 5. Cores diferentes indicam diferentes agrupamentos. Centróides estão indicados pelos ícones. 103
Figura V.2-4: Mapas mostrando a distribuição espacial potencial de diferentes grupos de espécies de cetáceos com uso de habitat similar na Bacia de Santos. O tamanho dos pontos é proporcional ao índice de adequabilidade de habitat (AH) médio para as espécies reunidas em cada agrupamento. A linha azul indica os limites da Bacia de Santos. A linha pontilhada representa a isóbata de final da plataforma continental (200 m) e a linha tracejada representa a isóbata dos 2.000 m. 105
Figura V.2-5: Número de reavistagens (matchs; painel esquerdo) e de marcação com transmissor satelital (painel direito) por espécie na Bacia de Santos pelo PMC-BS. 114
Figura V.2-6:Movimento de uma fêmea de Eubalaena australis marcada com transmissor satelital em 22/07/2022 e com transmissão até 21/08/2022. Gráfico no canto superior esquerdo do mapa indica variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração do gráfico coincide com a coloração da trajetória e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barra lateral superior relaciona a escala de cores com a profundidade (em metros) do gráfico e da trajetória. Barra lateral azul representa a batimetria em metros. 122
Figura V.2-7: Localização das reavistagens (pontos) de Balaenoptera physalus com representação de movimentos mínimos entre registros (linha entre pontos). Ponto ao sul, registrado em 13/07/2017 e ponto ao norte em

14/07/2017. Como trata-se de apenas uma reavistagem, apenas um agrupamento (cluster) foi identificado pelo algoritmo k-means. Barra lateral azul representa batimetria em metros. 124

Figura V.2-9: Localização das reavistagens (pontos) de Balaenoptera borealis com representação de movimentos mínimos entre registros (linhas entre pontos). Os registros foram agrupados em dois agrupamentos (Cluster 1 e Cluster 2) pelo algoritmo k-means e estão ilustrados com cores diferentes. Zoom apresenta a reavistagem nas Ilhas Malvinas. Barra lateral azul representa batimetria em metros. 129

Figura V.2-10: Movimentos de 8 indivíduos de Balaenoptera borealis dentre os 26 indivíduos marcados com transmissores satelitais na Bacia de Santos entre 2016 e 2022. Apenas os movimentos mais longos foram representados. Gráficos no canto superior esquerdo dos mapas indicam variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração dos gráficos coincide com a coloração das trajetórias e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barras superiores laterais aos mapas relacionam a escala de cores com a profundidade (em metros) dos gráficos e das trajetórias. Barras azuis laterais aos mapas representam a batimetria em metros. 132

Figura V.2-11: Movimentos de 8 indivíduos de Balaenoptera borealis dentre os 26 indivíduos marcados com transmissores satelitais na Bacia de Santos entre 2016 e 2022. Apenas os movimentos mais longos foram representados. Gráficos no canto superior esquerdo dos mapas indicam variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração dos gráficos coincide com a coloração das trajetórias e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barras superiores laterais aos mapas relacionam a escala de cores com a profundidade (em metros) dos gráficos e das trajetórias. Barras azuis laterais aos mapas representam a batimetria em metros. 133

Figura V.2-12: Localização das sete reavistagens (pontos) de Orcinus orca com representação de movimentos mínimos entre registros (linhas entre pontos). Os registros foram agrupados em três agrupamentos (cluster) pelo algoritmo k-means e estão ilustrados com cores diferentes. Barra lateral azul representa batimetria em metros. 135

Figura V.2-13: Movimentos de Orcinus orca obtidos para 10 indivíduos marcados com transmissores satelitais na Bacia de Santos entre os anos de 2016 a 2022 pelo PMC-BS. Estados comportamentais estimados pelo modelo hierárquico de estado-espaço estão representados com colorações diferentes: TRA (verde) = Transiting, que representa comportamento de movimento/deslocamento; ARS (laranja) = area of restricted-search, que representa alimentação ou reprodução (possivelmente, ambos).. Barra lateral azul representa batimetria em metros. 138

Figura V.2-15Movimentos de Globicephala macrorhynchus na Bacia de Santos obtidos para seis dos oito indivíduos marcados com transmissores satelitais. Apenas os movimentos mais longos foram representados. Gráficos no canto superior esquerdo dos mapas indicam variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração dos gráficos coincide com a coloração das trajetórias e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barras superiores laterais aos mapas relacionam a escala de cores com a profundidade (em metros) dos gráficos e das trajetórias. Barras azuis laterais aos mapas representam a batimetria em metros. 143

Figura V.2-16:Localização das reavistagens (pontos) de Tursiops truncatus com representação de movimentos mínimos entre registros (linhas entre pontos) e dos agrupamentos identificados pelo k-means. Os registros foram agrupados em três agrupamentos (Cluster 1, 2 e 3) pelo algoritmo k-means. Barra lateral azul representa batimetria em metros. 145

Figura V.2-17Movimentos de Tursiops truncatus na Bacia de Santos obtidos para 12 indivíduos marcados com transmissor satelital. Estados comportamentais estimados pelo modelo hierárquico de estado-espaço

estão representados com colorações diferentes: TRA (verde) = Transiting, que representa comportamento de movimento/deslocamento; ARS (laranja) = area of restricted-search, que representa alimentação ou reprodução (possivelmente, ambos). Barra lateral azul representa batimetria em metros 148

Figura V.2-18:Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de Tursiops truncatus. Os pontos vermelhos representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados. 151

Figura V.2-19: Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de Stenella frontalis. Os pontos amarelos representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados. 153

Figura V.2-20: Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de Stenella longirostris. Os pontos rosas representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados. 155

Figura V.2-21: Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de Balaenoptera borealis. Os pontos verdes representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados. 156

Figura V.2-22:Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de Delphinus delphis na Bacia de Santos. Os pontos amarelos representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados. 159

Figura V.2-23: ΔK calculado usando STRUCTURE HARVESTER para agrupamentos de 1 a 4 dos Delphinus delphis da Bacia de Santos.... 161

Figura V.2-24:Gráfico do STRUCTURE com a proporção de associação de cada indivíduo de Delphinus delphis a cada agrupamento para K = 2 a K = 4. Cada indivíduo é representado por uma barra vertical dividida em segmentos coloridos com o comprimento indicando o coeficiente de associação (valor de atribuição) a cada agrupamento. 161

Figura V.2-26: Árvore filogenética da máxima verossimilhança dos haplótipos da região-controle do DNA mitocondrial de Delphinus delphis dos oceanos Atlântico Sul (Bacia de Santos) e Norte, e D. capensis do oceano Pacífico Norte Oriental. Destacado em preto clado com os haplótipos de D. delphis da Bacia de Santos e em azul, clado com os haplótipos de D. capensis. 164

Figura V.2-27: Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de Steno bredanensis na Bacia de Santos. Os pontos verdes representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados. 167

Figura V.2-28: ΔK calculado usando STRUCTURE HARVESTER para agrupamentos de 1 a 4 dos Steno bredanensis da Bacia de Santos. a) sem informação sobre local de amostragem e b) com informação sobre local de amostragem. 169

Figura V.2-29: Gráfico do STRUCTURE com a proporção de associação de cada indivíduo de Steno bredanensis a cada agrupamento para K = 2 a K = 4 com o local de amostragem na Bacia de Santos informado (costeiro x oceânico). Cada indivíduo é representado por uma barra vertical dividida em segmentos coloridos com o comprimento indicando o coeficiente de associação a cada agrupamento..... 170

Figura V.2-30: Rede de haplótipos median-joining das sequências (659 pares de base) da região-controle do DNAmt de Steno bredanensis da Bacia de Santos. Os círculos representam os 10 haplótipos encontrados, e seus tamanhos são proporcionais à frequência de haplótipos sobre os 18 indivíduos amostrados. Os traços representam os passos mutacionais entre os haplótipos, enquanto os pontos vermelhos representam os haplótipos extintos ou não amostrados. 171

Figura V.2-31: Árvore filogenética da máxima verossimilhança dos haplótipos (545 pares de base) da região controle do DNAmt de Steno bredanensis amostrados na Bacia de Santos e das populações sudeste e sul do Brasil. Haplótipo dos indivíduos oceânicos (HSB2) da Bacia de Santos destacado (círculo vermelho) em um clado junto com o haplótipo 2

(KM260653) encontrado em um indivíduo amostrado no Espírito Santo. 173

Figura V.2-32: Árvore filogenética de máxima verossimilhança dos haplótipos (327 pares de base) da região controle do DNAmt de Steno bredanensis amostrados no Brasil e no Oceano Pacífico Central. A árvore é enraizada ao boto-cinza (Sotalia guianensis). Os haplótipos das populações sudeste e sul do Brasil que colapsaram nos haplótipos da Bacia de Santos estão destacados (círculo vermelho). 175

Figura V.3-2: Curva de detecção de Tursiops truncatus nas Campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS. 185

Figura V.3-3: Abundância de Tursiops truncatus observados ao longo das Campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS. Círculos preenchidos em azul indicam campanhas realizadas na estação fria (de junho a novembro), e círculos preenchidos em laranja, na estação quente (de dezembro a maio). 187

Figura V.3-4:Parâmetros populacionais estimados via abordagem de marcação-recaptura com modelos POPAN. (A-C) Probabilidade aparente de sobrevivência (Phi) estimadas para Steno bredanensis, Tursiops truncatus e Stenella frontalis. (D-F) Abundâncias (N) de indivíduos marcados estimada para cada espécie. 191

Figura V.3-5: Estimativas de N_e contemporâneo para os diferentes valores críticos para Tursiops truncatus, Stenella frontalis e Stenella longirostris na Bacia de Santos. 198

Figura V.3-7: Distribuição dos tamanhos corporais mensurados para cada espécie por fotogrametria durante as campanhas do PMC-BS. Abreviação das espécies: Balaenoptera borealis (Bb), B. brydei (Be), B. musculus (Bm), B. physalus (Bp), Eubalaena australis (Ea), Megaptera novaeangliae (Mn), Orcinus orca (Oo) e Physeter macrocephalus (Pm). 215

Figura V.3-8: Distribuição dos tamanhos corporais mensurados por fotogrametria durante o Ciclo de Médio Prazo PMC-BS até o momento

para cada espécie com maior volume de dados, separados por classe de idade (juvenil ou adulto), segundo a literatura. 218
Figura V.4-1: Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para um indivíduo de Eubalaena australis marcado com transmissor satelital pelo PMC-BS. 223
Figura V.4-2: Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para dois indivíduos de Eubalaena australis marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana..... 224
Figura V.4-3: Perfil de mergulho de uma fêmea de Eubalaena australis marcada com transmissor satelital pelo PMC-BS. Tipo de mergulho: raso < 100 m; profundo ≥ 100 m. 225
Figura V.4-4: Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para dois indivíduos de Balaenoptera physalus marcados com transmissor satelital pelo PMC-BS. 226
Figura V.4-5: Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para dois indivíduos de Balaenoptera physalus marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana..... 227
Figura V.4-6: Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para vinte e dois indivíduos de Balaenoptera borealis marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. 228
Figura V.4-7: Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para vinte e dois indivíduos de Balaenoptera borealis marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana..... 229
Figura V.4-8: Perfil de mergulho de três indivíduos de Balaenoptera borealis, marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. Tipo de mergulho: raso < 100 m; profundo ≥ 100 m. 230
Figura V.4-9: Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para dez indivíduos de Orcinus orca marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS..... 232

Figura V.4-10: Perfil de mergulho de dois indivíduos de Orcinus orca marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. Tipo de mergulho: raso < 100 m; profundo ≥ 100 m. A esquerda o PTT 162628, que permaneceu na região do talude; a direita o PTT 224115, que permaneceu no litoral sul do Rio de Janeiro. 233
Figura V.4-11: Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para dez indivíduos de Orcinus orca marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana. 234
Figura V.4-12: Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para sete indivíduos de Globicephala macrorhynchus marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. 236
Figura V.4-13:Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para sete indivíduos de Globicephala macrorhynchus marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana..... 237
Figura V.4-14: Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para onze indivíduos de Tursiops truncatus marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS..... 239
Figura V.4-15: Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para onze indivíduos de Tursiops truncatus marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana..... 240
Figura V.4-16: Exemplo de cliques de ecolocalização de Grampus griseus registrado pelo PMC-BS. Acima o espectrograma e abaixo o oscilograma. 244
Figura V.4-17: Exemplo de um assovio de Stenella longirostris registrado pelo PMC-BS. 245
Figura V.4-18:Exemplo de um assovio processado no módulo ROCCA do programa PAMGUARD. Os parâmetros são extraídos manualmente pelo contorno do assovio (em amarelo no espectrograma da direita)..... 248

Figura V.4-19: Matriz de confusão com os resultados do classificador acústico de assovios do PMC-BS utilizando o modelo de floresta aleatória para os dados balanceados de sete espécies de delfinídeos. Os resultados mostram a proporção de assovios classificados em cada espécie (espécie predita). As classificações corretas estão representadas na diagonal da matriz (espécie real)..... 255

Figura V.4-20: Matriz de confusão com os resultados do classificador acústico de assovios do PMC-BS utilizando o modelo de floresta aleatória para os dados balanceados de sete espécies de delfinídeos para classificar as detecções acústicas. A classificação de cada detecção acústica foi feita com base na espécie com maior número de assovios apontada pelo classificador. Foram testadas somente detecções que possuíam um conjunto de 30 ou mais assovios. Os resultados estão apresentados em termos da proporção de detecções classificados em cada espécie (espécie predita). As classificações corretas estão representadas na diagonal da matriz (espécie real)..... 257

Figura V.4-21: Matriz de confusão com os resultados do classificador acústico de assovios do PMC-BS utilizando o modelo de floresta aleatória para os dados não balanceados com pesos de acordo com a frequência das classes para sete diferentes espécies de delfinídeos Os resultados mostram a proporção de assovios classificados em cada espécie (espécie predita). As classificações corretas estão representadas na diagonal da matriz (espécie real)..... 260

Figura V.4-22:Matriz de confusão com os resultados do classificador acústico de assovios do PMC-BS utilizando o modelo de floresta aleatória para os dados balanceados incluindo a profundidade como variável preditora de sete espécies de delfinídeos. Os resultados mostram a proporção de assovios classificados em cada espécie (espécie predita). As classificações corretas estão representadas na diagonal da matriz (espécie real)..... 262

Figura V.4-24: Navio de pesquisa sísmica Artemis Angler realizando disparos sísmicos no Campo de Libra, fotografado durante amostragem do PMC-BS em 07/04/2018. 281
Figura V.4-25: Exemplo de amostragem durante uma Campanha de Telemetria do PMC-BS que foi excluída da análise. Note a sobreposição da rota amostrada somente com os dois buffers mais distantes da fonte sísmica. 286
Figura V.4-26: Exemplo de amostragem durante uma Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS que foi excluída da análise. Note a posição do navio sísmico em Status ON fora da área de estudo do PMC-BS.. 287
Figura V.4-27: Exemplo de amostragem durante uma Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS que foi utilizada para a modelagem estatística. 288
Figura V.4-28:Exemplo de amostragem durante uma Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS que foi utilizada para a modelagem estatística. 289
Figura V.4-29: Exemplo de amostragem durante Campanha 14 de Avistagem Aérea do PMC-BS com desenho amostral cobrindo os arredores do projeto de sísmica no Campo Itapu, na Bacia de Santos, que foi usada na modelagem estatística. 290
Figura V.4-30: Esforço amostral total (em milhas náuticas percorridas) durante campanhas do PMC-BS nos buffers de distância da fonte sísmica (em quilômetros). 294
Figura V.4-31: Taxa de encontro (grupos por milha náutica percorrida) de misticetos por diferentes métodos durante campanhas do PMC-BS nos buffers de distância da fonte sísmica. 295
Figura V.4-32:Taxas de encontro de misticetos durante campanhas do PMC-BS preditas pelo GLMM em função da distância de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos. Buffer medido em quilômetros de distância do navio sísmico. 297
Figura V.4-33: Taxas de encontro de misticetos durante campanhas do PMC-BS preditas pelo GLMM em função da estação do ano (esquerda) e

habitats (direita) no entorno de atividades de pesquisa sísmicas na Bacia de Santos. 297
Figura V.4-34:Taxa de encontro (grupos por milha náutica percorrida) de odontocetos por diferentes métodos durante campanhas do PMC-BS nos buffers de distância da fonte sísmica. 298
Figura V.4-35:Taxas de encontro de odontocetos em função dos tipos de amostragem do PMC-BS preditas pelo melhor GLMM no entorno de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos de acordo com o tipo de amostragem..... 300
Figura V.4-36: Taxas de encontro de odontocetosdo PMC-BS preditas pelos GLMMs em função do habitat (esquerda) e da estação do ano (direita) no entorno de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos. 301
Figura V.4-37: Evolução das aquisições sísmicas durante a etapa 2 da 13ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS realizada no entorno do campo de Iracema, de 27/12/2021 a 29/12/2021. 310
Figura V.4-38: Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 13ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Iracema durante a etapa 1 (pré-sísmica), realizada de 28/11/2021 a 01/12/2021. 311
Figura V.4-39: Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 13ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Iracema durante a etapa 2 (durante a sísmica) realizada de 27/12/2021 a 29/12/2021. 312
Figura V.4-40: Evolução das aquisições sísmicas durante a etapa 2 da 14ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS realizada no entorno do campo de Itapu, de 17/11/2022 a 19/11/2022. 318
Figura V.4-41: Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 14ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Itapu durante a etapa 1 (pré-sísmica), realizada de 04/10/2022 a 08/10/2022. 319
Figura V.4-42: Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 14ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de

Itapu durante a etapa 2 (durante a sísmica), realizada de 17/11/2022 a 19/11/2022. 320
Figura V.4-43: Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 15ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Iara durante a etapa 1 (pré-sísmica), realizada de 07/05/2023 a 13/05/2023. 326
Figura V.4-44: Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 15ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Iara durante a etapa 2 (durante a sísmica), realizada de 02/06/2023 a 04/06/2023. 327
Figura V.4-45: Curvas de detecção de A) cetáceos, B) delfinídeos e C) misticetos (o histograma representa as distâncias perpendiculares observadas) nas 3 Campanhas de Avistagem Aérea do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos—área de pesquisa sísmica. Pontos (círculos) indicam a probabilidade de detecção para cada avistagem, dada a sua distância perpendicular. Detecções do observador 1 (janela bolha); Detecções do observador 2 (janela plana); e Todas as detecções. 332
Figura V.4-46: Estimativas de abundância de cetáceos e variação de tamanho dos grupos observados nas etapas 1(pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da A) 13ª, B) 14ª e C) 15ª Campanhas de Avistagem Aérea do PMC-BS, no entorno de Iracema, Itapu e Iara, respectivamente. 333
Figura V.4-47: Estimativas de abundância de delfinídeos e misticetos nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da A) 13ª, B e C) 14ª e D e E) 15ª Campanhas de Avistagem Aérea do PMC-BS, no entorno de Iracema, Itapu e Iara. 335
Figura V.4-48:Trajetórias do glider de monitoramento específico da sísmica de Tupi durante as campanhas de glider C01 a C04 (18/06/2022 a 9/11/2022) do PMPAS-BS na Bacia de Santos (Fonte: IPqM e PETROBRAS, 2023). 345
Figura V.4-49:Presença de assovios de delfinídeos predita pelo melhor GLMM (modelo linear generalizado misto) em relação a hora do dia e níveis

máximos de ruído subaquático, a partir de dados coletados por glider no entorno do campo de Tupi, na Bacia de Santos, durante a atividade sísmica. 352

Figura V.4-50:Presença de chamados de misticetos predita pelo melhor GLMM (modelo linear generalizado misto) em relação à profundidade média do glider, hora do dia e distância do canhão de ar, a partir de dados coletados por glider no entorno do campo de Tupi, na Bacia de Santos, durante a atividade sísmica. 354

Figura V.4-51: Observações dos táxons de cetáceos avistados a partir do navio sísmico em relação ao status da fonte sísmica (desligada ou ligada). Ligadas = fontes sísmicas ligadas em potência alta; Ramp-up = fonte em procedimento de aumento gradual, com frequência e potência aumentando gradualmente; Teste = testes dos canhões de ar, com disparos ocasionais. 360

Figura V.4-52: Observações dos táxons de cetáceos avistadas pelo PMBM a partir do navio sísmico em relação a área de exclusão de 1.000 metros da fonte sísmica. 361

Figura V.4-53:Representação da análise de diversidade beta utilizando o Índice de Dissimilaridade de Sorensen entre Búzios sísmica (PMBM) e Búzios PMC-BS. 362

Figura V.4-54:Representação da análise de diversidade beta com Índice de Dissimilaridade de Sorensen entre Búzios sísmica (PMBM) e Búzios PMC-BS. Status da fonte sísmica: Sísmicades - fonte sísmica desligada; Sismicalig - fonte sísmica ligada..... 362

Figura V.4-55: Dispositivo de navegação submersível autônoma do tipo glider, que pode ser equipado com um gravador para monitoramento acústico passivo, igual ao utilizado pelo PMPAS-BS para a obtenção de dados da paisagem acústica da Bacia de Santos. (Crédito da imagem: Paul Allen Philanthropies)..... 366

Figura V.4-56: Espectrograma representando um exemplo do algoritmo de detecção automática em sinais do tipo “Bio-duck” da Balaenoptera

bonaerensis, detectados nos arquivos de áudio de glider do PMPAS-BS. 373
Figura V.4-57: Taxa de ocorrência mensal de grandes cetáceos registrados pelo glider do PMPAS-BS na Bacia de Santos. 375
Figura V.4-58: Chamado modulado downsweep de baixa frequência produzidos por Balaenoptera borealis (em destaque). 380
Figura V.4-59: Resultado da detecção automática por processamento de imagem. Cada sinal com contorno (em branco) detectado tem características de tempo e frequência extraídos gerando um conjunto de dados. Este conjunto de dados é utilizado para classificação binária de Balaenoptera borealis. 384
Figura V.4-60: Dentro do retângulo vermelho podemos ver exemplos de sinais considerados de Balaenoptera borealis pelo algoritmo de detecção e classificação com modelo MLP. Outros sinais em frequências mais altas, registrados simultaneamente no áudio, são pertencentes a baleia-jubarte. 385
Figura V.5-1: Variação da taxa de ocorrência de cada lesão (classificada quanto a origem) por espécie, ao longo das campanhas do PMC-BS; Origem: Antrópica (lesões com indicativo de causa antropogênica); Infecciosa (semelhantes lesões causadas por patógenos); Inespecíficas (não classificadas); Interação intra (lesões de provável interação com co-específicos); predação por orca (lesões características de predação); Tubarão-charuto 8lesões características de interação com tubarão-charuto. Os pontos representam a taxa de cada lesão por campanha e a linha de tendência suavizada ilustra variações no padrão da taxa. 391
Figura V.5-2: Variação da taxa de ocorrência de lesões antrópicas (subcat) por espécie, ao longo das campanhas; Atropelamento (provável atropelamento), Pesca (provável interação com pesca) e Infecciosas (provável poxvírus). Os pontos representam a taxa de cada lesão por campanha e a linha de tendência suavizada ilustra variações no padrão da taxa. 393

Figura V.5-3: Distribuição espacial de lesões antrópicas: interação com pesca (mapa ao lado esquerdo), atropelamento (mapa central) e provável lesão por poxvírus (mapa direito): cada ponto representa um registro geográfico de uma lesão; variação de coloração representa a espécie em que a lesão foi observada. 395

Figura V.5-4: Gráfico bi-plot com média (±DP) de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ de amostras de pele de Stenella frontalis coletadas em diferentes campanhas do PMC-BS. 403

Figura V.5-5: Comparação entre os resultados de análises para quantificação de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ em amostras de cetáceos coletadas pelo PMC-BS com e sem a extração de lipídeos. O teste t-Student pareado (mesmas amostras) indica diferença estatisticamente significativa entre as quantificações para $\delta^{13}C$, mas não para $\delta^{15}N$. 406

Figura V.5-6: Correlação entre $\delta^{13}C$ após extração dos lipídeos e a razão C/N molar antes da extração nas oito amostras de Tursiops truncatus coletadas pelo PMC-BS. 407

Figura V.5-7: Comparação entre os valores de $\delta^{13}C$ obtidos pela correção conforme a Equação 2, Post et al. (2007) e aqueles obtidos pela correção conforme a Equação 1, apresentada neste 8º Relatório Anual (a) e as diferenças absolutas entre esses valores (b). 409

Figura V.5-9:Distribuição dos diversos congêneres de PCBs (média e desvio padrão) em ng g^{-1} (peso úmido) para o conjunto de amostras de Balanaoptera brydei (Ba.by; n = 6), Stenella frontalis (St.f; n = 20) e Tursiops truncatus (T.t; n = 42) coletadas nos Ciclos de Curto e de Médio Prazo do PMC-BS (até agosto/2023). 436

Figura V.5-10: Distribuição dos diversos congêneres de PBDEs (média e desvio padrão) em ng g^{-1} (peso úmido) para o conjunto de amostras de Stenella frontalis (St.f; n = 20) e Tursiops truncatus (T.t; n = 42) coletadas nos Ciclos de Curto e de Médio Prazo do PMC-BS (até agosto/2023). 438

Figura V.5-11:Distribuição georeferenciada das amostras de Balaenoptera brydei coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas para análises de biomarcadores. 452
Figura V.5-12: Distribuição georeferenciada das amostras de Megaptera novaeangliae coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas para análises de biomarcadores. 453
Figura V.5-13:Distribuição georeferenciada das amostras de Stenella longirostris coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas para análises de biomarcadores. 453
Figura V.5-14:Distribuição georeferenciada das amostras de Tursiops truncatus coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas para análises de biomarcadores. 454
Figura V.5-15:Curvas cinéticas de atividade GST em tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae construídas com concentrações crescentes dos substratos (A) glutationa reduzida (GSH) e (B) 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB). Condições do ensaio: tampão fosfato de potássio (0,1 M, pH 7,0), 37°C. Kmapp e Vmax obtidos por meio de regressão não linear dos dados ajustados ao modelo de Michaelis-Menten. 462
Figura V.5-16:Relação entre a absorbância por minuto ($mAbs.min^{-1}$) em decorrência da formação do conjugado GS-DNB e a massa de proteínas totais (µg) de tecido tegumentar de Megaptera noveangliae. Linha sólida representa regressão linear. Na imagem inferior foram excluídos os pontos referentes às maiores concentrações de proteínas. 464
Figura V.5-17:Imunodetecção de CYP1A em tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae utilizando anticorpo primário ab126887 (Abcam). 469
Figura V.5-18:Imunodetecção CYP1A em tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae utilizando massas proteicas crescentes, de 2,5 a 60 µg. Banda de interesse sinalizada com uma seta azul. 470
Figura V.5-19:Análises gráficas do sinal quimioluminescente emitido e as massas de proteínas microssomais utilizadas no ensaio de imunodetecção de CYP1A em amostra de tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae. 471

Figura V.5-20:Membranas de Western blotting com amostras de microssoma de tecido hepático de Sotalia guianensis (Sg) e tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae (Mn), incubadas com diferentes concentrações de anticorpo primário anti-CYP1A (Abcam, código ab126887) e secundário (anti-cabra; Abcam, código ab205723). CP, controle positivo. 472

Figura V.5-21:Curva de dissociação de GSTα em tecido tegumentar de Stenella longirostris, Tursiops truncatus e Balaenoptera brydei, utilizando a primeira opção de iniciadores. Eixo X (temperatura); eixo Y (derivada negativa da fluorescência em função da temperatura, -dF/dT). O ponto máximo de cada linha representa a temperatura de dissociação do produto. A presença de um pico único sugere a presença de um único produto. 477

Figura V.5-22:Curva de dissociação de GSTα4 em tecido tegumentar de Stenella longirostris e Balaenoptera brydei, utilizando a segunda opção de pares de iniciadores. Eixo X (temperatura); eixo Y (derivada negativa da fluorescência em função da temperatura, -dF/dT). O ponto máximo de cada linha representa a temperatura de dissociação do produto. A presença de um pico sugere a presença de um único produto. 478

Figura V.5-23: Produtos das reações em cadeia da polimerase (qPCR) para os genes de Glutationa S-transferase isoforma alfa 4 (GSTα4) em Tursiops truncatus (GSTα4 Tt) e Stenella longirostris (GSTα4 Sl) submetidos à eletroforese em gel de agarose 3%. Presença de uma única banda indica formação de um único produto, atestando a especificidade dos iniciadores desenhados. 480

Figura V.5-24:Perfil eletroforético de RNA em gel de agarose 1,2% com formaldeído das amostras de tecido hepático de Caretta caretta, Lepidochelys olivacea, Calonectris borealis, Sula leucogaster e Sotalia guianensis e em tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae. 484

Figura V.5-25: Níveis de proteínas carboniladas (PCO) em tecido hepático de Sula leucogaster coletado em diferentes tempos post mortem. 487

Figura V.5-26:Níveis de proteínas carboniladas (PCO) (nmol/mg) em relação aos valores de absorbância em frações sobrenadante (SN) e microssomal (MIC) de amostras tegumentares de Balaenoptera brydei, Megaptera novaeangliae, Stenella longirostris e Tursiops truncatus. . 488

Figura VI.3-1: Número de publicações com uso de dados coletados pelo PMC-BS entre 2015 e 2023. Linha tracejada azul indica a tendência de crescimento linear do número de publicações por ano ao longo do Projeto. 499

Figura VI.3-2: Localização das instituições que colaboraram em publicações com uso de dados coletados pelo PMC-BS entre 2015 e 2023. 500

APRESENTAÇÃO

O Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS) foi concebido e é executado para atender demanda de Processos de Licenciamento Ambiental da PETROBRAS na Bacia de Santos – IBAMA Nº 02001.114279/2017-80 – conduzidos pela Coordenação Geral de Licenciamento Ambiental de Empreendimentos Marinhos e Costeiros (CGMAC), da Diretoria de Licenciamento Ambiental (DILIC), do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

A PETROBRAS iniciou a execução do PMC-BS em 2015 por meio da contratação da prestação dos serviços necessários para tanto pela empresa de consultoria ambiental SOCIOAMBIENTAL Consultores Associados, que presta esses serviços sob a supervisão técnica e gerencial de uma equipe da PETROBRAS.

Este presente 8º Relatório Anual do PMC-BS é composto por dois volumes – Volume I: Apresentação e Discussão de Resultados Orientados aos Objetivos e Volume II: Anexos. O Volume I apresenta a consolidação do processamento dos dados e análises do PMC-BS considerando o banco coletado em sete anos e oito meses de projeto, entre novembro de 2015 e junho de 2023. Os primeiros seis anos do PMC-BS corresponderam ao seu Ciclo de Curto Prazo, conforme previsto em seu Projeto Executivo, aprovado pelo IBAMA em julho de 2015 (PETROBRAS, 2015). A partir do fim do sexto ano de execução do PMC-BS, iniciou-se o seu Ciclo de Médio Prazo, com adequações evolutivas das metodologias, descritas na Revisão 01 do Projeto Executivo do PMC-BS, aprovado pelo IBAMA em 25/02/2021 (PETROBRAS, 2020b). Assim, na sua maior parte, este 8º Relatório Anual constitui-se em uma atualização baseada no processamento e na análise cumulativa de dados gerados pela execução do PMC-BS ao longo de quase 8 anos de coletas. Buscou-se o aprofundamento das diversas análises com base nos novos dados coletados sobre cetáceos, assim como em novos cruzamentos de dados de atividades antropogênicas com a distribuição espaço-temporal dos cetáceos. Enfim, este 8º Relatório Anual traz novas análises oriundas das

adaptações implementadas a partir do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS e do aprofundamento de análises.

EQUIPE TÉCNICA DA SOCIOAMBIENTAL RESPONSÁVEL PELO 8º RELATÓRIO ANUAL DO PMC-BS

Nomes	Formação	Atuação
Coordenação e Gerência		
Ricardo Müller Arcari	Engº. Sanitarista e Ambiental	Gerente do Contrato
José Olimpio da Silva Jr.	Biólogo, Me.	Coordenação Geral
Leonardo Liberali Wedekin	Biólogo, Dr.	Coordenação Técnica
Aline Fernandes de Faria Gonçalves	Biólogo, Esp. Gestão Ambiental	Gerência Executiva
Ana Lúcia Cypriano de Souza	Bióloga, Dra.	Coordenação Temática de Genética
Carolina Bezamat Abreu	Biólogo, Dra.	Coord. Temática de Avistagem Aérea
Fábio Daura-Jorge	Biólogo, Dr.	Coord. Temática de Fotoidentificação
Marta Jussara Cremer	Bióloga, Dra.	Coord. Temática de Telemetria
Renan Lopes Paitach	Biólogo, Dr.	Coord. Temática de Bioacústica
Paulo C. Simões-Lopes	Biólogo, Dr.	Coord. Temática de Avistagem Embarcada
Outros Responsáveis Técnicos pelo PMC-BS		
Alexandre Douglas Paro	Biólogo, Me.	Processamento e Análise de MAP
Vitor Zimmermann	Geógrafo	Geoprocessamento/SIG
Responsáveis Técnicos pelo Item sobre Análises de Isótopos Estáveis, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA), Organohalogenados e Biomarcadores		
Afonso Celso Dias Bainy	Oceanólogo, Dr.	Processamento e Análise de Biomarcadores (LABCAI – UFSC)

Nomes	Formação	Atuação
Renato S. Carreira	Oceanógrafo, Dr.	Processamento e Análise de Isótopos Estáveis, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e Organohalogenados (LabMAM – PUC-RJ)

I. INTRODUÇÃO

O 8º Relatório Anual do PMC-BS consiste na consolidação de dados e análises proporcionados pelos oito anos de desenvolvimento ininterrupto das atividades deste Projeto (desde 2015 até a 15ª Campanha de Avistagem Aérea, finalizada em junho de 2023), período em que foram realizadas 45 campanhas embarcadas e aéreas, com a aplicação dos diversos métodos amostrais previstos para atender aos objetivos do Projeto.

Os seis primeiros anos do Projeto (2015-2021) correspondem ao Ciclo de Curto Prazo do PMC-BS, cujo objetivo geral foi estabelecer bases metodológicas e de dados para o monitoramento de longo prazo de cetáceos na Bacia de Santos e de possíveis interferências sobre estes. Neste sentido, foram realizadas campanhas semestrais de Avistagem Embarcada e Monitoramento Acústico Passivo (MAP), de Telemetria e de Avistagem Aérea, totalizando 36 campanhas no Ciclo de Curto Prazo. A partir do segundo semestre de 2021, foi iniciado o Ciclo de Médio Prazo, cujo objetivo geral é consolidar as bases metodológicas e de dados para o monitoramento de longo prazo de cetáceos na Bacia de Santos, com vistas a gerar parâmetros para a avaliação de potenciais impactos naqueles organismos acarretados por atividades de exploração e produção de petróleo e gás natural e/ou por outras atividades antrópicas desenvolvidas na Bacia de Santos. Partindo deste princípio e da base de dados obtidas durante o Ciclo de Curto Prazo, a intensidade amostral foi redefinida para a realização de campanhas semestrais de Avistagem Embarcada e MAP e de campanhas anuais de Telemetria e de Avistagem Aérea. Portanto, este 8° Relatório Anual do PMC-BS considera todo o Ciclo de Curto Prazo e nove campanhas realizadas durante o Ciclo de Médio Prazo (3 de Avistagem Aérea, 4 de Avistagem Embarcada e MAP e 2 de Telemetria).

O acúmulo de dados ao longo dos anos permitiu a análise, discussão e a consolidação dos dados e das informações relativas à biologia das espécies de cetáceos registradas (riqueza, distribuição, densidade, abundância, usos de habitats e padrões de comportamento), além do aprofundamento da avaliação de possíveis interferências antropogênicas sobre a comunidade de cetáceos, especialmente na avaliação sobre as atividades de pesquisa sísmica e ocorrência de cetáceos.

Além de usar o grande conjunto de dados gerados pelo PMC-BS até o momento, foram obtidos dados de outras fontes públicas, como dados físico-químicos e biológicos disponíveis em base de dados oceanográficos. Destaca-se também as análises e cruzamentos com dados de outros projetos de monitoramento desenvolvidos pela PETROBRAS na Bacia de Santos como parte do atendimento a condicionantes do licenciamento ambiental para o desenvolvimento de suas atividades naquela bacia. Neste sentido, foram utilizados dados do Projeto de Monitoramento da Paisagem Acústica Submarina da Bacia de Santos (PMPAS-BS), cujos dados bioacústicos e de ruídos antropogênicos têm sido de grande valia para auxiliar na investigação das questões contempladas pelos objetivos do PMC-BS. Neste Relatório, pela primeira vez ao longo da execução do PMC-BS, explorou-se ainda de forma preliminar dados do Projeto de Monitoramento da Biota Marinha (PMBM) do Cluster BS, com avistagens de cetáceos no entorno de navios de pesquisa sísmica.

Este 8º Relatório Anual traz, inicialmente, um breve resumo executivo com a síntese dos resultados obtidos pelo PMC-BS até o presente, em seus oito anos de implementação. Após isso, é feita uma breve descrição dos métodos de coleta (item III) e esforço amostral acumulado (item IV). O item V é o principal deste Relatório, com os resultados provenientes de diferentes métodos e combinações destes em análises orientadas para os objetivos do

Projeto, bem como discussões baseadas na literatura técnico-científica. Finalmente, é apresentada nas considerações finais uma reflexão crítica sobre os objetivos do PMC-BS, os avanços em relação ao apresentado no relatório anual anterior, o 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023) e os resultados dos indicadores de desenvolvimento do Projeto.

II. RESUMO EXECUTIVO

Os principais resultados alcançados pelo Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS) são descritos a seguir:

- O PMC-BS vem sendo **executado contínua e sistematicamente desde 2015** em uma área de estudo que compreende uma faixa que se estende de Florianópolis/SC até Cabo Frio/RJ e cobre um amplo gradiente de profundidade que vai desde águas costeiras até oceânicas, atingindo uma distância de até 350 km da costa e mais de 2.000 metros de profundidade;
- O Projeto visa **avaliar, com uma abordagem multi-métodos, diferentes aspectos da biologia dos cetáceos e os potenciais impactos das atividades de exploração, produção e escoamento de petróleo e gás natural da Bacia de Santos sobre este grupo**, como condicionante do licenciamento ambiental para as atividades da PETROBRAS nesta região;
- Este 8° Relatório Anual apresenta dados acumulados nos Ciclos de Curto Prazo (2015-2021) e de Médio Prazo (a partir de 2021), incluindo novas campanhas do Ciclo de Médio Prazo realizadas em 2022 e 2023 (até a 15ª Campanha de Avistagem Aérea, finalizada em junho de 2023);
- Foram executadas 45 campanhas de coleta de dados nos oito anos desde o início de implementação do Projeto (entre novembro de 2015 e fevereiro de 2023);
- Nesse período, foi realizado um total de **1.075 dias, 11.194,5 horas e 214.783 km de esforço amostral**. Este constitui um esforço intensivo e sistemático sem precedentes na costa brasileira para o estudo de cetáceos, resultando em 4.362 detecções visuais e 1.802 detecções acústicas de grupos desses organismos;
- Foi possível identificar **28 espécies de cetáceos**, sendo 20 odontocetos (golfinhos e baleias com dentes) e 8 misticetos (baleias verdadeiras com barbatanas bucais), distribuídos em sete famílias;
- Um total de **7 espécies (25,9%) são classificadas com algum grau de ameaça de extinção** na lista vermelha da fauna brasileira, sendo elas:

baleia-azul, baleia-fin, baleia-sei, baleia-franca-austral, cachalote, boto-cinza e toninha;

- Com base na modelagem dos habitats de diferentes espécies foi possível identificar cinco agrupamentos de espécies com padrões de uso de habitat similares: espécies costeiras, espécies da plataforma continental, espécies do talude, espécies oceânicas e espécies com plasticidade ambiental;
- Foram realizadas 609 biópsias de 21 espécies de cetáceos (13 espécies de odontocetos e oito de misticetos), permitindo a realização de estudos de genética, isótopos estáveis, biomarcadores, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e organohalogenados;
- Ao longo dos oito anos do PMC-BS, os níveis de diversidade genética mitocondrial e nuclear foram estimados para 16 espécies de cetáceos, sendo 12 consideradas bem-amostradas (mínimo de 10 indivíduos). A maioria dessas espécies apresentou uma diversidade genética mitocondrial e nuclear moderada a alta, com exceção da baleia-de-Bryde e do golfinho-de-dentes-rugosos, com baixa diversidade;
- Um total de 603 amostras tiveram o sexo determinado geneticamente, resultando na identificação de 327 fêmeas e 276 machos. Embora a maioria das 12 espécies de cetáceos bem-amostradas tenha apresentado um número maior de fêmeas, a proporção sexual foi significativamente enviesada para fêmeas apenas no golfinho-rotador;
- Foram feitas estimativas de tamanho efetivo contemporâneo da população para cinco espécies de golfinhos (golfinho-nariz-de-garrafa, golfinho-pintado-do-Atlântico, golfinho-rotador, golfinho-pintado-pantropical e golfinho-comum-de-bico-curto) e uma espécie de baleia (baleia-sei);
- A estrutura genética populacional foi investigada para cinco espécies de golfinhos (golfinho-nariz-de-garrafa, golfinho-pintado-do-Atlântico, golfinho-rotador, golfinho-comum-de-bico-curto e golfinho-de-dentes-rugosos) e uma espécie de baleia (baleia-sei), com maior número amostral durante os oito anos do PMC-BS, sendo que o golfinho-nariz-de-garrafa, o golfinho-pintado-do-Atlântico e o golfinho-de-dentes-rugosos foram amostradas tanto em áreas costeiras quanto em áreas oceânicas;

- Os registros de fotoidentificação possibilitaram o monitoramento temporal da prevalência de lesões epidérmicas, em especial de lesões potencialmente de origem antrópica, para 20 espécies com registros fotográficos. Além do acompanhamento temporal, as lesões potencialmente geradas por interação com pesca, por atropelamento ou doenças infecciosas como poxvírus foram espacializadas por espécie com fins a identificar áreas de maior prevalência destas;
- Os registros de fotogrametria permitiram a realização de medições de tamanho de 96 indivíduos de 8 espécies diferentes;
- Os dados de movimentos usando fotoidentificação (n = 3.211 indivíduos catalogados de 27 espécies) e transmissores satelitais (n = 94 indivíduos de 14 espécies) mostram fatos inéditos sobre migrações de grandes baleias entre áreas de alimentação e reprodução; movimentos de determinadas espécies para bacias sedimentares adjacentes como a Bacia de Pelotas, ao sul, e a Bacia de Campos e Espírito Santo, ao norte; e movimentos dentro da Bacia de Santos;
- A Bacia de Santos constitui uma região de passagem, mas também de permanência, de grandes baleias migratórias, sendo o talude uma região de intensa utilização por algumas destas espécies, como a baleia-sei, mas também por espécies de grandes mergulhadores, como a baleia-piloto-de-peitorais-curtas;
- O reconhecimento individual via fotoidentificação acumulado ao longo de todo o período de execução do PMC-BS permitiu a organização de históricos de captura e posterior ajuste de modelos de marcação-recaptura para três espécies (golfinho-nariz-de-garrafa, golfinho-pintado-do-Atlântico e golfinhode-dentes-rugosos). Foram geradas as primeiras estimativas de abundância via marcação-recaptura para estas espécies, que foram comparadas com as estimativas geradas via amostragens de distâncias em transecções lineares;
- Foi estimado pela primeira vez para a Bacia de Santos por marcação-recaptura via fotoidentificação a abundância de 343 golfinhos-de-dentes-rugosos para todo o período de monitoramento;

- A estimativa de abundância em transecções lineares de golfinho-pintado-do-Atlântico flutuou sazonalmente entre campanhas, de 3.400 a 36.500 indivíduos, com maiores abundâncias na estação quente. A estimativa média foi de 22.300 indivíduos na estação quente e 16.500 indivíduos na estação fria. A abundância na plataforma continental representou 80% da abundância total na estação quente e 60% na estação fria. As estimativas por marcação-recaptura via fotoidentificação foram de 5.700 indivíduos para todo o período de monitoramento;
- A estimativa em transecções lineares de golfinhos-nariz-de-garrafa variou entre campanhas, de 2.300 a 9.600 indivíduos, sem uma sazonalidade definida. A estimativa média foi de 5.900 indivíduos na estação quente e 3.200 indivíduos na estação fria. A abundância na plataforma continental representou 76% da abundância total na estação quente e 48% na estação fria. As estimativas por marcação-recaptura via fotoidentificação foram de 7.800 golfinhos-nariz-de-garrafa para todo o período de monitoramento;
- O comportamento de mergulho foi descrito para 12 espécies por meio da colocação de transmissores arquivais e satelitais, descrevendo o uso vertical da coluna da água por espécies como a baleia-piloto-de-peitorais-curtas, o cachalote, a orca e a baleia-minke-Antártica, tanto sobre a plataforma como em regiões oceânicas e no talude;
- O repertório acústico de assovios das sete espécies de delfinídeos mais representativas do banco de dados acústicos (Sonoteca) foi aprimorado, assim como o classificador de assovios, com a inclusão da variável profundidade no modelo, obtendo notável melhora na capacidade de distinção dos assovios do golfinho-nariz-de-garrafa. Também foi analisado o efeito de variáveis ambientais no repertório destes delfinídeos, e observado influência da profundidade, da temperatura e do tamanho de grupos nos parâmetros acústicos dos assovios;
- Os dados de 51 campanhas de *gliders* fornecidos pelo Projeto de Monitoramento da Paisagem Submarina da Bacia de Santos (PMPAS-BS) possibilitaram a análise da ocorrência de misticetos na Bacia de Santos (baleia-azul, baleia-fin, baleia-sei, baleia-minke-Antártica e baleia-jubarte),

indicando padrões migratórios sazonais consistentes com o que já se conhece das espécies. Um classificador espécie-específico para baleia-sei foi desenvolvido com grande potencial de aplicação para grandes conjuntos de dados e adaptação para outras espécies;

- A relação entre as operações de prospecção sísmica e a ocorrência de sinais acústicos de delfinídeos (assovios) e misticetos (grunhidos e gemidos) foi explorada pela primeira vez a partir de dados de *glider* dedicados ao monitoramento no entorno de sísmicas. Também foram utilizados dados do Projeto de Monitoramento da Biota Marinha (PMBM) de projetos de prospecção sísmica do Cluster BS, coletados a bordo de navios sísmicos visando identificar as espécies de cetáceos expostas aos ruídos da sísmica e respectivas reações. Estas análises se mostraram promissoras, mas ainda não são conclusivas e serão aprofundadas ao longo da execução do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS;
- Cinco amostras coletadas foram analisadas para isótopos estáveis ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) e os resultados são valores semelhantes aos encontrados no período anterior. Um maior conjunto de dados é necessário para se fazer inferências sobre a ecologia trófica dos cetáceos com base nestes indicadores. Foi possível realizar um experimento sobre o efeito do preparo da amostra para determinação de isótopos, sendo obtido um fator de correção de $\delta^{13}C$ semelhante ao reportado na literatura científica;
- São apresentadas as concentrações dos compostos orgânicos potencialmente tóxicos analisados (HPAs, organoclorados e organobromados) de mais 23 amostras de tecido adiposo da pele de nove espécies de cetáceos na região, biopsiados entre agosto/2022 e julho/2023. Desde o início do PMC-BS (2015), há resultados para 236 amostras de 19 espécies para HPAs, 117 amostras de 15 espécies para PCB e PDBE e 79 amostras de 12 espécies para os demais pesticidas organoclorados. Os compostos orgânicos potencialmente tóxicos mais abundantes e mais frequentes, com ocorrência entre 50% e 65% do total de amostras analisadas, foram PCB > DDT > HPAs, embora os HPAs tenham sido detectados em maior número de espécies coletadas (78,9% de 19

espécies). *Tursiops truncatus, Stenella frontalis, Stenella longirostis, Balaenoptera brydei* e *Megaptera novaeangliae* são as espécies com maior exposição a estes compostos mais recorrentes, embora em níveis de contaminação que podem ser considerados baixos e que diferem entre estas espécies possivelmente em função dos hábitos alimentares e áreas de forrageio;

- Foi dada continuidade à padronização de análises de biomarcadores, sendo realizada a padronização das técnicas de quantificação de atividade glutationa S-transferase (GST) e imunodetecção da proteína citocromo P450 (CYP1A) em tecido tegumentar de *Megaptera novaeangliae*. Também foi padronizado o ensaio para quantificação dos níveis de proteínas carboniladas (PCO) no mesmo tecido para todas as espécies prioritárias de cetáceos para análise de biomarcadores do PMC-BS. No mesmo período foram realizadas análises de quantificação de atividade glutationa S-transferase (GST) em 28 indivíduos da espécie *M. novaeangliae*;
- Considera-se que os objetivos delineados para serem contemplados pelo PMC-BS neste Ciclo de Médio Prazo de execução vem sendo abordados de forma satisfatória, como pode ser verificado pelas informações apresentadas nos dois Volumes que formam este 8° Relatório Anual.

III. RESUMO DOS MÉTODOS

O PMC-BS segue uma abordagem multi-metodológica para coleta de dados sobre os cetáceos, descrita no Projeto Executivo do Ciclo de Médio Prazo (PETROBRAS, 2020b) e resumida abaixo. Os diferentes métodos de coleta e processamento de dados empregados no Projeto estão detalhados em diferentes Procedimentos Operacionais (POs), que estão compilados no **Volume II** deste 8º Relatório Anual.

A principal plataforma de coleta do PMC-BS é uma embarcação mini-*supply* "*Sea Route*", de 23,7 metros de comprimento e dois motores e adaptada para a pesquisa científica (**Figura III-1**). Esta embarcação tem autonomia de 45 dias de mar e acomoda até 12 pesquisadores. A embarcação possui uma torre com 7 metros de altura (**Figura III-2**), que proporciona amplo campo visual para procura de cetáceos ao longo de linhas de transecção sistemáticas (nas Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP) ou de rotas focadas em regiões com histórico de maior densidade de cetáceos para marcação com transmissores satelitais e arquivais (nas Campanhas de Telemetria).

Durante as Campanhas (de Avistagem Embarcada e MAP e de Telemetria), três observadores de bordo atuaram simultaneamente na torre, buscando ativamente cetáceos a olho nu e com auxílio de binóculos. Estes observadores revezaram-se, com dois observadores em descanso durante todo o período do dia, enquanto houvesse luz e condições meteoceanográficas adequadas, isto é, ausência de chuva e condições de mar de até 5 na escala Beaufort. Quando grupos de cetáceos foram detectados, os observadores registraram informações como hora, posição geográfica, identificação taxonômica (no menor nível possível), tamanho de grupo e presença de filhotes. O esforço amostral foi controlado pelo tempo de amostragem e rotas percorridas (*tracks*), registradas continuamente pelo GPS.

Figura III-1: *Vista geral da embarcação Sea Route, utilizada para as coletas de dados embarcados do PMC-BS.*

Figura III-2: *Torre de observação da embarcação Sea Route, com observadores em esforço durante campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS.*

Nas Campanhas de Avistagem Embarcada, a amostragem visual foi realizada de forma simultânea, mas independente do Monitoramento Acústico Passivo (MAP). O monitoramento acústico foi realizado com um arranjo de quatro hidrofones (ver **Volume II deste 8º Relatório Anual - Anexo III-10: Características dos arranjos de hidrofones**), dois de alta e dois de baixa frequência, rebocados com um cabo de 400 metros da popa da embarcação (**Figura III-3**). Dois operadores de MAP monitoraram os sinais acústicos, auditivamente e por meio de espectrogramas, auxiliados por *softwares* de detecção, classificação e posicionamento dos sinais acústicos (**Figura III-4**). Os operadores de MAP revezaram-se, com um operador em descanso durante o período diurno e sempre que as condições meteoceanográficas permitissem (ausência de descargas elétricas e mar até 5 na escala Beaufort). Informações sobre as detecções de cetáceos foram registradas durante as campanhas e os sinais acústicos captados foram armazenados em HDs, para validação e análise espectral posterior em laboratório.

Os métodos visuais e acústicos de amostragem foram usados de forma simultânea e complementar na maior parte do esforço embarcado de monitoramento em linhas de transecção do PMC-BS. Por conta disto, o esforço foi interrompido no período noturno com retorno no dia seguinte a partir do ponto de parada. Eventualmente, a amostragem simultânea visual e acústica foi interrompida, no caso de paralisação do esforço acústico (p.ex. por baixa profundidade ou problemas técnicos momentâneos) ou do esforço visual (p.ex. por chuva forte ou outras condições adversas). Deste modo, eventualmente a embarcação mantinha a navegação para amostragem nas linhas desde que uma das formas de amostragem estivesse em operação. O deslocamento e a amostragem da embarcação nas linhas só foram interrompidos completamente durante a noite, quando havia condições restritivas para ambos os métodos e/ou para a segurança da embarcação como um todo (equipe técnica, tripulantes e Sea Route), ou para realização das paradas programadas para abastecimento e troca de equipe.

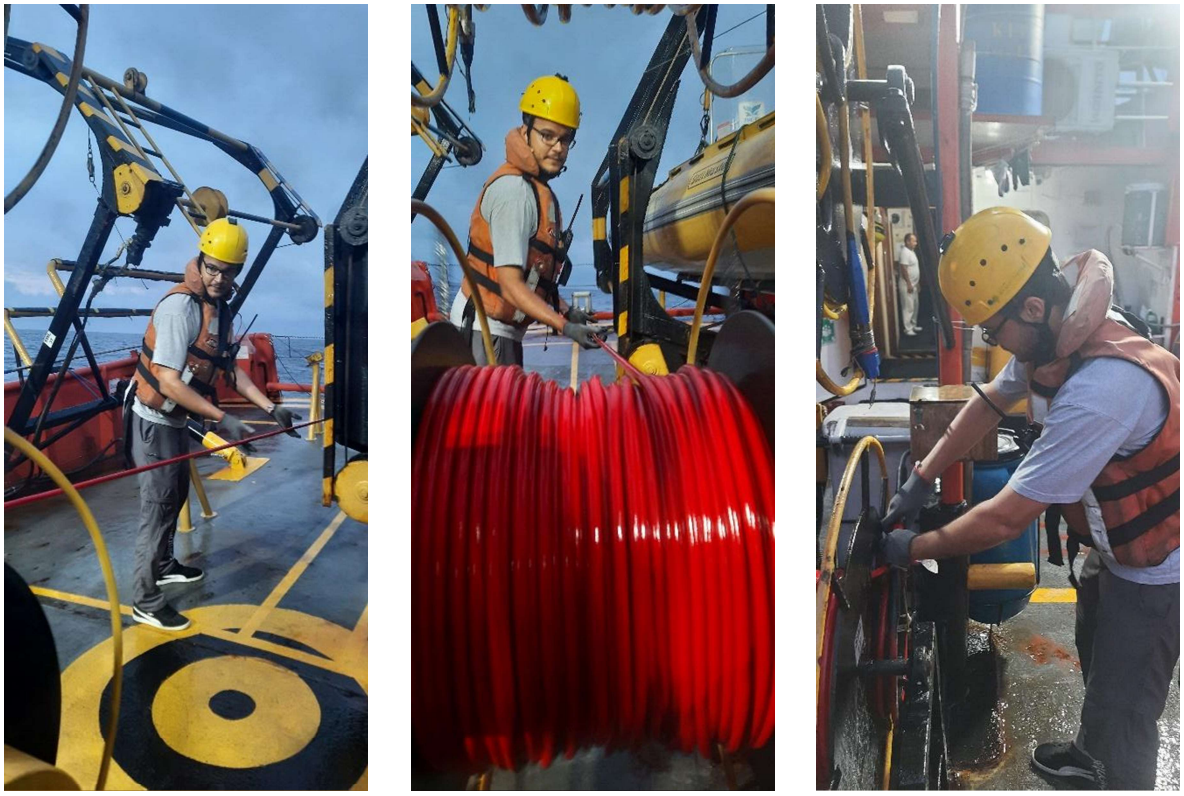


Figura III-3: *Cabo de reboque do arranjo de hidrofones sendo lançado com o guincho hidráulico na popa da embarcação, e conectado com o cabo de convés durante Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC - BS.*

Figura III-4: *Estação e operadores de MAP durante Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS.*

Nas Campanhas de Telemetria, a prioridade foi a implantação de transmissores satelitais ou arquivais em cetáceos de médio a grande porte. Após a detecção visual de um grupo a partir do navio e havendo condições meteoceanográficas adequadas (mar até 3 na escala Beaufort), a aproximação dos grupos foi feita com auxílio de um bote inflável equipado com uma plataforma elevada na proa (**Figura III-5**). Um segundo bote inflável de segurança também foi lançado ao mar para auxiliar na coleta de dados e para atuar no caso de eventuais emergências.

Dois tipos de transmissores foram utilizados nas Campanhas de Telemetria (**Figura III-6**): (i) transmissores satelitais implantáveis, da marca Wildlife Computers, modelo SPLASH10, nas configurações “Tubo intramuscular” e “LIMPET” (*Low Impact Minimally Percutaneous Electronic Transmitter*); e (ii) transmissores arquivais, que eram fixados por copos de sucção à superfície corporal dos animais, modelo DTAG, fabricado pelo *Woods Hole Oceanographic Institution*, ou modelo Cats Cam, fabricado pela empresa *Customized Animal Tracking Solutions*. Os transmissores satelitais foram implantados no corpo dos cetáceos remotamente por meio de uma balestra (no caso da configuração LIMPET) ou de um rifle de ar comprimido adaptado para marcação da empresa Restech ARTS (no caso das configurações Tubo intramuscular e LIMPET). Os transmissores arquivais foram implantados por meio de uma vara de fibra de carbono. Os transmissores satelitais priorizam a coleta de posições geográficas numa escala temporal maior (de dias a semanas). Os transmissores arquivais trabalham em uma escala temporal de horas e priorizam a coleta de dados em alta resolução de mergulho e movimentos nos três eixos corporais, além de dados acústicos e, no caso do Cats Cam, também imagens.

Figura III-5: *Vista geral do bote inflável principal (6,3 m) usado nas Campanhas de Telemetria do PMC-BS e equipe de marcação (da esq. para dir.): tagueador (responsável pela implantação do transmissor), coletor de biópsia, fotógrafo e piloto.*

Figura III-6: *Transmissores utilizados nas Campanhas de Telemetria do PMC-BS: transmissor satelital implantável na configuração LIMPET implantado em uma orca (esq.) e transmissor arquival do modelo DTAG implantado em uma baleia-jubarte (dir.).*

Sempre que possível, durante as campanhas embarcadas, foram coletados

dados de fotoidentificação individual através das marcas naturais, como na nadadeira dorsal ou padrões de pigmentação dos animais (**Figura III-7**). Os indivíduos identificados foram comparados com catálogos organizados por espécie do próprio PMC-BS e de outros grupos de pesquisa que atuam na costa brasileira e no exterior.

Figura III-7 *Exemplos de fotografias utilizadas para a fotoidentificação individual de cetáceos no PMC-BS: padrão de pigmentação da nadadeira caudal de baleia-jubarte (esq.); e marcas na nadadeira dorsal de golfinhos-nariz-de-garrafa (dir.).*

Enfim, foram realizadas coletas de biópsias a partir do navio (o *Sea Route*) ou dos botes infláveis, usando uma balestra e flechas com ponteiras modificadas visando a obtenção de amostras de pele e de tecido adiposo subjacente para diferentes análises (**Figura III-8**). As amostras, uma vez a bordo do navio, foram triadas, particionadas e então acondicionadas em meio e temperatura adequados para sua preservação e de acordo com as análises a que se destinam.

Figura III-8: *Coleta de biópsia a partir da proa do navio (esq.) e posterior triagem da biópsia (dir.) durante Campanha de Telemetria do PMC-BS.*

Este foi o segundo Relatório Anual após as adaptações metodológicas implementadas no Ciclo de Médio Prazo (PETROBRAS, 2020b). Abaixo, apresenta-se um resumo das principais adaptações, descritas em detalhes em PETROBRAS (2020b):

1) Realização de apenas uma campanha de telemetria no inverno/primavera e com duração maior, de 40 dias;
2) Mudança do desenho amostral das campanhas de avistagem aérea, para coleta de dados antes e durante a realização de prospecção sísmica;
3) Inclusão de fotogrametria por drone; e
4) Inclusão de análises de isótopos estáveis.

IV. ESFORÇO E TAMANHO AMOSTRAL

As informações básicas sobre a totalidade das campanhas do PMC-BS, desde seu início em 2015 até a última campanha considerada neste relatório (15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP, concluída em 04/06/2023), estão sumarizadas no **Volume II - Anexo IV-1: Esforço e Tamanho Amostral por Campanha do PMC-BS**. Nos dois subitens seguintes, descreve-se brevemente o esforço e tamanho amostral do PMC-BS no Ciclo de Médio Prazo e, em seguida, apresenta-se um resumo do esforço empregado ao longo de toda a série temporal do monitoramento.

Os dados coletados no âmbito do PMC-BS estão disponíveis ao público através de um sistema *online* (na internet) desenvolvido pelo próprio Projeto, denominado SisPMC[1]. Cumpre informar, contudo, que atualmente os bancos de dados do SisPMC encontram-se defasados quanto às campanhas mais recentes. Mas cumpre, também, esclarecer que o SisPMC vem sendo objeto de intenso trabalho de redesenvolvimento para o tratamento das falhas, inconsistências e obsolescências, bem como para a implementação de melhorias e de atualizações. Dessa forma, os esforços visam o desenvolvimento evolutivo do SisPMC de modo a torná-lo adequado ao escopo planejado para os Ciclos de Médio e de Longo Prazos e robusto para atender aos requisitos de segurança cibernética, de manutenção corretiva e de manutenção evolutiva. Por força de todos esses fatores, o redesenvolvimento do SisPMC tem previsão de conclusão no 1º semestre de 2024, a partir de quando, o carregamento de dados coletados e sua disponibilização para o público voltarão a ser realizados. Cabe destacar que, além do SisPMC, os dados coletados no âmbito do PMC-BS também podem ser disponibilizados ao público por meio de contato direto com os executores do Projeto. Ademais, os dados de avistagens e de detecções acústicas do PMC-BS também estão disponibilizados ao público via Sistema de Apoio ao

[1] https://sispmcprd.petrobras.com.br/sispmc

Monitoramento de Mamíferos Marinhos (SIMMAM[2]) (última atualização em fevereiro de 2024). Ambos os sistemas (SisPMC e SIMMAM) permitem a visualização das informações em formato de planilha ou webGIS, além de diferentes opções de filtragem e de *download* dos dados. Outrossim, para utilização em projetos acadêmicos/científicos, os dados têm sido disponibilizados a pesquisadores por diferentes meios (e.g., e-mail, meio físico – HD ou pen-drive, nuvem de dados) a depender do tipo de dado solicitado (e.g. fotos, vídeos, sons, planilhas) e do volume de dados solicitado. Finalmente, vale lembrar e salientar que todos os Relatórios Anuais do Projeto (e outras informações e documentos sobre o Projeto) estão disponíveis para acesso público na página do PMC-BS[3], dentro do portal Comunica Bacia de Santos[4], o que complementa os compromissos de publicização e propiciação de acesso à informação, parte das definições do Projeto.

IV.1 Esforço e tamanho amostral no Ciclo de Médio Prazo

Durante o Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, iniciado em junho de 2021, foram realizadas até o momento nove campanhas: quatro Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP, duas Campanhas de Telemetria e três Campanhas de Avistagem Aérea (realizadas em duas etapas, sendo uma antes e outra durante um projeto de aquisição sísmica). O esforço amostral e cetáceos detectados visual e acusticamente no Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS estão descritos na **Tabela IV.1-1**. As quatro Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS foram realizadas entre o inverno de 2021 e o verão de 2023, com malhas de transecção sistemáticas cobrindo toda a área de estudo na Bacia de Santos (**Figura IV.1-1**).

[2] http://simmam.acad.univali.br/sistema/public/login
[3] https://comunicabaciadesantos.petrobras.com.br/projeto-de-monitoramento-de-cetaceos-pmc
[4] https://comunicabaciadesantos.petrobras.com.br/home

Tabela IV.1-1: *Esforço amostral e detecções de cetáceos nas Campanhas de Telemetria e de Avistagem Embarcada e MAP do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS. MAP = Monitoramento Acústico Passivo; mn = milhas náuticas.*

Tipo de Amostragem	Campanha (número)	Estação do ano	Data de início	Data de término	Esforço (dias)	Esforço (horas)	Esforço (mn)	Grupos de Cetáceos
Avistagem	**13**	Inverno	08/07/2021	20/08/2021	37	392,6	2.706	318
MAP					37	356,8	2.594	97
Telemetria	**13**	Inverno / primavera	28/08/2021	06/10/2021	37	414,2	2.591	120
Aérea	**13**	Primavera / verão	28/11/2021	29/12/2021	6	19,5	3.530	30
Avistagem	**14**	Verão	22/01/2022	01/03/2022	39	413,0	2.954	73
MAP					34	376,7	2.753	87
Telemetria	**14**	Inverno	21/06/2022	30/07/2022	37	382,2	2.280	320
Avistagem	**15**	Inverno / primavera	12/08/2022	06/10/2022	39	411,6	2.799	259
MAP					34	338,0	2.629	144
Aérea	**14**	Primavera	04/10/2022	19/11/2022	7	19,3	2.549	43
Avistagem	**16**	Verão	18/01/2023	27/02/2023	30	370,0	3.011	70
MAP					30	340,9	2.861	80
Aérea	**15**	Outono	07/05/2023	04/06/2023	6	23,9	3.325	26

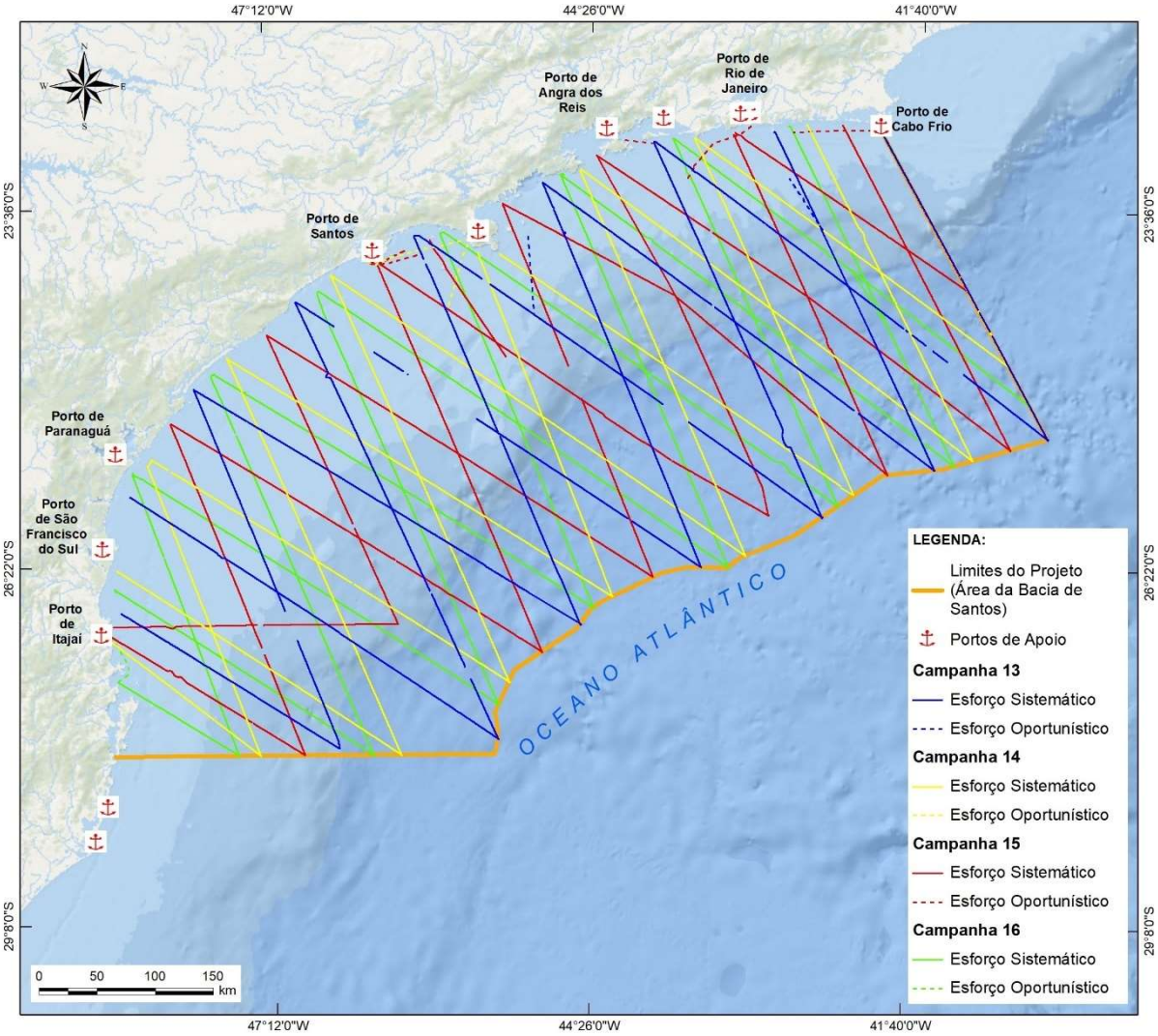


Figura IV.1-1: *Linhas de transecção percorridas nas Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP durante o Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS.*

As duas Campanhas de Telemetria realizadas no Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS (13ª e 14ª do Projeto) seguiram a nova estratégia amostral definida para este Ciclo, com previsão de duração de 40 dias consecutivos de esforço de campo, preferencialmente no inverno (ver PETROBRAS, 2020b). Neste 8º Relatório Anual são apresentados novos dados em relação ao 7º Relatório Anual, que foram coletados durante a 14ª Campanha de Telemetria, a qual teve duração de 37 dias, durante os quais foi empreendido um esforço de 382,2 horas de amostragem e foram percorridas 2.280,2 milhas náuticas (**Figura IV.1-2**), resultando na detecção de 320

grupos de cetáceos. Nessa 14ª Campanha de Telemetria foram realizadas 52 tentativas de marcação com transmissores satelitais e transmissores arquivais, resultando em um total de 16 transmissores implantados com sucesso. Nestas duas últimas campanhas de telemetria foi realizado planejamento para esforço de marcação nas proximidades das atividades sísmicas (13ª Campanha no Campo de Sapinhoá e 14ª Campanha no Campo de Tupi), mas devido às condições meteoceanográficas adversas não foi possível amostrar próximo do Campo de Sapinhoá ou realizar marcações no Campo de Tupi, apesar de esforço amostral nos arredores deste campo.

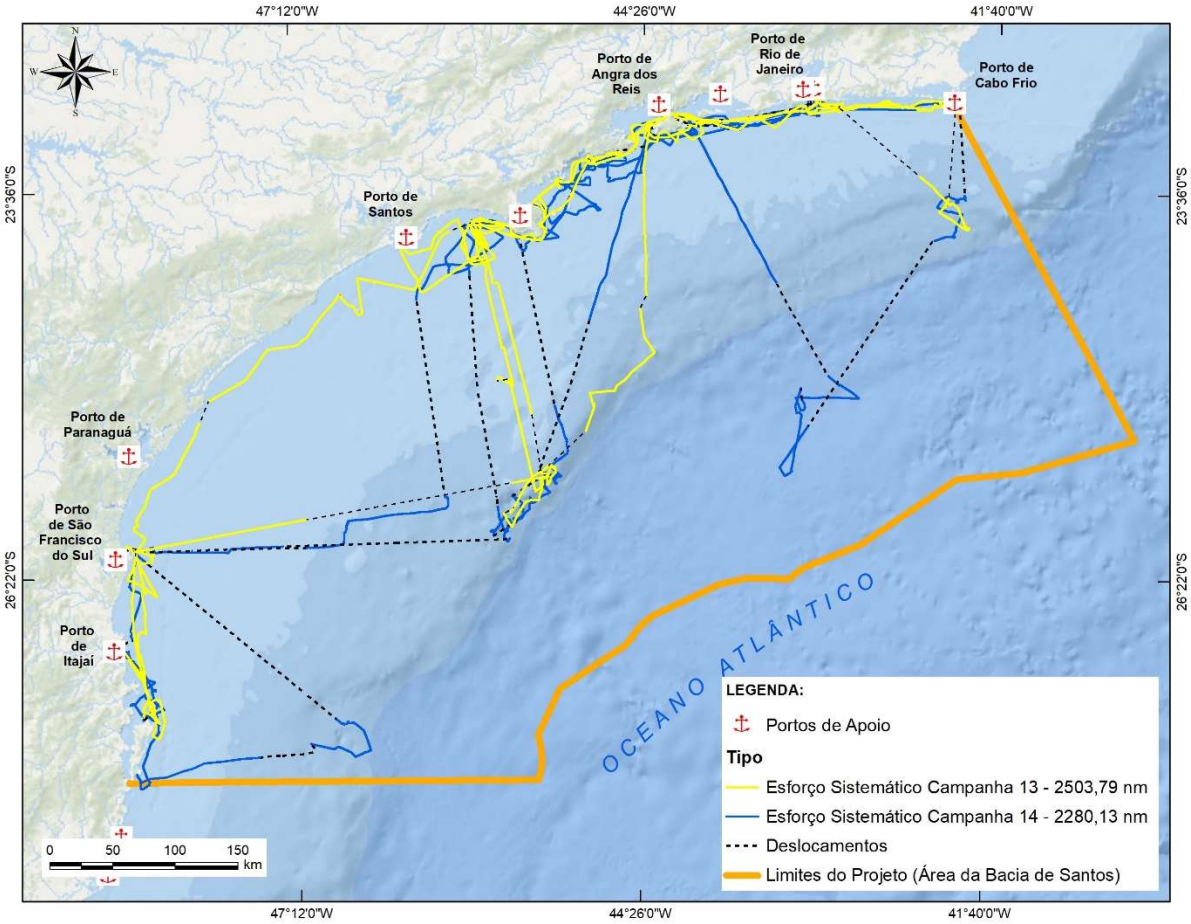


Figura IV.1-2: *Esforço amostral nas 13ª e 14ª Campanhas de Telemetria do PMC-BS (Ciclo de Médio Prazo).*

Em relação às Campanhas de Avistagem Aérea no Ciclo de Médio Prazo, o desenho amostral foi revisado (em relação ao que foi adotado durante o Ciclo de Curto Prazo do PMC-BS), passando a focar o esforço em uma região no entorno de um projeto de prospecção sísmica antes do início e durante os disparos dos canhões de ar (*airguns*). Além da 13ª Campanha de Avistagem Aérea, realizada no entorno da Área de Prospecção Sísmica de Iracema, em 2021, foram realizadas duas novas campanhas neste novo formato (ver mais detalhes no item **V.4.3.2 Sobrevoo antes e durante sísmicas na Bacia de Santos**). A 14ª Campanha de Avistagem Aérea foi realizada na Área de Prospecção Sísmica de Itapu e entorno, com 4.720,95 km percorridos e 43 grupos de cetáceos detectados. A 15ª Campanha de Avistagem Aérea foi realizada na Área de Prospecção Sísmica de Iara e entorno, onde foram percorridos 6.157,97 km e detectados 26 grupos de cetáceos.

IV.2 Esforço e tamanho amostral em toda a série temporal

Os dados considerados no presente 8º Relatório Anual são resultado de oito anos de coleta sistemática de dados pelo PMC na Bacia de Santos (entre 2015 e 2023), perfazendo 1.075 dias, 11.194,5 horas e 214.783 km de esforço amostral visual aéreo e embarcado (**Figura IV.2-1**). Este intenso esforço amostral resultou em 4.362 detecções visuais de cetáceos (**Figura IV.2-2**). Tendo amostragem praticamente simultânea à da Avistagem Embarcada, o Monitoramento Acústico Passivo (MAP) resultou em 1.802 detecções acústicas de grupos de cetáceos, não sendo considerado separadamente na contabilização do esforço amostral cumulativo do Projeto.

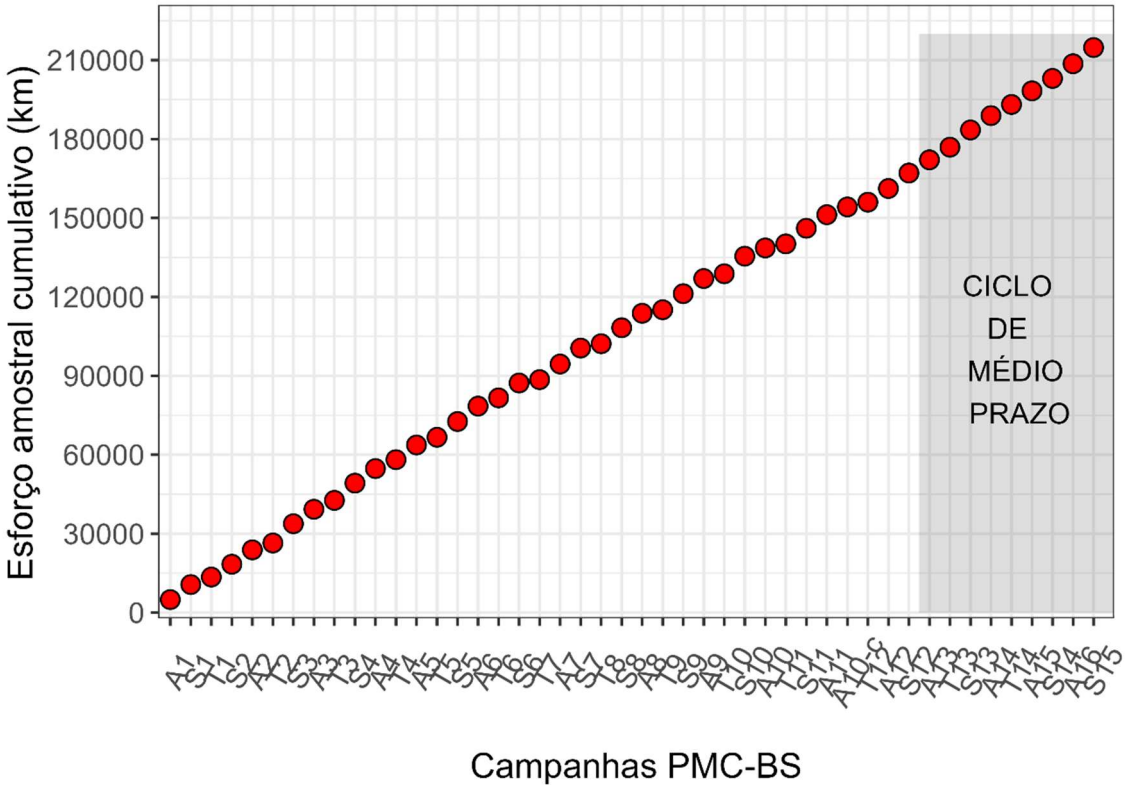


Figura IV.2-1: *Esforço amostral cumulativo (em km percorridos) em todas as campanhas do PMC-BS até o presente (2015-2023). A = Avistagem Embarcada, S = Avistagem Aérea, T = Telemetria. O esforço de Monitoramento Acústico Passivo (MAP) foi excluído por praticamente coincidir com o esforço de Avistagem Embarcada.*

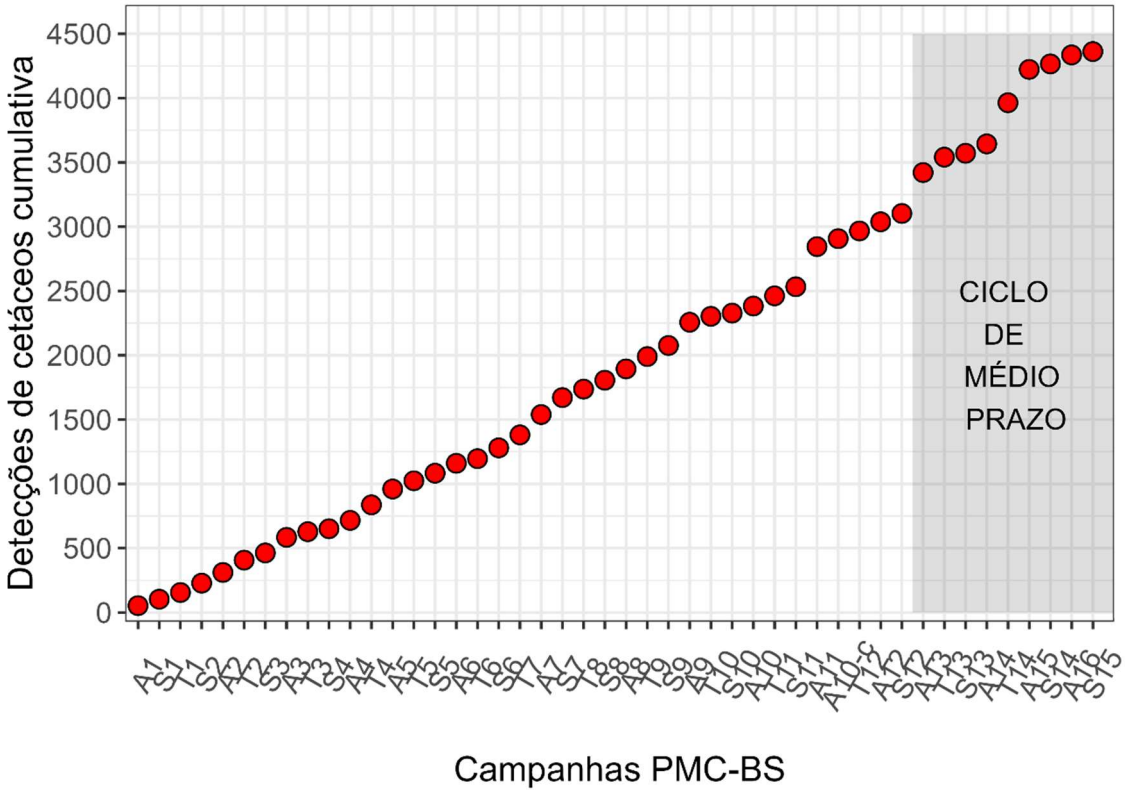


Figura IV.2-2: *Detecções visuais cumulativas de cetáceos durante todas as campanhas do PMC-BS até o presente (2015-2023). A = Avistagem Embarcada, S = Avistagem Aérea, T = Telemetria.*

Ao longo desses oito anos de execução do PMC-BS, 118 transmissores foram colocados com sucesso em indivíduos de 14 espécies de cetáceos, sendo 94 transmissores satelitais e 24 transmissores arquivais (**Tabela IV.2-1**). Mais informações sobre cada implantação de transmissor satelital estão descritas no item **V.2.2 Movimentos**.

Tabela IV.2-1: *Espécies de cetáceos marcadas com sucesso com transmissores satelitais, usando diferentes sistemas de ancoragem, e transmissores arquivais (DTAGs e Cats Cam) durante as Campanhas de Telemetria do PMC na Bacia de Santos entre 2015 e 2023.*

Espécie	Tipo de Transmissor				Total
	Tubo Intra-muscular	LIMPET	DTAG	Cats Cam	
Eubalaena australis	1	0	2	0	3
Balaenoptera musculus	2	0	0	0	2
Balaenoptera physalus	1	3	1	0	5
Balaenoptera borealis	3	23	3	3	32
Balaenoptera brydei	0	4	2	0	6
Balaenoptera bonaerensis	0	4	0	0	4
Megaptera novaeangliae	9	0	8	1	18
Physeter macrocephalus	1	2	1	0	4
Orcinus orca	0	11	1	0	12
Globicephala macrorhynchus	0	8	1	0	9
Peponocephala electra	0	2	1	0	3
Grampus griseus	0	1	0	0	1
Steno bredanensis	0	1	0	0	1
Tursiops truncatus	0	18	0	0	18
TOTAL	**17**	**77**	**20**	**4**	**118**

Para 27 espécies com registros fotográficos no PMC-BS foi possível iniciar a elaboração do catálogo de referência de fotoidentificação, com um total de 3.211 indivíduos catalogados (**Tabela IV.2-2**). As espécies com maior número de fotoidentificações foram o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), com cerca 27% dos indivíduos identificados, seguido do golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*) com cerca de 17% do total de indivíduos. No período do Projeto foram realizadas comparações dos catálogos de animais fotoidentificados do PMC-BS com os catálogos de diferentes instituições de pesquisa do Brasil e do mundo (ver **Volume II - Anexo IV-2**: Comparações de catálogos de fotoidentificação do PMC-BS com

outros grupos de pesquisa). As reavistagens realizadas pela equipe de pesquisa de indivíduos dentro do catálogo do PMC-BS e de indivíduos catalogados pelo PMC-BS com indivíduos catalogados por outros grupos de pesquisa forneceram importantes informações biológicas como rotas de migração, movimentos, fidelidade ao uso de determinadas áreas e parâmetros populacionais de algumas espécies.

O esforço acumulado de coleta de biópsias ao longo de todo o PMC-BS já resultou em 609 amostras de 21 espécies (**Tabela IV.2-3**). As duas espécies das quais se coletou o maior número de amostras continuam sendo o golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*), com 26,9% do total das biópsias, e o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), com 19,4% do total das biópsias coletadas pelo Projeto.

Tabela IV.2-2: *Número cumulativo de indivíduos em cada catálogo por espécie até o final do Ciclo de Curto Prazo (até a 12ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP) e no Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS (da 13ª até a 16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP*).*

Espécie	Ciclo de Curto Prazo	Ciclo de Médio Prazo*
Eubalaena australis	0	1
Balaenoptera musculus	6	7
Balaenoptera physalus	18	35
Balaenoptera borealis	50	57
Balaenoptera brydei	30	34
Balaenoptera acutorostrata	3	4
Balaenoptera bonaerensis	11	12
Megaptera novaeangliae	119	192
Physeter macrocephalus	5	5
Kogia sima	3	3
Ziphius cavirostris	1	1
Orcinus orca	30	44
Globicephala sp.	117	211
Pseudorca crassidens	20	20
Feresa attenuata	54	58
Peponocephala electra	271	271
Sotalia guianensis	127	174
Steno bredanensis	78	90
Grampus griseus	119	204
Tursiops truncatus	673	850
Stenella attenuata	54	46
Stenella frontalis	446	536
Stenella longirostris	192	209
Stenella clymene	27	33
Delphinus sp.	60	92
Lagenodelphis hosei	11	11
Pontoporia blainvillei	1	1
Total	**2.526**	**3.211**

Tabela IV.2-3: *Número total de biópsias coletadas por espécie no Ciclo de Curto Prazo (até a 12ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP 12) e no Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS (da 13ª até a 16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP*).*

Espécie	Ciclo de Curto Prazo	Ciclo de Médio Prazo*	TOTAL
Eubalaena australis	2	1	3
Balaenoptera musculus	8	0	8
Balaenoptera physalus	7	1	8
Balaenoptera borealis	35	5	40
Balaenoptera brydei	14	1	15
Balaenoptera acutorostrata	1	0	1
Balaenoptera bonaerensis	8	0	8
Megaptera novaeangliae	31	3	34
Physeter macrocephalus	7	0	7
Orcinus orca	8	3	11
Globicephala macrorhynchus	19	0	19
Pseudorca crassidens	1	0	1
Peponocephala electra	5	0	5
Sotalia guianensis	2	0	2
Steno bredanensis	16	2	18
Tursiops truncatus	94	24	118
Stenella attenuata	21	1	22
Stenella frontalis	134	30	164
Stenella longirostris	66	12	78
Stenella clymene	11	3	14
Delphinus delphis	27	6	33
Total	**517**	**92**	**609**

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO ORIENTADA PARA OS OBJETIVOS

V.1 Descrição da comunidade de cetáceos

O PMC-BS vem, ao longo de seus 8 anos, coletando dados sobre cetáceos de forma sistemática na bacia de Santos. O aumento do esforço amostral acumulado, realizado em a extensa área de estudo com um amplo gradiente batimétrico, que engloba desde águas costeiras até oceânicas, vem mudando de maneira marcante o conhecimento sobre os cetáceos da costa brasileira e isto é particularmente verdadeiro no que tange às águas profundas. O PMC-BS e outros projetos desenvolvidos na bacia de Santos possibilitaram uma abordagem multi-metodológica e multiespecífica, contando com a amostragem em uma grande área de maneira sistemática e com detecção visual e detecção acústica das espécies. Mais do que isso, conta-se com apoio de novas tecnologias (drones, transmissores – ou simplesmente "*tags*" – arquivais e satelitais) e acesso a uma gama variada de amostras, como fragmentos representativos de pele e de gordura.

Trinta e nove espécies de cetáceos distribuídas em sete famílias já foram confirmadas por avistagens ou por encalhe de animais na bacia de Santos, Oceano Atlântico Sul ocidental (PETROBRAS, 2021, ver **Volume II – V-1** *Check-list* dos cetáceos da Bacia de Santos). Para compilação desta lista, foram reunidas informações de uma revisão bibliográfica e de novos registros obtidos pelo PMC-BS e pelo Projeto de Monitoramento de Praias da Bacia de Santos (PMP-BS), que também é realizado desde 2015. Entretanto, esta riqueza inclui espécies ocasionais e raras, cuja ocorrência na bacia de Santos corresponde a registros que estão além dos limites de distribuição (extra-limites), que podem ser interpretados como registros anômalos. Os dados observacionais e acústicos levantados pelo monitoramento sistemático realizado pelo PMC-BS permitiram reunir informações sobre os cetáceos que efetivamente usam a Bacia de Santos de forma recorrente, caracterizando a estrutura desta comunidade. Assim, o presente item sobre a

comunidade de cetáceos buscou atualizar as informações levantadas pelo PMC-BS para a comunidade de cetáceos da bacia de Santos, bem como fornecer uma lista de espécies de cetáceos avistadas na bacia de Santos, a descrição de seus habitats (profundidade e temperatura) e seus tamanhos de grupo.

V.1.1 Material e Métodos – comunidade de cetáceos

Os métodos utilizados pelo PMC-BS para a amostragem dos cetáceos na bacia de Santos foram descritos no item **III. Métodos de Coleta** do presente 8º Relatório Anual e os Procedimentos Operacionais (POs) detalhados podem ser acessados nos Anexos do Projeto Executivo do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS (PETROBRAS, 2020b)[5]. O esforço amostral deste item incluiu 45 campanhas de coleta de dados embarcadas e aéreas, realizadas entre novembro de 2015 e fevereiro de 2023. Nessas campanhas foram realizados 1.068 dias de esforço, com 11.175 horas e 210.050 km percorridos durante a amostragem.

O DNA extraído das amostras de pele, coletadas nas Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP e nas Campanhas de Telemetria dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos do PMC-BS, foi sequenciado para a região controle do DNA mitocondrial (DNAmt). Um total de 612 amostras apresentaram sequências de boa qualidade e foram identificadas molecularmente (**Volume II: Anexo V-1**). Os haplótipos da região controle do DNAmt dessas amostras foram depositados no *GenBank*.

Para identificação da espécie, após a geração da sequência consenso das leituras *forward* e *reverse* obtidas para cada amostra no programa SEQUENCHER 5.4.6 (Gene Codes Corporation), cada sequência foi comparada por análise

[5] Disponível em https://comunicabaciadesantos.petrobras.com.br/projeto-de-monitoramento-de-cetaceos-pmc

filogenética (*neighbor-joining*) com as sequências do banco de dados de referência do programa *DNA Surveillance* (ROSS et al., 2003).

Adicionalmente, as sequências foram comparadas com o banco de sequências de DNA do *GenBank*, por pesquisas de similaridade usando a ferramenta *BLAST* desse banco, em que se verifica a espécie com maior similaridade. Porém, nem todas as espécies possuem sequências de referência no *GenBank*. Assim, nos casos de discrepância na identificação entre os resultados do *DNA Surveillance* e a espécie mais próxima no *GenBank*, optou-se pela identificação oriunda do primeiro.

V.1.2 Resultados – comunidade de cetáceos e uso de habitat

Foram realizadas 4.530 detecções visuais de cetáceos durante as diferentes campanhas do PMC-BS (Avistagem Embarcada e MAP, Avistagem Aérea e Telemetria) no período de estudo – entre novembro de 2015 e junho de 2023. Deste total geral, 56,3% (n = 2.550) foram identificadas em nível de espécie, incluindo as identificações confirmadas molecularmente. As diferentes metodologias obtiveram eficiência diferente na identificação taxonômica: as Campanhas de Telemetria apresentaram a maior taxa de sucesso (77,8% das avistagens identificadas) com um total de 24 espécies identificadas, seguidas das Campanhas de Avistagem Embarcada (56,7%) com 26 espécies e Campanhas de Avistagem Aérea (23,0% das avistagens identificadas), com 21 espécies. Por conta da baixa taxa de identificação taxonômica e dificuldade de identificação por meio dos sobrevoos, estes dados foram excluídos de algumas análises subsequentes.

Uma riqueza de 28 espécies de cetáceos foi observada pelo PMC-BS, distribuídas em sete famílias. Neste 8º Relatório Anual, continuamos a seguir a abordagem filogenética, que considera o táxon dos Cetacea inserido dentro da

Ordem Artiodactyla (ver PROTHERO et al., 2022), e com duas linhagens - Mysticeti e Odontoceti.

A curva cumulativa de riqueza de espécies em função do esforço amostral tendeu à estabilização, indicando uma amostragem adequada da comunidade de cetáceos ao longo dos anos de amostragem do PMC-BS (**Figura V.1-1**).

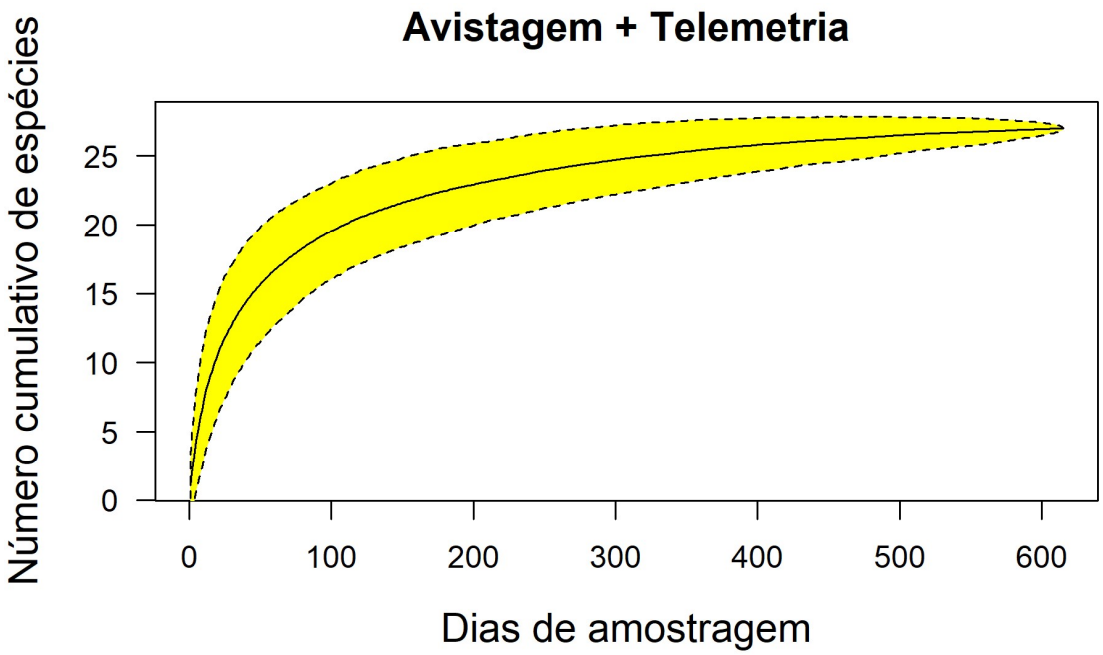


Figura V.1-1: *Curva cumulativa do número de espécies de cetáceos identificadas em função dos dias amostrados na Bacia de Santos pelo PMC-BS.*

Os nomes populares e científicos das espécies de cetáceos identificadas visualmente e geneticamente durante o PMC-BS e seus status de conservação em nível nacional e global estão enumerados na **Tabela V.1-1**. Dentre as espécies observadas pelo PMC-BS, sete constam na Lista da Fauna Brasileira Ameaçada (MMA, 2022) e, destas, cinco também constam como tendo algum grau de ameaça em nível global de acordo com a Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN).

Devido à dificuldade de identificação em campo, por meio de caracteres morfológicos, o golfinho-comum-de-bico-curto (*Delphinus delphis*) e a baleia-piloto-

de-peitorais-curtas (*Globicephala macrorhynchus*) só puderam ser identificados geneticamente. Todas as amostras dos gêneros *Delphinus* e *Globicephala* coletadas pelo PMC na Bacia de Santos foram posteriormente identificadas geneticamente como *Delphinus delphis* e *Globicephala macrorhynchus* respectivamente, o que sugere que estas são as únicas espécies desses gêneros que ocorrem na Bacia de Santos. Por isso, para algumas análises, como as de uso de habitat no presente item, todas as detecções destes gêneros foram agrupadas, mesmo as sem confirmação da identificação por genética, e foram identificadas com o gênero nos gráficos para reforçar este procedimento.

Tabela V.1-1: *Espécies de cetáceos avistadas pelo PMC-BS na Bacia de Santos entre 2015 e 2023. Tipo de Campanha do PMC-BS: AE = Avistagem Embarcada; AA = Avistagem Aérea; TE = Telemetria. Status de conservação: MMA = Ministério do Meio Ambiente; IUCN = União Internacional para Conservação da Natureza; CR = "Criticamente ameaçada", EN = "Ameaçado de extinção", VU = "Vulnerável", NT = "Quase ameaçada", LC = "Baixo risco", DD = "Deficiente em Dados.*

Nome Científico	Nome Comum	Tipo de Campanha do PMC-BS			Status de Conservação MMA / IUCN	Número de detecções
		AE	AA	TE		
MYSTICETI						
Família Balaenidae						
Eubalaena australis	Baleia-franca-austral			X	EN / LC	5
Família Balaenopteridae						
Megaptera novaeangliae	Baleia-jubarte	X	X	X	- / LC	1.130
Balaenoptera musculus	Baleia-azul	X		X	CR / EN	10
B. physalus	Baleia-fin	X		X	EN / VU	51
B. borealis	Baleia-sei	X	X	X	EN / EN	90
B. brydei	Baleia-de-Bryde	X	X	X	- / LC	108
B. bonaerensis	Baleia-minke-antártica	X	X	X	- / NT	14
B. acutorostrata	Baleia-minke-anã	X	X		- / LC	7
ODONTOCETI						

Nome Científico	Nome Comum	Tipo de Campanha do PMC-BS			Status de Conservação MMA / IUCN	Número de detecções
		AE	AA	TE		
Família Physeteridae						
Physeter macrocephalus	Cachalote	X	X	X	VU / EN	28
Família Kogiidae						
Kogia sima	Cachalote-anão	X	X		- / LC	2
Família Ziphiidae						
Ziphius cavirostris	Baleia-bicuda-de-Cuvier	X	X		- / LC	1
Mesoplodon europaeus	Baleia-bicuda-de-Gervais	X			- / LC	1
Família Pontoporiidae						
Pontoporia blainvillei	Toninha	X	X	X	CR / VU	23
Família Delphinidae						
Steno bredanensis	Golfinho-de-dentes-rugosos	X	X	X	- / LC	37
Sotalia guianensis	Boto-cinza	X	X	X	VU / NT	52
Tursiops truncatus	Golfinho-nariz-de-garrafa	X	X	X	- / LC	188
Stenella attenuata	Golfinho-pintado-pantropical	X	X	X	- / LC	44

Nome Científico	Nome Comum	Tipo de Campanha do PMC-BS			Status de Conservação MMA / IUCN	Número de detecções
		AE	AA	TE		
S. frontalis	Golfinho-pintado-do-Atlântico	X	X	X	- / LC	296
S. longirostris	Golfinho-rotador	X	X	X	- / LC	80
S. clymene	Golfinho-de-Clymene	X	X	X	- / LC	19
Delphinus delphis	Golfinho-comum	X		X	- / LC	15
Lagenodelphis hosei	Golfinho-de-Fraser	X			- / LC	1
Grampus griseus	Golfinho-de-Risso	X	X	X	- / LC	68
Peponocephala electra	Golfinho-cabeça-de-melão	X	X	X	- / LC	4
Feresa attenuata	Orca-pigmeia	X	X	X	- / LC	14
Pseudorca crassidens	Falsa-orca	X	X	X	- / NT	5
Orcinus orca	Orca	X	X	X	- / DD	37
Globicephala macrorhynchus	Baleia-piloto-de-peitorais-curtas			X	- / LC	7

A espécie mais frequente foi a baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*), com 47,6% das avistagens confirmadas (**Figura V.1-2**). Em seguida, vem o golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*), com 12,5% das avistagens e o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), com 7,9% das avistagens. Outras 11 espécies foram relativamente frequentes, variando entre 1% e 5% do total das observações, incluindo a baleia-de-Bryde (*Balaenoptera brydei*), baleia-sei (*B. borealis*), baleia-fin (*B. physalus*), o golfinho-rotador (*Stenella longirostris*), o golfinho-de-Risso (*Grampus griseus*) e o boto-cinza (*Sotalia guianensis*). Outras 14 espécies totalizaram menos de 1% do total de avistagens identificadas, sendo pouco frequentes. Dentre as pouco frequentes, quatro espécies foram raras nas observações visuais, com somente uma ou duas avistagens, sendo a baleia-bicuda-de-Cuvier (*ZIphius cavirostris*), a baleia-bicuda-de-Gervais (*Mesoplodon europaeus*), o cachalote-anão (*Kogia sima*) e o golfinho-de-Fraser (*Lagenodelphis hosei*).

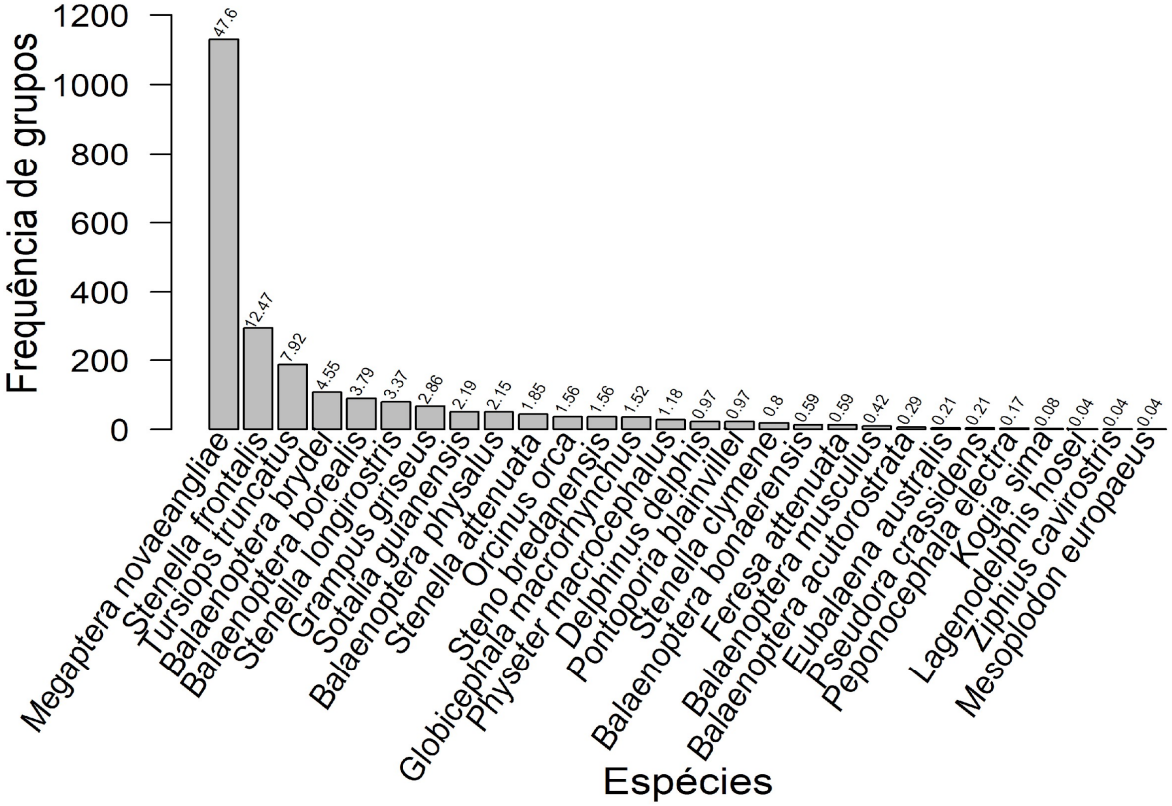


Figura V.1-2: *Número de detecções visuais por espécie identificada durante as campanhas embarcadas do PMC-BS entre 2015 e 2023. Número acima das barras corresponde à frequência em % de cada espécie.*

O uso de habitat foi descrito inicialmente aqui por duas variáveis importantes na definição dos habitats, a profundidade e a temperatura superficial da água do mar, esta última, obtida para o período de cada campanha amostral pelo sensor MODIS do satélite Aqua.

Os cetáceos utilizaram todo o gradiente de profundidade da área de estudo, desde águas costeiras e estuarinas, até regiões oceânicas. O uso das faixas batimétricas variou entre as espécies, com maior uso e sobreposição entre as espécies de cetáceos no talude, entre 200 e 2.000 m de profundidade (**Figura V.1-3**). Existem pelo menos cinco espécies que são exclusivamente costeiras e/ou da plataforma continental: boto-cinza (*Sotalia guianensis*), toninha (*Pontoporia blainvillei*), golfinho-comum-de-bico-curto (*Delphinus delphis*), baleia-franca-austral

(*Eubalaena australis*) e baleia-minke-anã (*Balaenoptera acutorostrata*). Outras cinco espécies usam águas de diferentes profundidades, mas a mediana de seus avistamentos também ocorreu em águas da plataforma continental: golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*), golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*), golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), baleia-de-Bryde (*Balaenoptera brydei*) e baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*). Esta última espécie foi a que utilizou a mais ampla faixa de profundidades, alcançando quase os 3.000 metros de profundidade. Espécies consideradas raras ou raríssimas em território nacional são, em verdade, espécies de águas muito profundas (**Figura V.1-3**). São igualmente cinco as espécies cuja mediana de seus avistamentos está muito próxima da batimetria dos 2.000 metros ou mesmo a ultrapassa: golfinho-de-Frase (*Lagenodelphis hosei*), baleia-bicuda-de-Gervais (*Mesoplodon europaeus*), baleia-bicuda-de-Cuvier (*Ziphius cavirostris*), cachalote-anão (*Kogia sima*) e golfinho-de-Clymene (*Stenella clymene*).

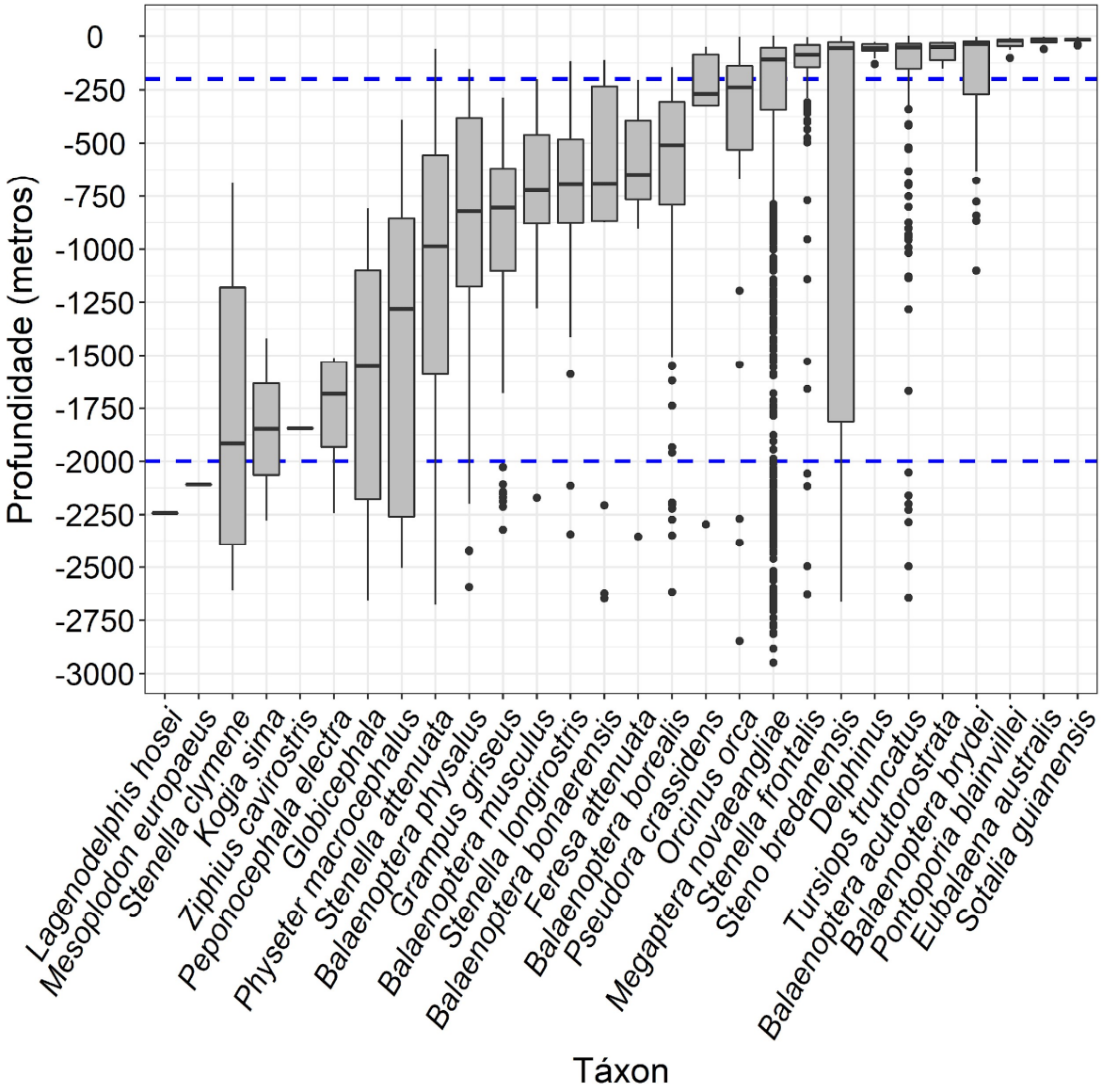


Figura V.1-3: *Profundidade (em metros) da localidade de detecção das espécies de cetáceos da Bacia de Santos pelo PMC-BS. Linhas tracejadas azuis indicam as profundidades de 200 e 2.000 m. Caixas representam o primeiro e terceiro quartis; linhas horizontais dentro das caixas representam as medianas; linhas verticais representam os valores até 1,5 x a distância entre primeiro e terceiro quartis; e pontos indicam valores extremos.*

As faixas de temperatura superficial da água mais utilizadas também variaram entre as espécies (**Figura V.1-4**). Considerando que as variações máxima e mínima de temperatura superficial das águas observadas durante as campanhas do PMC-

BS ficaram entre 29°C a 17°C, verifica-se que 60,7% das localidades que as espécies foram detectadas têm medianas de temperatura acima da média de 23°C. As baleias migratórias foram as que usaram as temperaturas superficiais mais baixas (menores medianas de temperatura), ocorrendo principalmente nos períodos de inverno e primavera. Cerca de 46% das espécies (n = 13) usaram águas acima dos 25 graus centígrados e correspondem a espécies de águas profundas. Por outro lado, poucas espécies usaram exclusivamente águas superficiais mais quentes. Uma parte das espécies (21,4%) usou um gradiente grande de temperaturas na superfície, entre 21 e 27°C.

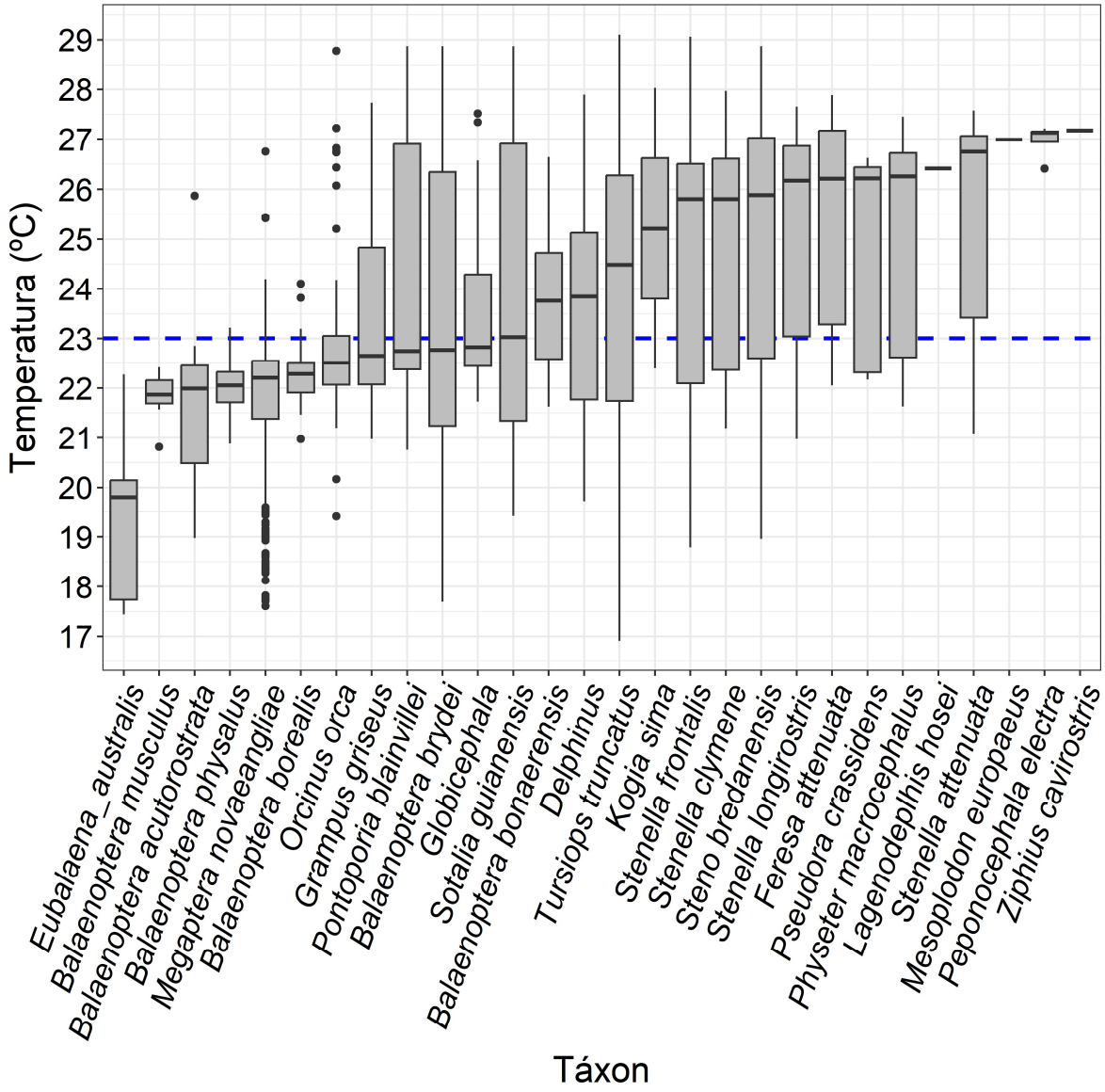


Figura V.1-4: *Temperatura (°C) da localidade de detecção das espécies de cetáceos identificadas na Bacia de Santos pelo PMC-BS. Linha tracejada azul indica a temperatura média observadas de 23°C. Caixas representam o primeiro e terceiro quartis; linha horizontal representa a mediana; linhas verticais representam os valores até 1,5 x a distância entre primeiro e terceiro quartis; e pontos indicam valores extremos.*

Tabela V.1-2: *Características do habitat (profundidade e temperatura), tamanho de grupo e presença de filhotes das espécies de cetáceos avistadas pelo PMC-BS na Bacia de Santos entre 2015 e 2023. Classificação da espécie quanto à batimetria de seu habitat: C = costeira (até 30 m); P = plataforma continental (30 a 200 m); T = talude (200 a 2.000 m); O = oceânica (> 2.000 m). * Espécies migratórias.*

Nome Científico	Nome Comum	Habitat	Profundidade (m) Média ± DP (min-máx)	Temperatura (°C) Média ± DP (min-máx)	Tamanho Grupo Média ± DP (min-máx)	Grupos com filhote n (%)
MYSTICETI						
Família Balaenidae						
*Eubalaena australis**	Baleia-franca-austral	C, P	24,4 ± 22,9 (2 – 61)	19,5 ± 2,0 (17,4 – 22,3)	1,6 ± 0,9 (1 – 3)	-
Família Balaenopteridae						
*Megaptera novaeangliae**	Baleia-jubarte	C, P, T, O	419,4 ± 692,6 (2 – 2.949)	21,9 ± 1,1 (17,6 – 26,8)	2,0 ± 1,9 (1 – 50)	41 (3,6)
*Balaenoptera musculus**	Baleia-azul	T, O	819,6 ± 559,9 (202 – 2.171)	21,9 ± 0,5 (20,8 – 22,4)	1,0 ± 0,0 (1 – 1)	-
*B. physalus**	Baleia-fin	T, O	906,3 ± 632,4 (153 – 2.594)	22,1 ± 0,6 (20,9 – 23,2)	2,7 ± 2,7 (1 – 15)	2 (3,9)

Nome Científico	Nome Comum	Habitat	Profundidade (m) Média ± DP (min-máx)	Temperatura (°C) Média ± DP (min-máx)	Tamanho Grupo Média ± DP (min-máx)	Grupos com filhote n (%)
*B. borealis**	Baleia-sei	T, O	711,9 ± 611,6 (145 – 2.618)	22,3 ± 0,5 (21,0 – 24,1)	3,7 ± 4,6 (1 – 32)	2 (2,2)
B. brydei	Baleia-de-Bryde	C, P, T	159,2 ± 216,7 (2 – 1.100)	23,4 ± 3,2 (17,7 – 28,9)	1,5 ± 0,7 (1 – 4)	10 (9,3)
*B. bonaerensis**	Baleia-minke-antártica	O	912,9 ± 899,0 111 – 2.646	23,8 ± 1,4 (21,6 – 26,6)	2,0 ± 1,0 (1 – 4)	1 (7,1)
B. acutorostrata	Baleia-minke-anã	P	73,6 ± 53,6 (25 – 152)	21,8 ± 2,2 (19,0 – 25,9)	1,3 ± 0,8 (1 – 3)	-
ODONTOCETI						
Família Physeteridae						
Physeter macrocephalus	Cachalote	T, O	1.466,1 ± 695,7 (391 – 2.506)	24,8 ± 2,1 (21,6 – 27,4)	4,5 ± 9,2 (1 – 50)	1 (3,7)
Família Kogiidae						
Kogia sima	Cachalote-anão	O	1.848,5 ± 608,8 (1.418 – 2.279)	25,2 ± 4,0 (22,4 – 28,0)	3,5 ± 2,1 (2 – 5)	1 (50,0)

Nome Científico	Nome Comum	Habitat	Profundidade (m) Média ± DP (min-máx)	Temperatura (°C) Média ± DP (min-máx)	Tamanho Grupo Média ± DP (min-máx)	Grupos com filhote n (%)
Família Ziphiidae						
Ziphius cavirostris	Baleia-bicuda-de-Cuvier	O	1.845 (-)	27,2 (-)	4 (-)	-
Mesoplodon europaeus	Baleia-bicuda-de-Gervais	O	2.109,0 (-)	27,0 (-)	1 (-)	-
Família Pontoporiidae						
Pontoporia blainvillei	Toninha	C, P	31,3 ± 22,6 (8 – 101)	24,3 ± 2,5 (20,8 – 28,9)	2,9 ± 1,8 (1 – 8)	-
Família Delphinidae						
Steno bredanensis	Golfinho-de-dentes-rugosos	C, P, T, O	895,3 ± 983,9 (11 – 2.664)	24,9 ± 2,6 (19,0 – 28,9)	8,5 ± 7,2 (1 – 30)	8 (21,6)
Sotalia guianensis	Boto-cinza	C	17,6 ± 8,9 (2 – 44)	24,1 ± 3,1 (19,4 – 28,9)	54,5 ± 122,2 (2 – 800)	19 (36,5)
Tursiops truncatus	Golfinho-nariz-de-garrafa	C, P, T, O	254,6 ± 495,3 (2 – 2.644)	23,9 ± 2,8 (16,9 – 29,1)	23,7 ± 32,0 (1 – 250)	81 (43,1)
Stenella attenuata	Golfinho-pintado-	T, O	1.175,3 ± 703,1	25,5 ± 2,0	41,6 ± 52,8	20 (45,5)

Nome Científico	Nome Comum	Habitat	Profundidade (m) Média ± DP (min-máx)	Temperatura (°C) Média ± DP (min-máx)	Tamanho Grupo Média ± DP (min-máx)	Grupos com filhote n (%)
	pantropical		(141 – 2.677)	(21,1 – 27,6)	(3 – 300)	
S. frontalis	Golfinho-pintado-do-Atlântico	C, P, T, O	153,9 ± 308,2 (5 – 2.628)	24,6 ± 2,5 (18,8 – 29,1)	38,0 ± 49,3 (1 – 400)	130 (43,9)
S. longirostris	Golfinho-rotador	T, O	723,2 ± 416,6 (116 – 2.344)	25,1 ± 2,1 (21,0 – 27,6)	109,8 ± 152,4 (3 – 800)	39 (48,8)
S. clymene	Golfinho-de-Clymene	O	1.760,8 ± 659,5 (689 – 2.610)	24,6 ± 2,3 (21,2 – 28,0)	83,9 ± 174,3 (5 – 700)	8 (42,1)
Delphinus delphis	Golfinho-comum	C, P	58,9 ± 29,1 (28 – 130)	23,6 ± 2,3 (19,7 – 27,9)	50,1 ± 60,5 (5 – 200)	14 (60,9)
Lagenodelphis hosei	Golfinho-de-Fraser	O	2.243 (-)	26,4 (-)	30 (-)	1 (100,0)
Grampus griseus	Golfinho-de-Risso	T	983,7 ± 546,9 (287 – 2.321)	23,6 ± 1,9 (21,0 – 27,7)	14,5 ± 16,6 (1 – 100)	16 (23,5)
Peponocephala electra	Golfinho-cabeça-de-melão	T, O	1.780,5 ± 340,2 (2.512 – 2.243)	27,0 ± 0,4 (26,4 – 27,2)	230,0 ± 87,2 (120 – 300)	4 (100,0)
Feresa attenuata	Orca-pigmeia	T, O	704,5 ± 519,9	25,4 ± 2,2	15,6 ± 14,7	4 (28,6)

Nome Científico	Nome Comum	Habitat	Profundidade (m) Média ± DP (min-máx)	Temperatura (°C) Média ± DP (min-máx)	Tamanho Grupo Média ± DP (min-máx)	Grupos com filhote n (%)
			(204 – 2.354)	(22,1 – 27,9)	(3 – 50)	
Pseudorca crassidens	Falsa-orca	P, T, O	605,2 ± 952,4 (50 – 2.296)	24,8 ± 2,3 (22,2 – 26,6)	34,8 ± 41,0 (3 – 100)	3 (60,0)
Orcinus orca	Orca	C, P, T, O	491,2 ± 686,6 (2 – 2.847)	23,1 ± 2,1 (19,4 – 28,8)	4,1 ± 2,5 (1 – 10)	10 (27,0)
Globicephala macrorhynchus	Baleia-piloto-de-peitorais-curtas	O	1.642,1 ± 591,8 (808 – 2.658)	23,6 ± 1,6 (21,7 – 27,5)	26,6 ± 40,5 (2 – 220)	17 (47,2)

V.1.3 Discussão – comunidade de cetáceos e uso de habitat

Dentre os métodos de coleta de dados em campo aplicados no PMC-BS, as observações visuais em campanhas embarcadas se mostraram fundamentais para a descrição da comunidade de cetáceos da Bacia de Santos. Durante as Campanhas de Avistagem e MAP, a navegação foi feita ao longo das linhas de transecção em modo de "passagem" (sem desviar das linhas para aproximar dos grupos de cetáceos avistados), ao passo que, durante as Campanhas de Telemetria, foi dado foco às regiões conhecidas por normalmente apresentarem alta densidade de cetáceos e percorrendo as linhas de transecção em modo de "aproximação" (abandonando o traçado das linhas de transecção e aproximando dos grupos para procedimentos diversos – biópsia, fotogrametria, implantação de tags e telemetria). As campanhas em modo de passagem (Campanhas de Avistagem e MAP) apresentaram menor taxa de identificação, mas, por outro lado, cobriram sistematicamente e homogeneamente a área de estudo e assim apresentaram maior número total de espécies identificadas. As Campanhas de Telemetria tiveram mais sucesso na identificação e na coleta de amostras de biópsia, mas menos riqueza total de espécies observadas. Assim, os dois métodos de amostragem se complementam de forma importante para caracterizar a comunidade de cetáceos.

Outra técnica complementar aplicada nas campanhas embarcadas do PMC-BS foi a coleta de biópsias para análises genéticas que permitiram maior confiabilidade na determinação dos táxons de difícil identificação visual (p.ex. *Delphinus*, *Globicephala*). Com base na amostragem genética, foi possível afirmar, categoricamente, que as espécies que ocorrem na Bacia de Santos são o golfinho-comum-de-bico-curto (*Delphinus delphis*) e a baleia-piloto-de-peitorais-curtas (*Globicephala macrorhynchus*).

A combinação destes métodos amostrais embarcados associados a coletas genéticas identificou 28 espécies de cetáceos na Bacia de Santos ao longo dos sete anos de projeto, o que confirma que a região é relevante para os cetáceos e com grande representatividade da fauna de mamíferos marinhos do Brasil (LODI; BOROBIA, 2013).

Em grande parte, essa biodiversidade reflete uma zona de transição oceanográfica, onde há a influência principal da Corrente do Brasil, mas também uma influência da Corrente das Malvinas (ODEBRECHT; CASTELLO, 2001). Outros processos oceanográficos também contribuem para a produtividade biológica marinha da região, como as ressurgências (*upwellings*) da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) no Cabo Frio e na quebra da plataforma ao longo de todo o talude da Bacia de Santos, refletindo em uma maior riqueza da comunidade de cetáceos destas regiões (MARTINS et al., 2023).

Espécies migratórias como a baleia franca (*Eubalaena australis*) alcançam, justamente, essa zona de mistura (Convergência Subtropical) para acasalar, dar à luz e amamentar os seus filhotes. Já as baleias jubarte (*Megaptera novaeangliae*), que usam a Bacia de Santos como área de passagem até alcançar a Bacia de Campos estão se tornando cada vez mais comuns na região e merecem muita atenção no que tange a ocorrência de juvenis e os conflitos com as rotas de navegação (BORTOLOTTO et al., 2016). A despeito de ser uma das espécies mais conhecidas do mundo ela surpreende na Bacia de Santos por utilizar a mais ampla gama de profundidades durante seus deslocamentos norte-sul. Quase nada se sabe sobre as rotas migratórias das baleias-azuis (*Balaenoptera musculus*), baleias-fin (*B. physalus*), baleias-sei (*B. borealis*) e baleias-minkes-antárticas (*B. bonaerensis*).

Ainda mais chamativas e dignas de nota são as espécies raras de águas profundas como as baleias bicudas *Mesoplodon europaeus e Ziphius cavirostris,* o cachalote anão (*Kogia sima*) e o golfinho de Fraser (*Lagenodelphis hosei).*

Outra questão importante registrada ao longo desses anos do PMC-BS foi a presença, pouco conhecida, do golfinho-rotador (*Stenella longirostris*) principalmente na zona do talude da região, embora ocupe uma faixa maior inclusive em águas da plataforma continental em seu trecho mais profundo.

Nas campanhas de coleta de dados compreendidas no período deste Relatório, apesar da tendência a estabilização da curva de riqueza acumulada de espécies (**Figura V.1-1**), uma nova espécie foi identificada na área de estudo, elevando a riqueza de 27 para 28 espécies. Houve a detecção de uma baleia-bicuda durante a 16ª Campanha de Avistagem Embarcada, que posteriormente foi identificada pelas imagens do corpo e dente de um indivíduo macho como baleia-bicuda-de-Gervais (*Mesoplodon europaeus*). Até o momento, essa espécie só havia sido registrada no Brasil em encalhes (SANTOS et al., 2003; MARTINS et al., 2004). Portanto, ao que se sabe, este é o primeiro registro visual da espécie documentado em fotografias para águas brasileiras.

Todas as espécies de cetáceos com algum grau de ameaça de extinção da costa do Brasil foram observadas durante as amostragens do PMC-BS. O boto-cinza e a toninha são duas pequenas espécies que exploram ambientes costeiros e estuarinos, que podem formar populações residentes e sofrem com a captura incidental em redes de pesca. As três maiores baleias de barbatanas bucais caçadas e que tiveram populações severamente reduzidas no Hemisfério Sul são animais migratórios sazonais com grau de ameaça, mas com populações em recuperação. A também migratória baleia-franca-austral foi classificada nacionalmente como ameaçada, mas em anos recentes teve o status modificado em nível global para “baixo risco”, o que reflete a sua recuperação. A baleia-jubarte, teve seus status nacionalmente e globalmente modificados para “baixo risco”. O cachalote é o maior odontoceto com hábitos mergulhadores que ainda é considerada vulnerável global e nacionalmente por conta do impacto da caça comercial nas suas populações globalmente.

Foi observada uma variedade de padrões de uso de habitat pelos cetáceos na Bacia de Santos em relação à batimetria, com espécies mais generalistas e outras mais especialistas quanto ao uso das faixas batimétricas. Esses padrões de uso de habitats serão explorados de forma mais aprofundada no próximo item, investigando as similaridades e as diferenças quanto ao uso de habitat entre as espécies de cetáceos da Bacia de Santos.

V.2 Distribuição, Uso de Habitat e Movimentos

V.2.1 Habitats dos cetáceos na Bacia de Santos

Buscando avaliar os habitats dos cetáceos da Bacia de Santos se utilizou modelos de distribuição de espécies, que são ferramentas importantes para caracterizar onde uma espécie costuma ocorrer e quais variáveis estão associadas à sua presença. Neste item, dando continuidade às análises realizadas em Relatórios Anuais anteriores do PMC-BS, buscamos identificar conjuntos de espécies, gêneros ou famílias de cetáceos cujos padrões de distribuição e o uso dos habitats na Bacia de Santos são similares. Posteriormente, com base na distribuição combinada dos grupos identificados, buscou-se descrever a distribuição destes habitats na Bacia de Santos.

V.2.1.1 Material e Métodos – Modelagem de Habitat Potencial e Análise de Agrupamento

A análise foi realizada em três etapas: (1) modelagem de distribuição espacial potencial para 21 grupos taxonômicos de cetáceos (16 espécies, 3 gêneros, 1 família e 1 grupo de delfinídeos contendo os dois pequenos “blackfish” – *Feresa attenuata* e *Peponocephala electra*) com dados coletados até fevereiro de 2023 pelo PMC-BS; (2) análises de agrupamento com base na similaridade de distribuição espacial potencial; e (3) delimitação espacial dos habitats com base na distribuição combinada dos grupos afins na análise de agrupamento.

A primeira etapa consistiu na modelagem de distribuição espacial potencial para cada táxon de cetáceo baseadas em um conjunto de variáveis ambientais que refletem a multidimensionalidade dos habitats de cetáceos (ver CORSI et al., 2000). O algoritmo de máxima entropia (MAXENT) é um método de

aprendizado de máquinas e serviu de base para a construção dos modelos de distribuição espacial potencial das espécies ou demais grupos taxonômicos, que considera o conjunto de características ambientais de células espaciais em que há a presença da espécie ou do grupo sob análise, para prever a área de distribuição potencial em toda a região de estudo (PHILLIPS et al., 2006). Este método é bastante robusto em prever os habitats potenciais das espécies e, por conta de sua eficiência, é um dos métodos mais utilizados para este fim (AUSTIN, 2007).

Então, como *input* de entrada para o modelo, é fornecido um conjunto de posições geográficas com ocorrência confirmada da espécie (modelo de somente presença – *presence only*) e um conjunto de camadas ambientais que são relevantes em prever a distribuição daquela espécie (ver descrição abaixo).

O modelo de distribuição espacial potencial fornece um mapa em formato *raster* da área de estudo sobreposto por uma malha de células (espaciais) regulares (de mesmas dimensões), cada qual com valores de adequabilidade de habitat (AH) que vão de zero (habitat totalmente inadequado) até um (habitat totalmente adequado). Grosso modo, o modelo fornece o mapa da probabilidade de ocorrência da espécie na área de estudo. A modelagem baseou-se no programa MAXENT, versão 3.4.1 (PHILLIPS et al., 2020) que usa como base para as predições um modelo log-linear, mas que pode facilmente incluir termos não lineares (ELITH et al., 2006) para descrever a relação da variável resposta (ocorrência da espécie) com variáveis ambientais preditivas. Um importante diferencial da abordagem de máxima entropia é a técnica de regularização dos modelos, que visam evitar o super ajuste dos modelos aos dados e melhorar as previsões e generalizações do mesmo (FLETCHER; FORTIN, 2018).

Considerou-se como habitat adequado para cada táxon valores superiores a um dado limite de AH, definido pelo método que minimiza a diferença entre as taxas de acerto das áreas classificadas como habitat adequado (sensibilidade)

e as taxas de acerto das áreas classificadas como habitat inadequado (especificidade) pelo modelo. Este método para calcular o limite de AH é chamado de *ETSS (equal training sensitivity and specificity*).

O ajuste dos modelos de distribuição espacial respaldou-se na curva ROC – *receiving operating characteristic* (GUISAN; ZIMMERMANN, 2000), que evidencia a capacidade do modelo em prever a presença ou ausência da espécie, por meio da comparação entre os dados reais e as predições do mesmo. O método fornece o comportamento da sensibilidade do modelo em função da taxa complementar da especificidade (portanto, uma taxa de erro das áreas classificadas como habitat inadequado). Além da análise visual do gráfico ROC, o critério quantitativo baseou-se no valor de AUC (*Area Under the ROC Curve*), derivado da curva ROC, que varia de 0 a 1. Quanto maior o valor de AUC, melhores são as predições do modelo, sendo que o valor 1 indica o acerto em todas as classificações.

Os táxons foram selecionados para as modelagens de acordo com o critério arbitrário de amostra mínima de 17 detecções visuais e/ou acústicas pelas diferentes plataformas do PMC-BS. Este valor arbitrário foi definido com base na avaliação de modelagens de habitat preliminares de espécies com menor frequência de avistagens (especialmente as que tinham entre 10 e 20 detecções). O número de 17 detecções foi o mínimo de detecções necessário para os resultados dos modelos não apresentarem resultados espúrios. Apesar de algumas espécies importantes, como a baleia-azul, terem sido deixadas de fora da análise pelo baixo n amostral, outras espécies menos frequentes foram agrupadas. Sendo assim, os 21 grupos de cetáceos considerados nas modelagens estão descritos na **Tabela IV.2-1**. As plotagens de todas as espécies e grupos de cetáceos modelados para a Bacia de Santos estão disponíveis no **Volume II - Anexo V-3**.

Os dados ambientais históricos foram obtidos no banco de dados MARSPEC, que inclui camadas geofísicas e bioclimáticas em alta resolução de 1 km (SBROCCO; BARBER, 2013). De um total disponível de 7 variáveis geofísicas e 10 variáveis bioclimáticas, após uma análise multivariada (ver procedimentos em LOBO et al., 2021), foram selecionadas 13 variáveis ambientais para a modelagem de distribuição que representam a maior variabilidade dos dados e reduzindo a dimensionalidade dos modelos (**Tabela IV.2-2**), uma vez que colinearidade ou redundância entre variáveis não é um problema para este algoritmo e não afeta a sua performance (FENG et al., 2019).

Tabela V.2-1: *Espécies ou grupos de cetáceos considerados nas modelagens de distribuição espacial potencial na Bacia de Santos. Notação (ver texto para detalhes): N = número de detecções; AUC = area under the ROC curve; ETSS = Equal Training Sensitivity and Specificity.*

Espécie ou grupo de cetáceos	Abreviação	N	AUC	ETSS
Baleia-fin	Fin	55	0,997	0,225
Baleia-sei	Sei	89	0,997	0,300
Baleia-de-Bryde	Bryde	114	0,995	0,216
Baleia-minke-antártica	Minke	17	0,999	0,399
Baleia-jubarte	Jubarte	697	0,981	0,433
Cachalote	Cachalote	101	0,996	0,203
Kogia spp.	Kogia	39	0,998	0,344
Baleias-bicudas (Família Ziiphidae)	Ziphiidae	19	0,999	0,470
Baleias-piloto (Gênero Globicephala)	Globicephala	39	0,998	0,346
Golfinho-de-Risso	Grampus	79	0,997	0,333
Orca	Orca	44	0,998	0,224
Golfinho-pintado-pantropical	S_atten	46	0,998	0,326
Golfinho-pintado-do-Atlântico	S_front	300	0,988	0,358
Golfinho-rotador	S_longiros	80	0,997	0,204
Golfinho-de-Clymene	S_clymene	19	0,999	0,521
Boto-cinza	Sotalia	59	0,998	0,366
Golfinho-de-dentes-rugosos	Steno	39	0,998	0,127

Espécie ou grupo de cetáceos	Abreviação	N	AUC	ETSS
Golfinho-nariz-de-garrafa	Tursiops	194	0,991	0,200
Golfinho-comum (Gênero Delphinus)	Delphinus	23	0,999	0,385
Pequenos "*black-fish*" (gêneros Feresa + Peponocephala)	Small_blac	18	0,999	0,485
Toninha	Pontoporia	49	0,998	0,340

Tabela V.2-2: *Variáveis ambientais utilizadas para a modelagem de distribuição espacial potencial de cetáceos da Bacia de Santos.*

Sigla	Descrição
bati	Profundidade (m)
bio5	Distância da costa (km)
bio6	Declividade (graus)
bio8	Média anual da salinidade na superfície (psu)
bio9	Salinidade na superfície no mês mais doce (psu)
bio10	Salinidade na superfície no mês mais salgado (psu)
bio11	Amplitude anual da salinidade na superfície (psu)
bio12	Variância anual da salinidade na superfície (psu)
bio13	Média anual da temperatura na superfície (°C)
bio14	Temperatura na superfície do mês mais frio (°C)
bio15	Temperatura na superfície do mês mais quente (°C)
bio16	Amplitude anual da temperatura na superfície (°C)
bio17	Variância anual da temperatura na superfície (°C)

A segunda etapa compreendeu análises de agrupamento com base na similaridade de distribuição espacial potencial dos táxons selecionados. Para a construção da matriz de dissimilaridade original dos valores de adequabilidade de habitat (AH) entre táxons (espécies gêneros ou famílias), foi criada uma malha de 974 pontos distribuídos, sistematicamente, na Bacia de Santos, células de aproximadamente 16,5 km de base (largura) e 18,5 km de altura, resultado em um espaçamento irregular entre os pontos (menor na direção Leste-Oeste que na direção Norte-Sul). Cada ponto foi caracterizado com os valores de adequabilidade de habitat estimados pelos modelos de distribuição espacial

potencial dos grupos taxonômicos (espécies, gêneros ou famílias), resultando na matriz de dados com as espécies e táxons nas colunas e pontos nas linhas. Os dados foram estandardizados (escore z) antes da construção da matriz de dissimilaridade.

Dois métodos de agrupamento foram utilizados para identificar os grupos de espécies com padrão de uso de habitat similar: (1) agrupamento hierárquico; e (2) agrupamento *k-means*. Para o agrupamento hierárquico, se construiu matrizes de dissimilaridade dos valores de adequabilidade de habitat entre as espécies ou outro grupo taxonômico usando quatro índices distintos: *Gower*, *Bray-Curtis*, *Jaccard* e *Kulczynski*. Esses quatro índices foram escolhidos por serem apropriados para detectar gradientes ecológicos (FAITH et al., 1987). Dois algoritmos de agrupamento foram utilizados para construção dos dendrogramas baseados em diferentes definições da dissimilaridade entre os grupos (BORCARD et al., 2011; JAMES et al., 2013): *complete* e *average (UPGMA – Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)*. Esses dois algoritmos são recomendados para produzir dendrogramas mais balanceados quando se tem medidas de dissimilaridade pequenas, sendo que o método *complete* usa a dissimilaridade máxima entre os agrupamentos (*clusters*) e o método *average* considera a dissimilaridade média entre os *clusters* (JAMES et al., 2013). O dendrograma escolhido para representar os agrupamentos foi aquele com maior índice de correlação cofenética (maior correlação entre a matriz de dissimilaridade original e uma matriz de dissimilaridade produzida a partir do dendrograma – chamada de matriz cofenética). A matriz cofenética é calculada pela distância cofenética entre dois objetos no dendrograma, para todos os pares de objetos possíveis (BORCARD et al., 2011).

Outro método utilizado para agrupamento foi o de partição *k-means*, baseado na identificação de estruturas locais (centroides) dos dados (BORCARD et al., 2011). Por ser um método não-hierárquico, a visualização dos

grupos se faz por um gráfico de duas dimensões e não por dendrogramas conforme os métodos hierárquicos. Para se obter alguma indicação do número ideal de agrupamentos para os dados, utilizou-se um conjunto de 30 índices disponíveis no pacote 'NbClust' do software R (CHARRAD et al., 2014). Os índices não foram unânimes, mas sugeriram entre dois e cinco agrupamentos como boas representações dos dados. Assim, plotou-se os diagramas para valores de k entre 2 e 5 para interpretação biológica destes diferentes padrões de agrupamento.

As análises de agrupamento e plotagens de gráficos foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2023) usando os pacotes 'vegan' (OKSANEN et al., 2020) e 'factoextra' (KASSAMBARA; MUNDT, 2020).

V.2.1.2 Resultados – modelagem de habitat e análise de agrupamento

A matriz de dissimilaridade ordenada de acordo com o dendrograma mais ajustado aos dados (**Figura V.2-1**) sugere a formação de agrupamentos de espécies com maior similaridade no uso dos habitats (quanto mais clara a cor da quadrícula, maior similaridade) ao longo do eixo diagonal de simetria da matriz. O dendrograma com maior índice de correlação cofenética (87,1%) foi o que utilizou o índice de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA.

Fica evidente no dendrograma e na matriz, o isolamento do golfinho-comum, *Delphinus delphis*, que está próximo, mas não agrupado com as duas espécies mais costeiras (agrupamento A - toninha e boto-cinza). Dois outros agrupamentos com grande similaridade podem ser identificados, aproximando duas espécies com amplo uso da plataforma continental (agrupamento B - golfinho-pintado-do-Atlântico e baleia-de-Bryde) com quatro espécies de grande plasticidade ambiental (agrupamento C - baleia-jubarte, golfinho-de-dentes-rugosos, golfinho-nariz-de-garrafa e orcas). Os agrupamentos restantes

compõem o maior número de espécies, todas com hábitos mais oceânicos e que usam o talude continental e platô oceânico. Baleias de bico (Ziphiidae), o golfinho-de-Clymene, cachalotes e cachalotes-pigmeus e baleias-piloto formam um agrupamento dentro desse *pool* de espécies (agrupamento D). O segundo agrupamento com hábitos oceânicos inclui os *small blackfish*, baleias-Sei, golfinhos-de-Risso, golfinhos-pintados-pantropicais, baleia-fin e baleia-minke-antártica (agrupamento E).

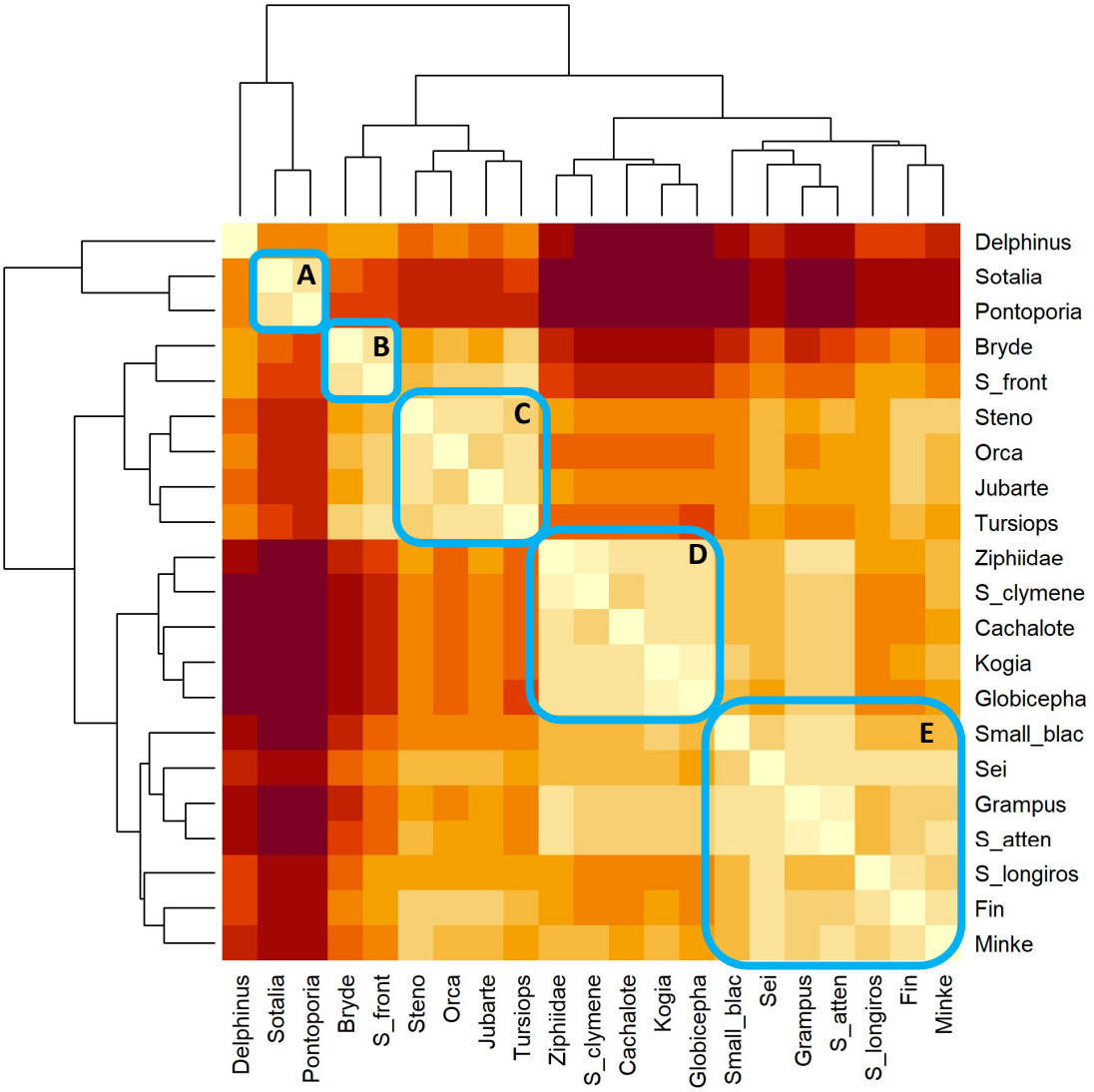


Figura V.2-1: *Matriz de dissimilaridade entre as espécies e outros grupos taxonômicos avaliados na Bacia de Santos usando o índice de Jaccard*

(quanto mais escura a cor da quadrícula, maior dissimilaridade). Dendrogramas construídos usando o método average. Agrupamentos: A – costeiros; B – plataforma continental; C – plasticidade ambiental; D – platô oceânico; e E – talude.

O número de agrupamentos do método não-hierárquico de *k-means* foi baseado em diversos índices que sugerem o número ideal de agrupamentos. A maior parte dos índices indicou dois, três e cinco agrupamentos como número ideal. Assim, foram plotados diagramas evidenciando os resultados de *k-means* para dois a cinco agrupamentos. Em todos os arranjos de agrupamentos fica evidente que o principal fator de estruturação dos grupos de táxons e, portanto, da comunidade de cetáceos em geral, relaciona-se com a batimetria.

A primeira divisão em dois grupos (k = 2) resulta em dois grandes grupos, um com espécies costeiras e da plataforma continental, e outro grupo associado ao talude e regiões oceânicas (**Figura V.2-2a**). Numa divisão em três grupos (k = 3), destaca-se um grupo de cetáceos estritamente costeiros (agrupamento 1 da figura, na cor rosa) de outro grupo típico de plataforma continental ou de animais com plasticidade de uso de habitats (agrupamento 3, em azul), e um terceiro grupo de animais do talude assim como oceânicos (agrupamento 2, em verde) (**Figura V.2-2b**). Na divisão em quatro grupos, os animais de hábitos oceânicos aparecem divididos em dois grupos distintos, um mais restrito ao talude (agrupamento 4, em roxo) e outro usando as regiões do talude e do platô oceânico (agrupamento 2, em verde) (**Figura V.2-3a**). Por fim, a divisão em cinco grupos evidenciou a separação do grupo de espécies com grande plasticidade no uso de habitat (agrupamento 3, em verde escuro) das espécies com maior uso da plataforma continental (agrupamento 2, em verde claro) (**Figura V.2-3b**). Vale mencionar que, embora não tenha sido apresentado o diagrama para k = 6, em uma análise com seis agrupamentos o golfinho-comum (*Delphinus delphis*) aparece em um agrupamento isolado.

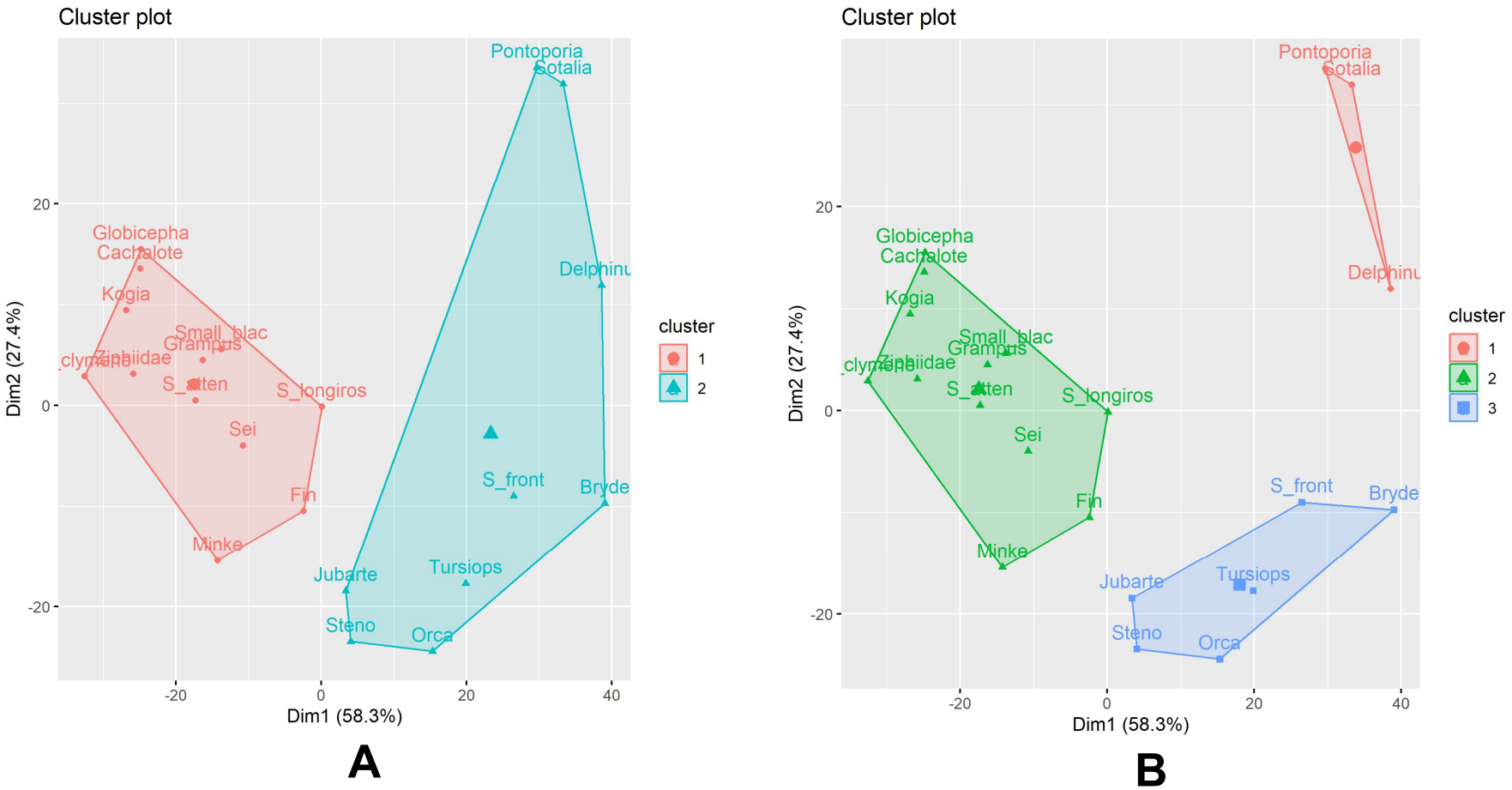


Figura V.2-2: *Diagramas mostrando agrupamentos de cetáceos com base no método de particionamento* k-means*: (A) k = 2 agrupamentos e (B) k = 3. Cores diferentes indicam diferentes agrupamentos. Centróides estão indicados pelos ícones.*

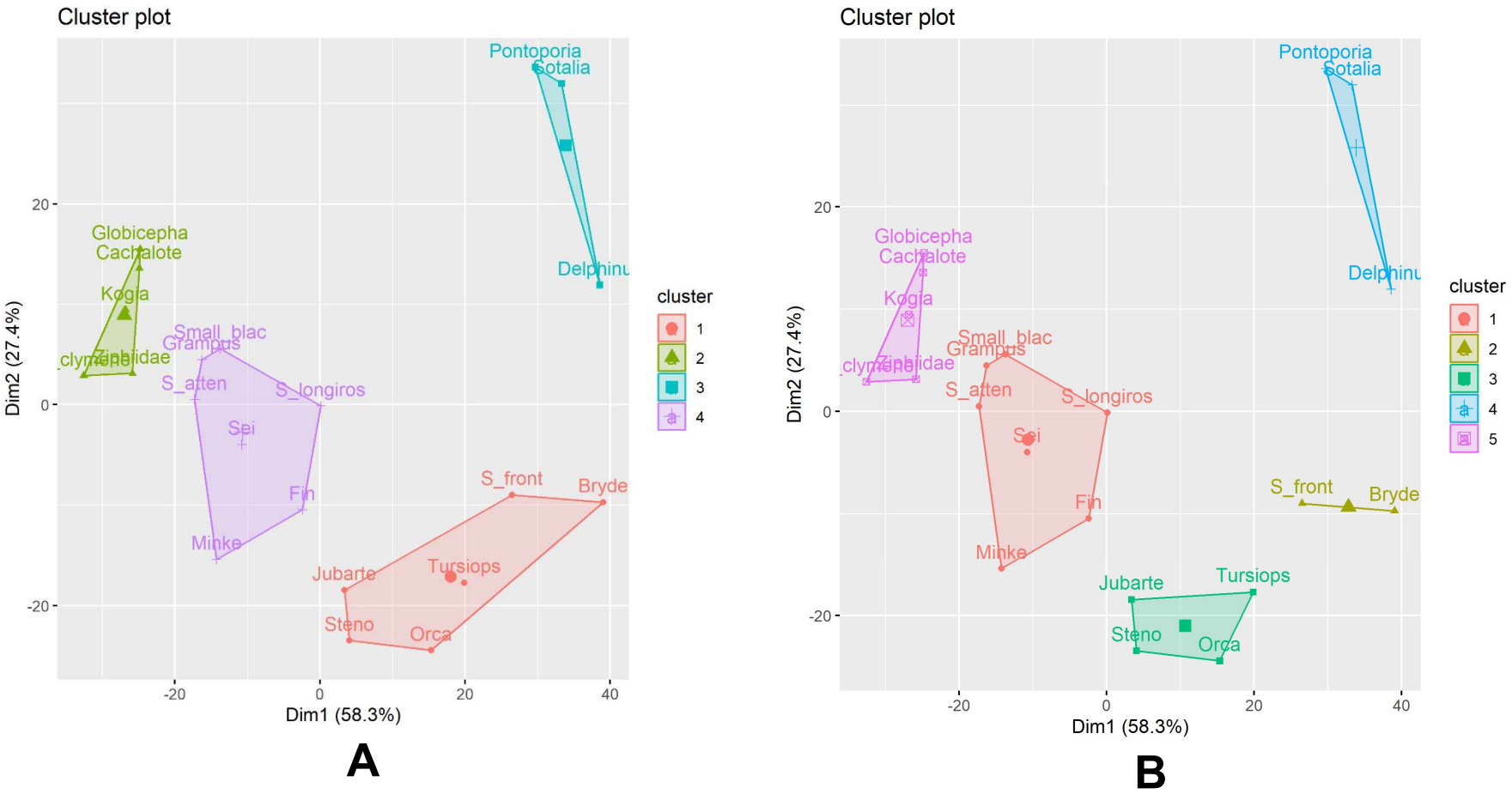


***Figura V.2-3**: Diagrama mostrando agrupamentos de cetáceos com base no método de particionamento* k-means*: (A) k = 4 agrupamentos e (B) k = 5. Cores diferentes indicam diferentes agrupamentos. Centróides estão indicados pelos ícones.*

A similaridade de habitat entre as espécies estudadas é evidente a partir dos métodos de agrupamento utilizados. Pelo menos cinco padrões gerais de uso do habitat emergem da análise, além de um padrão exclusivo para o golfinho-comum (*Delphinus delphis*), quais sejam:

1. *Espécies exclusivamente costeiras*: boto-cinza e toninha;
2. *Espécies primariamente da plataforma continental* (usam talude superior também): baleia-de-Bryde e golfinho-pintado-do-Atlântico;
3. *Espécies que usam principalmente o talude*: baleia-fin, baleia-sei, baleia-minke-antártica, golfinho-de-Risso, golfinho-rotador, golfinho-pintado-pantropical e pequenos *black-fish* (*Peponocephala electra* e *Feresa atenuata*);
4. *Espécies que usam principalmente as águas profundas do platô oceânico (mas também o talude)*: cachalotes, zifídeos, kogídeos, golfinhos-de-Clymene e baleias-piloto;
5. *Espécies com plasticidade ambiental, isto é, que usam praticamente todo o gradiente batimétrico, desde ambientes costeiros, plataforma continental, talude e regiões oceânicas*: baleias-jubarte, golfinho-nariz-de-garrafa, golfinhos-de-dentes-rugosos e orcas.

A combinação dos mapas de distribuição potencial resultantes dos modelos das espécies de cada agrupamento permite a espacialização destes habitats na Bacia de Santos (**Figura V.2-4**).

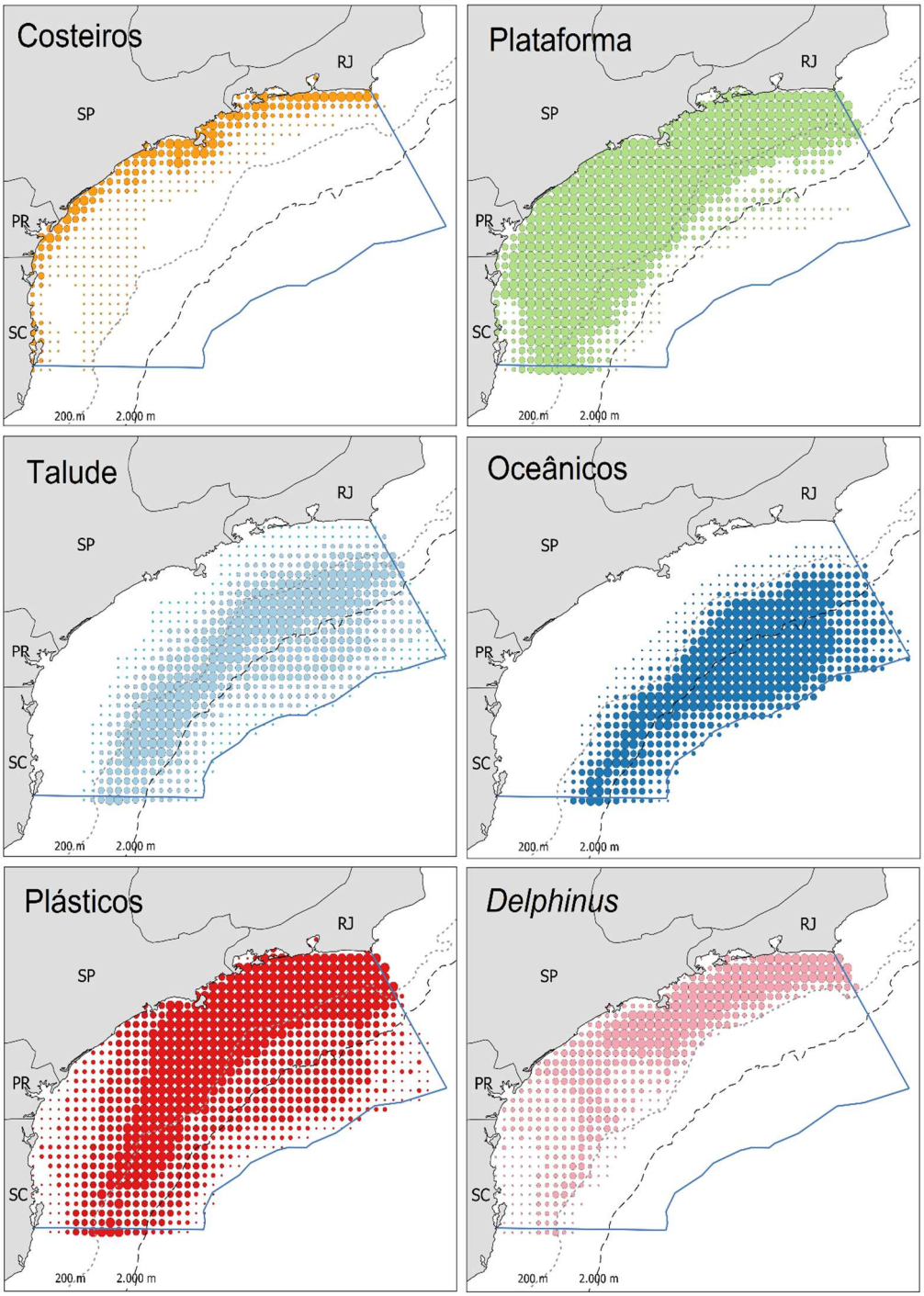


Figura V.2-4: *Mapas mostrando a distribuição espacial potencial de diferentes grupos de espécies de cetáceos com uso de habitat similar na Bacia de Santos. O tamanho dos pontos é proporcional ao índice de adequabilidade de habitat (AH) médio para as espécies reunidas em cada agrupamento. A linha azul indica os limites da Bacia de Santos. A linha pontilhada representa a isóbata de final da plataforma continental (200 m) e a linha tracejada representa a isóbata dos 2.000 m.*

V.2.1.3 Discussão – Habitats dos cetáceos

Uso de um cânion no talude da Bacia de Santos

Em relatórios passados (PETROBRAS, 2021; 2023a) e os dados apresentados no presente 8° Relatório Anual chamam atenção para um grande número de detecções de cetáceos em um pequeno trecho do talude, que coincide com a localização de um cânion submarino que corta o talude, o Cânion Cananéia. Uma região de grande importância para cetáceos, que cobre parte do cânion e talude adjacente foi identificada com base em dados coletados pelo PMC-BS (**Figura V.2-5**), dentre as características estão: região de grande riqueza de espécies de cetáceos; frequência grande de detecções de diferentes espécies (baleias e golfinhos); e residência e fidelidade ao uso desta área, conforme constatado por fotoidentificação e marcação de animais com transmissores satelitais. Dentre as espécies de ocorrência regular na região do cânion, destacamos o golfinho-de-Risso (*Grampus griseus*), as baleias-pilotos-de-peitorais-curtas (*Globicephala macrohynchus*), a baleia-de-Bryde (*Balaenoptera brydei*), a baleia-sei (*B. borealis*), baleia-fin (*B. physalus*), golfinhos do gênero *Stenella*, dentre outras diversas espécies. A associação de cetáceos com cânions já foi descrita na literatura para outras partes do mundo e podem ocasionar agregação de presas de cetáceos, facilitando a captura (HOOKER et al., 1999; MOORS-MURPHY, 2014).). É prevista uma análise específica do PMC-BS para caracterização da região do Cânion Cananéia em relação à fauna de cetáceos no próximo Relatório Anual.

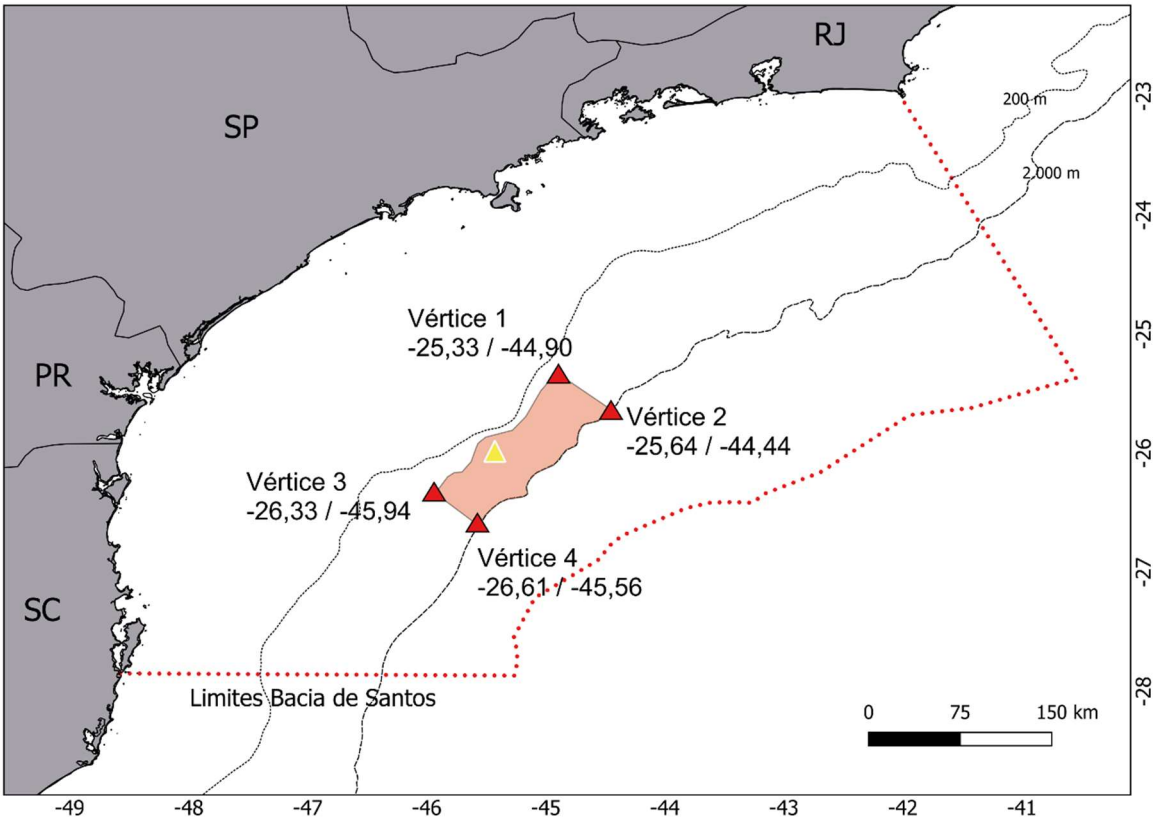


***Figura V.2-5**: Mapa indicando região de grande riqueza de espécies e concentração de cetáceos em um cânion submarino (Cânion Cananéia, indicado pelo triângulo amarelo) na Bacia de Santos.*

Agrupamentos de cetáceos por hábitats

As análises apresentadas aqui, através da sobreposição entre camadas de habitats potenciais, mostraram agrupamentos de espécies e demais grupos taxonômicos (gêneros e famílias) com padrões similares no uso do habitat. Tais análises nos fornecem agrupamentos possíveis representando a coerência ecológica, isto é, espécies que eventualmente utilizam o ambiente de maneira parecida. Seriam, por assim dizer, reflexos do nicho fundamental (conjunto de características físicas do habitat) e do nicho realizado (resultado de interações com outras espécies).

Os agrupamentos claramente refletem habitats relacionados ao gradiente costeiro-*offshore* (distância da costa e profundidade) e a fisiografia do fundo

(declividade, isóbatas, etc.), abrangendo desde regiões costeiras e bastante rasas, toda a plataforma continental, o talude continental e a região oceânica. Tais grupos de espécies estiveram associados a um único ambiente, ou a mais de um ambiente, e poucas espécies foram mais flexíveis (ou plásticas) na utilização do gradiente costeiro-*offshore*. Este padrão é coerente com a batimetria que é a variável mais representativa em descrever os habitats dos cetáceos (PETROBRAS, 2021).

Fica evidente também as diferenças biológicas entre as regiões norte e sul da Bacia de Santos, especialmente em sua plataforma continental e região costeira. Na região sul da Bacia de Santos a plataforma continental é menos íngreme e a região costeira recebe mais aportes de águas continentais, além de ser banhada sazonalmente pela Corrente das Malvinas, que corre do sul para o norte, trazendo águas ricas em nutrientes do rio da Prata e outros sistemas lagunares e estuarinos do Sul e Sudeste do Brasil (PIOLA et al., 2005). Nesta região existe menor adequabilidade para o agrupamento dos cetáceos plásticos, *Delphinus delphis* e mesmo os cetáceos do talude, que não se aproximam tanto da costa nesta região.

A região norte, por sua vez, possui uma plataforma mais estreita, profunda e recebe de forma recorrente aportes de águas mais profundas e rica em nutrientes da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) pela ressurgência do Cabo Frio (COELHO-SOUZA et al., 2012; BRANDINI et al., 2018). Ressurgências da ACAS também são recorrentes na borda da plataforma ao longo de toda a Bacia de Santos, potencializadas pela intensa atividade vortical nas regiões oceânicas e, de forma associada, pela fisiografia do talude que implica em uma aceleração da Corrente do Brasil (PALMA; MATANO, 2009). Nesta região influenciada pela ressurgência da ACAS percebe-se maior adequabilidade para as espécies plásticas, *Delphinus delphis* e espécies do talude, que nesta região podem se aproximar mais da costa. Recentemente foi descrita uma maior riqueza de

cetáceos justamente nestas regiões da plataforma continental no norte da Bacia de Santos e talude de toda a região (MARTINS et al., 2023).

O golfinho-comum, *Delphinus delphis,* tem uma distribuição espacial potencial única, agrupando com as espécies costeiras (toninhas e botos-cinza), mas sua distribuição espacial potencial se encontra na plataforma continental da região mais ao norte da Bacia de Santos. Trata-se de uma espécie versátil em termos biogeográficos, com ampla distribuição em águas tropicais e temperadas, podendo ocorrer próximo à costa ou a milhares de quilômetros em mar aberto (PERRIN, 2009; JEFFERSON et al., 2015). Seu agrupamento com as espécies de plataforma continental parece o mais plausível no Brasil e deveria ser considerado em termos de conservação.

Botos-cinza e toninhas são claramente costeiros, mas diferem no grau de distância da costa. Os primeiros são bastante estuarinos, dependentes de baías e manguezais, já as toninhas costumam utilizar até a isóbata dos 30 metros (SECCHI et al., 1997; DANILEWICZ et al., 2010) salvo em regiões muito particulares como a Baía da Babitonga (CREMER; SIMÕES-LOPES, 2008).

Estas espécies costeiras aparecem listadas como ameaçadas Lista da Fauna Brasileira Ameaçada (MMA, 2022), e merecem destaque. O boto-cinza (*Sotalia guianensis*), é classificado como “Vulnerável”; e a toninha (*Pontoporia blainvillei*), classificada como “Criticamente Ameaçada” de extinção. Ambas as espécies convivem com grandes pressões antropogênicas, mas as toninhas são particularmente vulneráveis ao emalhamento acidental em artefatos de pesca (ver PETROBRAS, 2023b), poluição química, poluição sonora, depleção de suas presas, tráfego marítimo e implantação de portos, lixo flutuante e outros vetores antropogênicos como a perda de habitat (SECCHI et al., 2022; LAILSON-BRITO et al., 2022; DOMIT et al., 2022). A Bacia de Santos abarca, principalmente, a FMA II (*Franciscanas Management Area II*), onde *Pontoporia blainvillei* está distribuída até a isóbata dos 30 metros, porém existem populações

potencialmente isoladas e que usam ambientes semifechados como em Cananeia (SP), Baía de Babitonga (SC) e Baía Norte (SC), que estão sob maior risco de ameaças antropogênicas.

O boto-cinza, ainda mais costeiro, também sofre com a perda de habitat e com a mortalidade acidental em redes de pesca. Na Baía de Guanabara, por exemplo, não restam mais que 30 animais, onde outrora existiam centenas (AZEVEDO et al., 2017). Marismas e manguezais estão desaparecendo devido à expansão imobiliária e à construção de novos portos, além de outras diversas pressões antropogênicas como a poluição química e sonora, que diminuem a qualidade dos habitats e ameaçam a sobrevivência dessa e de outras espécies estritamente costeiras.

As espécies de plataforma continental mostram bastante coerência com a literatura. A baleia-de-Bryde, originalmente considerada costeira no Brasil, devido a esforços não homogêneos, pode ser avistada principalmente próxima da costa e na região do talude. Embora habite tradicionalmente zonas tropicais e subtropicais e não realize deslocamentos norte/sul muito marcantes (JEFFERSON et al., 2015), pouco se sabe sobre seus deslocamentos ao longo da plataforma. Esse é um importante ponto a ser investigado no futuro, com a marcação satelital (tagueamento) regular de vários indivíduos.

Os *Tursiops* oceânicos (*Tursiops truncatus truncatus*) compartilham com a subespécie costeira (*T. t. gephyreus*) uma área muito restrita no limite sul da Bacia de Santos. Essa é uma sobreposição pontual em profundidade e distância da costa entre Guaratuba (25° 51’ 50” S) e Laguna (28° 29’ 39” S) (SIMÕES-LOPES et al., 2019). Isto leva a uma pequena sobreposição no uso dos recursos alimentares entre as subespécies (PEREIRA et al., 2020). No restante da costa essas subespécies estão espacialmente apartadas e possuem distribuição parapátrica em direção ao sul (SIMÕES-LOPES et al., 2019). *T. t. truncatus* é a espécie de cetáceo da Bacia de Santos com distribuição mais ampla, alcançando

a maior área de habitat potencial, isto é, a quase totalidade da área da Bacia de Santos. Todas as avistagens da espécie pelo PMC-BS em esforço foram da subespécie de águas abertas (*T. t. truncatus*). Aqui temos adotado a concepção do COMMITTEE ON TAXONOMY (2023) da *Society for Marine Mammals*, que considera o nível de subespécies para os taxa em questão (ver também COSTA et al., 2021).

Embora seja tipicamente uma espécie de plataforma, o golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*) também pode frequentar águas externas do talude e mesmo águas profundas (JEFFERSON et al., 2015). No entanto essa espécie não se agrupa nem com as espécies oceânicas, nem de talude e tampouco com aquelas aqui categorizadas como espécies com “plasticidade ambiental”. Isso demonstra a associação desta espécie tipicamente com a plataforma continental na Bacia de Santos (MORENO et al., 2005).

A espécies com plasticidade ambiental incluem as jubartes, os golfinhos-de-dentes rugosos e as orcas. As jubartes migram junto à costa na região de Abrolhos (BA) até a latitude do Rio de Janeiro (RJ) e depois afastam-se e seguem uma rota oceânica, que usa a Elevação do Rio Grande em águas profundas como marco até alcançar as zonas de alimentação na Geórgia dos Sul e Sandwich do Sul (ZERBINI et al., 2006). Mais recentemente, juvenis de jubarte têm aparecido junto à costa no litoral de Santa Catarina e isso tem se tornado cada vez mais comum. Aparentemente, esses animais têm se alimentado de pequenos camarões que habitam a zona costeira e se tornado vítimas de colisões com embarcações (BORTOLOTTO et al., 2016).

O golfinho-de-dentes-rugosos é a mais flexível das espécies no uso do ambiente em águas brasileiras, podendo ocorrer em baías costeiras, parcéis e recifes de coral, além de ambientes insulares ou mesmo fora da plataforma continental (ROSSI-SANTOS et al. 2006; LODI; HETZEL, 1998a). No entanto, essa é apenas uma realidade da costa do Brasil e do oeste da África, já que a

literatura internacional aponta para uma ocorrência em águas profundas (JEFFERSON et al., 2015).

As orcas também podem ser categorizadas como espécies de plasticidade ambiental em águas da Bacia de Santos. Pequenos grupos são avistados tanto longe da costa quanto fora da plataforma, além de ambientes muito costeiros (Rio de Janeiro – LODI; TARDIN, 2018, São Paulo – LODI; HETZEL, 1998b; SANTOS et al., 2010; Santa Catarina - CHEREM et al., 2004). Os registros de orcas junto à costa estão se tornando cada vez mais frequentes em águas brasileiras. Resultados preliminares de observações do PMC-BS (cujos detalhes serão apresentados no próximo Relatório Anual) e registros em um estudo recente (ATHAYDE et al., 2023) mostram que a dieta das orcas é bastante variada no Sudeste do Brasil, incluindo itens como mamíferos marinhos – tanto golfinhos quanto baleias –, raias e o peixe-lua (*Mola mola*). As orcas são o mamífero mais amplamente distribuído no mundo e ocorrem tanto em habitats neríticos quanto oceânicos, embora estudos reveladores sobre sua abundância ainda sejam raros (FORD, 2009). Atualmente suas tendências populacionais são desconhecidas (REEVES et al., 2017).

Espécies oceânicas que habitam áreas fora da plataforma são comumente teutófagas e isso está bem claro quando se menciona os cachalotes, cachalotes-pigmeus e cachalotes-anãos, além das baleias-piloto. Uma característica fundamental na biologia destas espécies é que estas realizam mergulhos a grandes profundidades para capturarem suas presas. As baleias-piloto são um pouco mais versáteis, eventualmente comendo peixes, mas possuem a mesma adaptação das demais espécies teutófagas, que é a redução dentária (JEFFERSON et al., 2015). As baleias-piloto-de-aletas-curtas (*Globicephala macrorhynchus*) e as de aletas-longas (*G. melas*) possuem certa sobreposição latitudinal na região subtropical e distinguir as duas espécies no mar é praticamente impossível (JEFFERSON et al., 2015). Assim, elas não aparecem

discriminadas como espécies aqui, apesar das análises genéticas realizadas até o momento apontarem para *G. macrorhynchus* como a única espécie que ocorre na Bacia de Santos (PETROBRAS, 2021). As baleias-bicudas também entrariam nessa categoria se seus registros fossem mais numerosos. Elas também são teutófagas e possuem redução dentária.

Espécies de talude continental também tendem a ser teutófagas, mas sem quaisquer reduções dentárias no caso dos golfinhos-pintados-pantropicais e rotadores. Estes também comem peixes epipelágicos e mesopelágicos, além de camarões. Já os golfinhos-de-Risso são nitidamente teutófagos e frequentemente trazem cicatrizes causadas por lulas. Eles possuem evidente redução dentária.

Nessa categoria também estão agrupadas balenopterídeos migratórios que usam águas tropicais para reprodução, como as baleias-fin, baleias-sei e minke-antártica, espécies cujos padrões de deslocamento são ainda pouco conhecidos e previsíveis. Elas são particularmente importantes nos futuros esforços de avistagem e tagueamentos. Baleias-fin e baleias sei foram confirmadas previamente, a primeira nas proximidades do Arquipélago de Trindade e Martin Vaz (20.51°S-29.29°W; WEDEKIN et al., 2014), e a segunda na latitude de Pernambuco em profundidades entre 3.200 e 4.100 m (ANDRIOLO et al., 2010), mas apesar de esforços recentes, ambas continuam pouco conhecidas ao longo de todo o litoral brasileiro.

V.2.2 Movimentos

Movimentos Registrados por Meio de Fotoidentificação

Ao longo dos sete anos do PMC-BS ocorreram reavistagens de 15 espécies de cetáceos na Bacia de Santos: 2 reavistagens de *Balaenoptera borealis*, 1 reavistagem de *Balaenoptera physalus*, 6 de *Balaenoptera brydei*, 2 de

Delphinus sp., 6 de *Feresa attenuata*, 8 de *Globicephala macrorhyncus*, 8 de *Grampus griseus*, 16 de *Megaptera novaeangliae*, 5 de *Sotalia guianensis,* 36 de *Steno bredanensis,* 98 de *Tursiops truncatus,* 48 de *Stenella frontalis*, 1 de *Stenella longirostris,* 7 de *Orcinus orca* e 2 grupos com reavistagem de *Peponocephala electra,* um com reavistagem de 26 indivíduos e outro com reavistagem de 17 indivíduos (**Figura V.2-5**). Assim, o total somou 246 reavistagens de indivíduos.

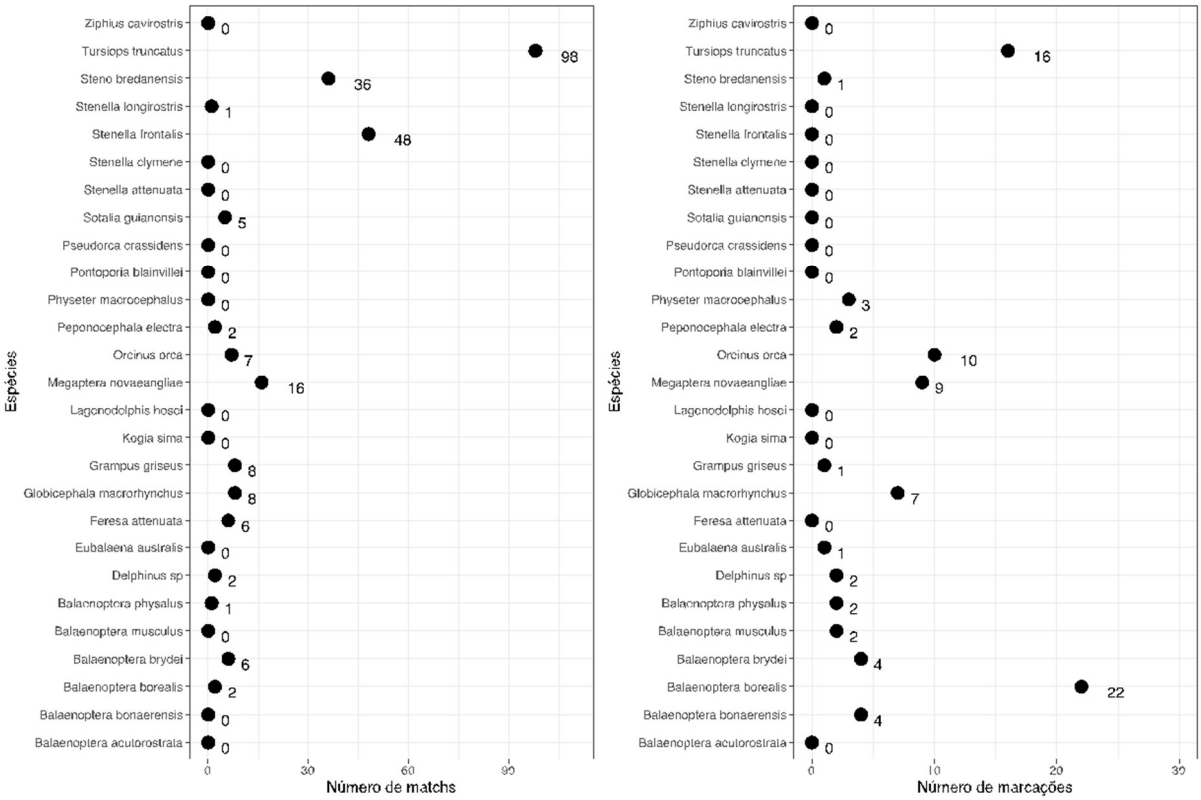


Figura V.2-5: *Número de reavistagens (matchs; painel esquerdo) e de marcação com transmissor satelital (painel direito) por espécie na Bacia de Santos pelo PMC-BS.*

As novas reavistagens identificadas ao longo desse oitavo ano, mediante comparação dos novos registros de fotoidentificação com os catálogos do PMC-BS e de outros grupos de pesquisa, foram aqui apresentadas, com discussões integradas aos resultados de telemetria. A partir de uma abordagem de

aprendizado não supervisionado (*k-means*; HARTIGAN; WONG, 1979) foi possível separar as reavistagens, por espécie, com base na longitude, latitude e profundidade, de forma a caracterizar áreas de maior frequência de revisitas individuais, bem como de movimentos entre estas áreas. Essa abordagem permite discutir de forma mais ampliada os padrões espaciais do conjunto de reavistagem de cada espécie, permitindo uma síntese de informações, facilitando a discussão de alguns padrões ecológicos.

Movimentos Registrados por Telemetria satelital

Do total de 94 indivíduos marcados com sucesso com transmissores satelitais, foram obtidas informações de 83 indivíduos, de 14 espécies de cetáceos, durante os Ciclos de Curto e de Médio Prazo do PMC-BS, que permitiram avaliar a movimentação das espécies e o uso de habitat na Bacia de Santos (**Tabela V.2-3 e Tabela V.2-4)**. Destes 83 indivíduos, 38 foram sexados geneticamente ou, no caso de alguns indivíduos de *O. orca*, pelo dimorfismo sexual aparente, e um gênero (*Globicephala*) foi identificado geneticamente em nível de espécie (*G. macrorhynchus*) por meio de amostras coletadas por biópsia para outros indivíduos do mesmo grupo. Em uma ocasião houve a marcação de um indivíduo de *G. macrorhynchus* com dois transmissores por falha de procedimento; neste caso, foi selecionado o transmissor com maior tempo de duração, sendo o outro descartado das análises e não considerado (PTT 224113).

Na descrição dos movimentos estão apresentadas apenas as espécies para as quais foram obtidos novos registros em 2022. Para as outras espécies, devem ser consultados o Relatório Anual 7 (PETROBRAS, 2023a).

Tabela V.2-3: *Informações sobre os indivíduos marcados com sucesso com transmissores satelitais (n = 94) nas Campanhas de Telemetria dos Ciclos de Curto e de Médio Prazo (sete primeiros anos) do PMC-BS. PTT = número de identificação do transmissor no sistema Argos; $D_{marcação}$= data de marcação do indivíduo; P_{total} = total de pontos de localização registrados para o indivíduo; P_{filtro} = total de pontos resultantes após a filtragem; $\%_{filtro}$ = percentual de pontos remanescentes após a filtragem (com base no Filtro de Freitas); D_{total} = distância percorrida pelo indivíduo desde a data de marcação até o último ponto registrado, em km; $D_{média}$ = distância média percorrida por dia, em km. S = sexo (M = macho; F = fêmea). Não foi possível realizar a biópsia em alguns indivíduos, o que impossibilitou a sexagem genética.*

PTT	$D_{marcação}$	Dias	P_{total}	P_{filtro}	$\%_{filtro}$	D_{total}	$D_{média}$	S
Família Balaenidae								
Eubalaena australis								
197758	22/07/22	31	610	444	72,8	2.554	82,4	F
Família Balaenopteridae								
Balaenoptera musculus								
158554	13/07/19	46	743	609	82,0	4.075	88,6	F
197760	20/07/20	23	230	227	98,7	1.580	68,7	F
Balaenoptera physalus								
158553	12/07/19	20	132	77	58,3	2.150	107,5	F
158549	27/08/16	2	7	Sem dados após filtro				--
235333	26/07/22	Falha na transmissão						–
235332	26/07/22	11	111	69	62,1	722	65,6	--
Balaenoptera borealis								
158555*	24/08/16	Falha de transmissão						--
158546	25/08/16	6	87	66	75,9	339	56,5	--
158550	29/08/16	Falha de transmissão						
162629	31/08/16	7	34	7	20,6	453	64,7	M
162630	01/09/16	38	409	305	74,6	3.533	92,9	--
34638	06/08/18	39	304	192	63,1	2.856	73,2	--
34755	07/08/18	12	131	97	74,1	942	78,5	--
58003	07/08/18	4	11	Sem dados após filtro				--
58005	08/08/18	59	894	81	9,1	3.743	63,4	M
158555	28/07/19	46	159	84	52,8	2.874	62,5	--
179332	28/07/19	3	26	19	73,1	88	29,5	F
179339	28/07/19	42	594	483	81,3	3.021	71,9	--
58007	29/07/19	34	329	248	75,4	2.633	77,4	M

PTT	$D_{marcação}$	Dias	P_{total}	P_{filtro}	$\%_{filtro}$	D_{total}	$D_{média}$	S
179337	29/07/19	33	332	263	79,2	2.505	75,9	--
197762	22/07/20	28	503	407	80,9	2.466	88,1	--
197767	22/07/20	39	404	401	99,2	3.599	92,3	--
197770	02/08/20	22	392	314	80,1	1.876	85,3	M
197766	02/08/20	53	1.089	867	79,6	4.805	90,6	M
197765	02/08/20	20	301	245	81,4	1.226	61,3	M
179336	03/08/20	7	57	40	70,2	481	68,7	M
179338	03/08/20	4	20	15	75,0	113	28,4	F
179334	04/08/20	7	113	98	86,7	303	43,3	--
224122	09/07/22	9	90	70	77,8	592	65,8	M
224119	12/07/22	9	37	19	51,6	308	34,2	--
235340	25/07/22	15	79	49	62,0	1.125	75	--
235338	28/07/22	10	55	29	52,7	562	56,2	--
Balaenoptera brydei								
166662	25/07/17	28	107	69	64,5	1.107	39,7	--
34775	13/11/17	2	9	7	77,8	34	17,1	F
58004	01/08/18	4	39	27	69,2	194	48,4	M
224124	02/10/21	10	163	116	71,2	538,2	53,8	M
Balaenoptera bonaerensis								
166666	13/07/17	18	174	72	41,4	1.846	102,5	M
179333	13/07/19	17	199	139	69,8	1.641	96,5	--
208551	21/11/20	25	533	316	59,3	3.778	151,1	F
208550	21/11/20	14	318	209	65,7	1.725	123,2	M
Megaptera novaeangliae								
158542	10/08/16	19	296	282	95,3	462	24,3	M
158553	20/08/16	15	187	141	75,4	1.501	100,1	--
158554*	21/08/16	3	11	7	63,6	39	12,9	--
158556	02/09/16	9	66	59	89,4	117	13,0	F
34588	20/07/17	54	697	591	84,8	5.163	95,6	F
34686	23/07/17	36	409	330	80,7	2.753	76,5	--
34594	23/07/18	Falha de transmissão						--
34722	26/07/18	51	631	544	6,2	3.867	75,8	M
34738	29/07/18	4	12	4	33,3	114	28,4	--
Família Physeteridae								
Physeter macrocephalus								
34732	20/11/17	60	368	308	83,7	3.786	63,1	--
34746	20/11/17	3	6	2	33,3	5	1,6	--
34792	20/11/17	4	22	11	50,0	302	75,5	--

PTT	$D_{marcação}$	Dias	P_{total}	P_{filtro}	$\%_{filtro}$	D_{total}	$D_{média}$	S
Família Delphinidae								
Orcinus orca								
158547	30/08/16	3	36	30	83,3	147	49,1	M
162628	30/08/16	13	170	145	85,3	683	52,5	M
158545	30/08/16	Falha de transmissão						--
162633	30/07/17	33	555	490	88,3	2.692	81,6	M
58014	06/08/18	11	149	105	70,5	635	57,7	--
58013	07/08/18	14	200	167	83,5	635	45,3	M
197768	02/08/20	32	512	436	85,1	1.702	53,2	M
197771	05/09/21	14	150	126	84,0	874	62,4	--
208549	05/09/21	10	168	164	97,6	510	51,0	M
224117	18/09/21	16	302	254	84,1	1.268	79,2	--
224115	01/07/22	10	134	99	73,9	559	55,9	F
Globicephala macrorhychus								
58016	24/01/19	32	467	335	71,7	2.746	85,8	--
179341	13/07/19	9	88	63	71,6	441	49,5	M
179340	13/07/19	25	269	210	78,1	1.522	60,9	M
208555	02/12/20	8	83	64	77,1	457	57,2	M
208554	02/12/20	5	58	47	81,0	245	49,0	--
224112	24/06/22	24	426	349	81,9	1.997	83,2	--
235334	26/07/22	25	197	144	73,1	1.526	61,1	--
224114	26/07/22	1	2	Sem dados após filtro				--
Peponocephala electra								
34756	06/04/18	6	40	19	47,5	239	39,8	--
34773	06/04/18	7	55	13	23,6	267	38,2	--
Grampus griseus								
58010	08/02/19	6	76	57	75,0	268	44,8	--
Steno bredanensis								
58015	31/07/18	7	114	57	50,0	1.000	142,9	M
Tursiops truncatus								
158551	25/02/16	8	68	54	79,4	503	62,9	--
158544	17/03/16	13	108	89	82,4	919	70,7	--
162631	06/09/16	4	9	3	33,3	65	16,2	--
162634	14/02/17	4	44	24	54,5	159	39,7	F
162632	24/02/17	7	74	56	75,7	516	73,7	F
162637	24/02/17	10	125	105	84,0	666	66,6	--
162635	14/02/17	Falha de transmissão						--
166663	20/07/17	14	120	94	78,3	566	40,4	--

PTT	$D_{marcação}$	Dias	P_{total}	P_{filtro}	$\%_{filtro}$	D_{total}	$D_{média}$	S
166665	30/03/18	12	39	19	48,7	361	30,1	--
34751	30/03/18	20	316	264	83,5	1.357	68,9	--
34754	03/04/18	2	11	5	45,4	14	7,1	--
166664	30/03/18	Falha de transmissão						--
58017	28/07/18	12	195	154	78,9	1.238	103,1	--
162636	28/07/18	15	205	114	55,6	1.810	120,7	--
58008	28/01/20	7	93	70	75,3	474	67,8	--
58009	23/01/20	1	3	Sem dados após filtro				F
224118	16/07/22	8	97	80	82,5	388	48,5	M
224123	28/07/22	6	19	12	63,1	101	16,8	--

* Canais de transmissão utilizados duas vezes, em campanhas distintas.

Tabela V.2-4: *Informações sobre o número de transmissores, número de posições transmitidas, dias de monitoramento e distância monitorada para cada espécie, assim como um resumo das características do habitat de ocorrência das espécies marcadas com transmissores satelitais ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazo (sete primeiros anos) do PMC-BS, considerando os indivíduos para os quais foram obtidas informações (n = 83). N = número de transmissores; P = número de posições; Distância média: distância média percorrida por dia de monitoramento; DP: desvio padrão; mínimo e máximo. Faixa latitudinal: mínimo e máximo em graus decimais. Profundidade da área de ocorrência: média ± desvio padrão (mínimo – máximo), em metros.*

Espécie	*N*	P	Dias	Distância média ± DP	Faixa latitudinal	Profundidade
*E. australis**	1	444	31	82,4	21,9º – 28,7ºS	58,9 ± 30,7 (10 – 132)
B. musculus	2	836	69	78,6	24,3º – 45,2ºS	2.692,9 ± 1.917,2 (76 – 5.864)
B. physalus	2	146	31	86,5	26,1º – 39,2ºS	1.141,1 ± 1.266,5 (152 – 4.983)
B. borealis	23	4.399	22,7 ± 17,4 (3 – 59)	66,8 ± 18,9 (28,4 – 92,9)	18,9º – 39,2ºS	1.189,5 ± 1.188,3 (29 – 4.824)
*B. brydei**	4	219	11 ± 4,4 (2 – 28)	39,7 ± 16,2 (17,1 – 53,8)	22,6º – 26,1°S	255,3 ± 215,1 (10 – 763)
B. bonaerensis	4	211	18,5 ± 4,6 (14 – 25)	118,3 ± 24,7 (96,5 – 151,1)	12,9º – 53,8°S	1.921,1 ± 1.661,8 (76 – 5.871)
*M. novaeangliae**	8	1.958	25,4 ± 19,2 (3 – 54)	53,3 ± 37,3 (13 – 100,1)	18,2º – 53,1°S	1.971,9 ± 2.077,4 (10 – 5.768)
P. macrocephalus	3	319	22,3 ± 32,6 (3 – 60)	46,7 ± 39,6 (1,6 – 75,5)	27,4º – 32,6°S	1.570,7 ± 450,1 (641 – 2.897)
*O. orca**	10	2.016	15,6 ± 9,6 (3 – 33)	59 ± 12,3 (45,3 – 81,6)	22,7 º – 36,3°S	184,7 ± 168,6 (10 – 1.141)
G. macrorhynchus	7	1.212	17,0 ± 10,5	63,8 ± 15 (49 – 85,8)	20,9º – 28,4ºS	1.641,2 ± 862,8

Espécie	*N*	P	Dias	Distância média ± DP	Faixa latitudinal	Profundidade
			(5–32)			(209 – 3.755)
P. electra	2	32	6,5	39 (38,2 – 39,8)	24,2º – 25,0°S	1.834 ± 285,8 (1.266 – 2.276)
G. griseus	1	57	6	44,8	27,5º – 28,8°S	979,4 ± 270,9 (485 – 1.554)
*S. bredanensis***	1	57	7	142,9	22,9º – 23,9°S	--
*T. truncatus****	15	1.143	8,9 ± 5,1 (1 – 20)	55,5 ± 31,9 (7,1 – 120,7)	20,8º – 31,0°S	40,4 ± 23 (2 – 141)
TOTAL	**83**	**13.049**	--	--	--	--

* Para estas espécies foi definida uma profundidade mínima de 10 metros pois a base de dados tem limitações de precisão e houve muitos registros próximos da costa
** Para esta espécie não foi possível obter informações sobre a profundidade dos locais de mergulho pois não houve a transmissão dos arquivos com informações de mergulhos.
*** Para esta espécie foi definida uma profundidade mínima de 2 metros pois a base de dados tem limitações de precisão e houve registros próximos da costa

Movimentos de **Eubalaena australis**

Foi realizada a marcação de uma fêmea da espécie em Cabo Frio, Rio de Janeiro, em 22/07/2022, que percorreu 2.554 km em 31 dias. Esta fêmea permaneceu no litoral norte do Rio de Janeiro até o dia 01/08/2022, quando iniciou um movimento no sentido sul, chegando no dia 08/08/2022 no litoral norte de Santa Catarina. No dia 11/08/2022 seguiu para o sul da ilha de Florianópolis, onde permaneceu até o final da transmissão numa área bem restrita, muito próxima da costa. Os mergulhos mais profundos foram realizados no litoral do Rio de Janeiro, principalmente na região de Cabo Frio. A profundidade de mergulho foi sendo reduzida ao longo do deslocamento no sentido sul, e durante a permanência no litoral de Santa Catarina a fêmea realizou somente mergulhos muito rasos (**Figura V.2.6**).

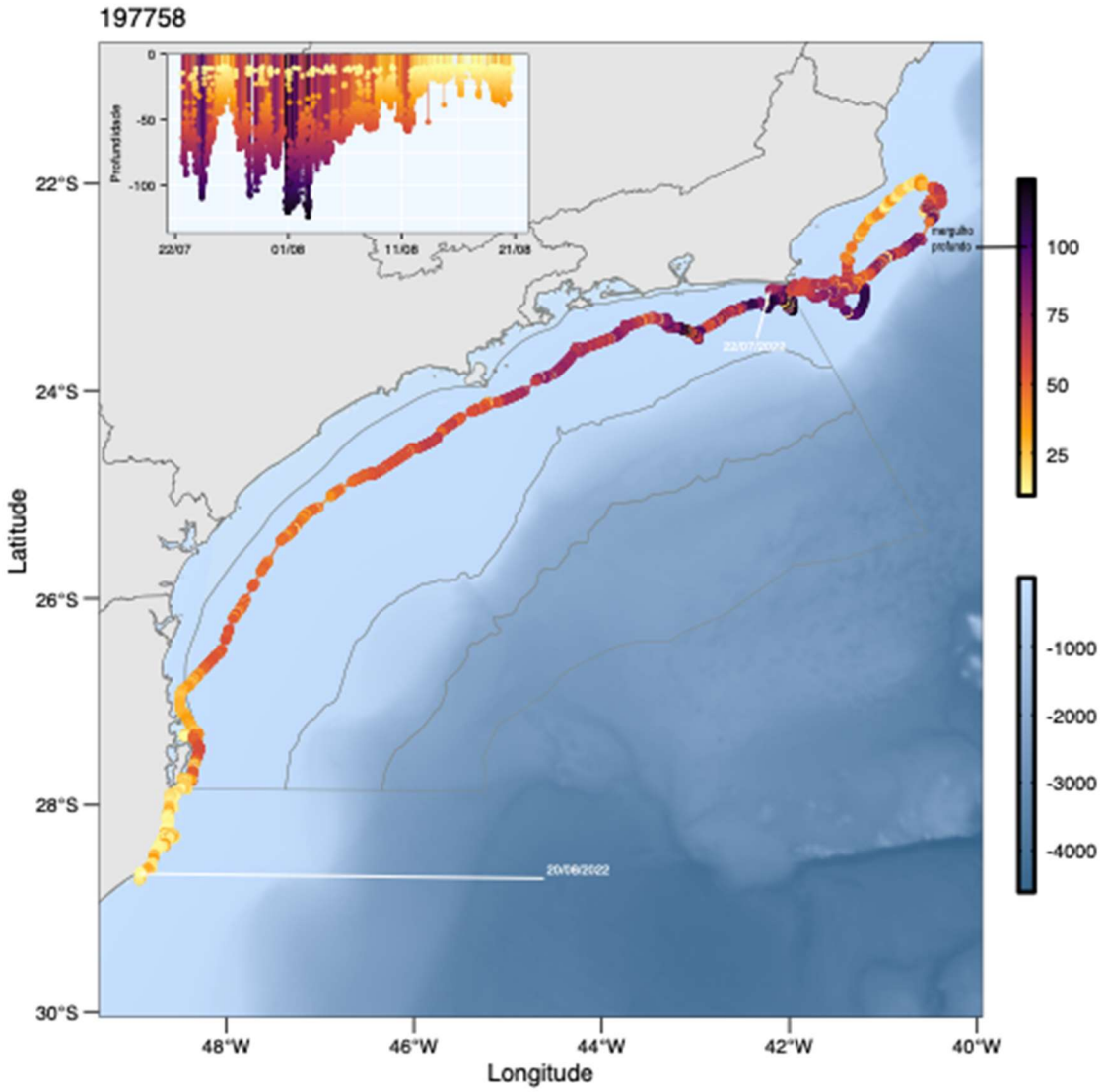


Figura V.2-6: *Movimento de uma fêmea de* ***Eubalaena australis*** *marcada com transmissor satelital em 22/07/2022 e com transmissão até 21/08/2022. Gráfico no canto superior esquerdo do mapa indica variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração do gráfico coincide com a coloração da trajetória e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barra lateral superior relaciona a escala de cores com a profundidade (em metros) do gráfico e da trajetória. Barra lateral azul representa a batimetria em metros.*

A baleia-franca-austral é uma espécie que reproduz no litoral da Argentina e do Brasil no inverno e na primavera, e se alimenta nas ilhas Geórgia do Sul no verão e outono (ZERBINI et al., 2017). Dados históricos indicam que a

distribuição original da espécie ao longo da costa brasileira chegava até a Bahia (ELLIS, 1969). Atualmente, os registros no litoral sudeste e nordeste são considerados esporádicos (FIGUEIREDO et al. 2017, MORAIS et al. 2017), não havendo informações pretéritas sobre movimentos da espécie na região da Bacia de Santos.

O litoral de Santa Catarina compreende sua principal área reprodutiva (RENAULT-BRAGA et al., 2022; RENAULT-BRAGA et al., 2023). Mas sua distribuição não é homogênea e sua maior abundância ocorre em baías ocupadas durante toda a época de reprodução, de julho a novembro, com a presença de pares mãe-filhote (RENAULT-BRAGA et al., 2018). Estas informações coincidem com os dados obtidos para a fêmea marcada, que foi para o litoral de Santa Catarina em agosto, e permaneceu vários dias (até o final do monitoramento) numa área muito restrita próxima à costa, realizando mergulhos muito rasos, o que sugere que ela tenha dado à luz e estivesse amamentando. Fêmeas prenhes e pares mãe-filhote tendem a permanecer mais próximos da costa, com a ocorrência de segregação espacial na população (PAYNE, 1986; ELWEN e BEST, 2004; RENAULT-BRAGA et al., 2021).

Movimentos de **Balaenoptera physalus**

Um indivíduo de *Balaenoptera physalus* foi fotoidentificado em 13/07/2017 e no dia seguinte, em 14/07/2017 (**Figura V.2-7**). Entre avistagens, o indivíduo fez um deslocamento ao norte de aproximadamente 100 km acompanhando a linha do talude. Este deslocamento de 100 km de um dia para o outro seguindo a linha do talude sugere uma possível atividade de forrageio deste indivíduo.

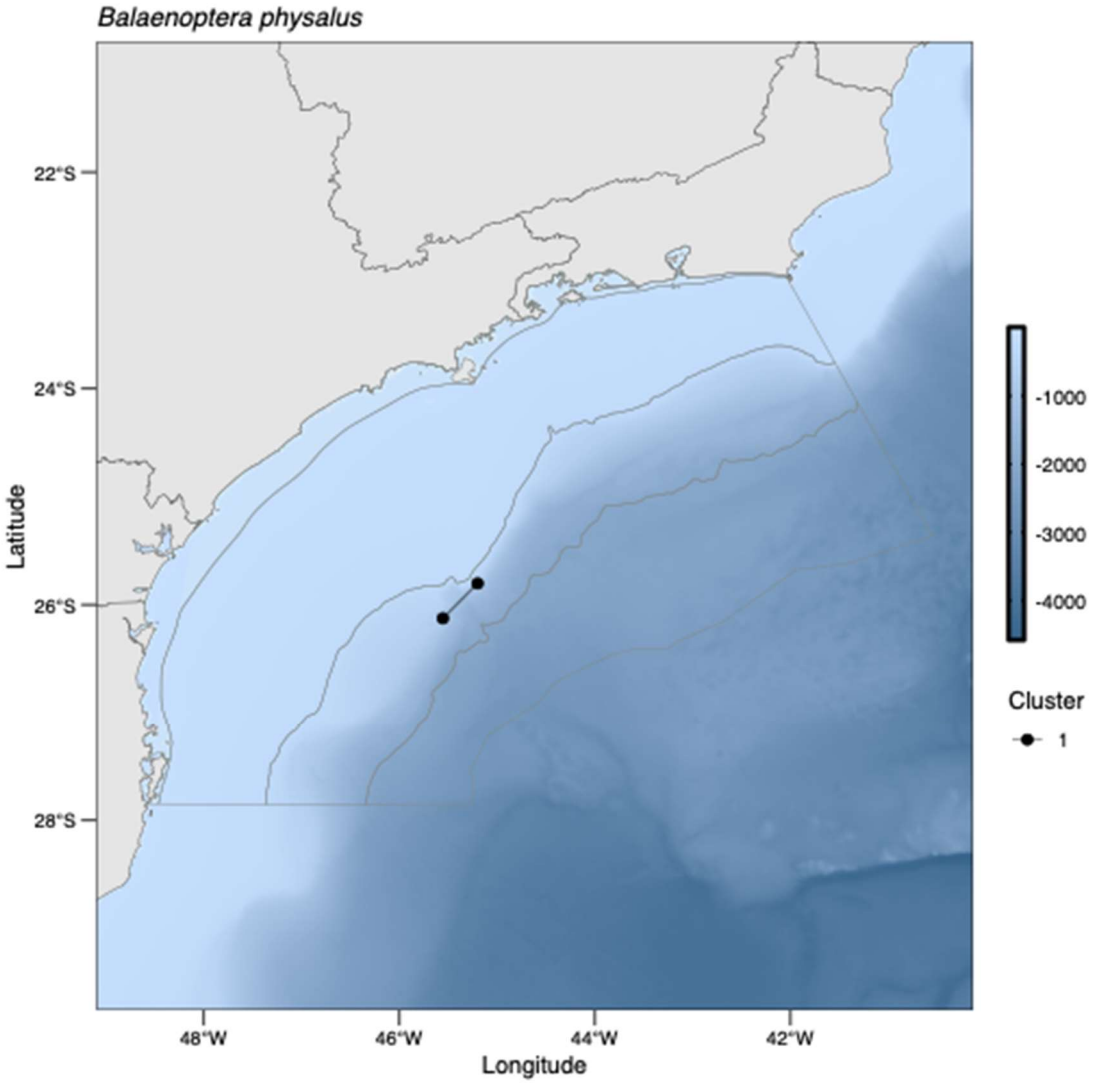


Figura V.2-7: *Localização das reavistagens (pontos) de* ***Balaenoptera physalus*** *com representação de movimentos mínimos entre registros (linha entre pontos). Ponto ao sul, registrado em 13/07/2017 e ponto ao norte em 14/07/2017. Como trata-se de apenas uma reavistagem, apenas um agrupamento (cluster) foi identificado pelo algoritmo k-means. Barra lateral azul representa batimetria em metros.*

No total, quatro indivíduos de *B. physalus* foram marcados, sendo dois em 2022. Para três indivíduos foram utilizados transmissores satelitais na configuração LIMPET e para um foi utilizado o implantável. Destes, um não transmitiu e o outro permaneceu por pouco tempo, não gerando dados após a filtragem. Os dois transmissores que geraram dados permaneceram em funcionamento por períodos de 20 dias e 11 dias, respectivamente em 2019 e

2022. A primeira marcação ocorreu no extremo sul da Bacia de Santos no inverno, seguindo no sentido sul/sudeste logo após a marcação, afastando-se do continente. Percorreu 2.150,3 km, numa média de deslocamento diário de 107,5 km. Embora a transmissão tenha finalizado no meio do Atlântico, na longitude das Ilhas Geórgia do Sul (39,3° S), conhecida como área de alimentação de outros balenopterídeos (ROSSI-SANTOS et al., 2006; ENGEL; MARTIN, 2009), a direção do movimento sugeria um rumo migratório mais para o leste. A segunda foi marcada na região do talude, em área central da Bacia de Santos, próximo a latitude 26º S, e percorreu 722 km, com média de 65,6 km/dia. Após seis dias seguiu para o sul, acompanhando o talude, até a latitude 28º S, onde aparentemente interrompeu o movimento, permanecendo na mesma região até o final da transmissão (**Figura V.2-8**).

A abundância mundial da espécie foi estimada aproximadamente em 100.000 indivíduos e a espécie permanece 'vulnerável' na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN (COOKE, 2018). A baleia-fin parece não seguir o padrão migratório tradicional de muitos balenopterídeos; algumas populações podem permanecer em grandes latitudes durante os meses frios e em baixas latitudes (entre 20° e 30°S) durante os meses quentes (EDWARDS et al., 2015), como ocorre, por exemplo, no Mediterrâneo (NOTARBARTOLO DI SCIARA et al., 2013). Contudo, as informações sobre áreas de alimentação, reprodução e movimentos migratórios são escassas para o Hemisfério Sul (MIZROCH et al., 1984b). Baleias-fin marcadas com transmissores satelitais em águas costeiras do Chile permaneceram entre as latitudes de 27 a 37°S durante o verão e no início do outono, não realizando os movimentos migratórios padrão esperados para o período primavera/verão (SEPÚLVEDA et al., 2018). O único indivíduo que mostrou um movimento migratório consistente naquele estudo foi um macho, que se deslocou no sentido sul ao final de maio (SEPÚLVEDA et al., 2018). Da mesma forma que observado para uma das baleias-azuis marcadas (PTT 158554), os mergulhos profundos (> 100 m) realizados por este indivíduo ocorreram ao longo da rota migratória, sugerindo que sejam mergulhos exploratórios, possivelmente relacionados à orientação (GARRIGUE et al., 2015; OWEN et al., 2016). Eles ocorreram de forma bastante pontual no início da rota

migratória e cerca de 15 dias depois, na região oceânica, quase no final do período de monitoramento.

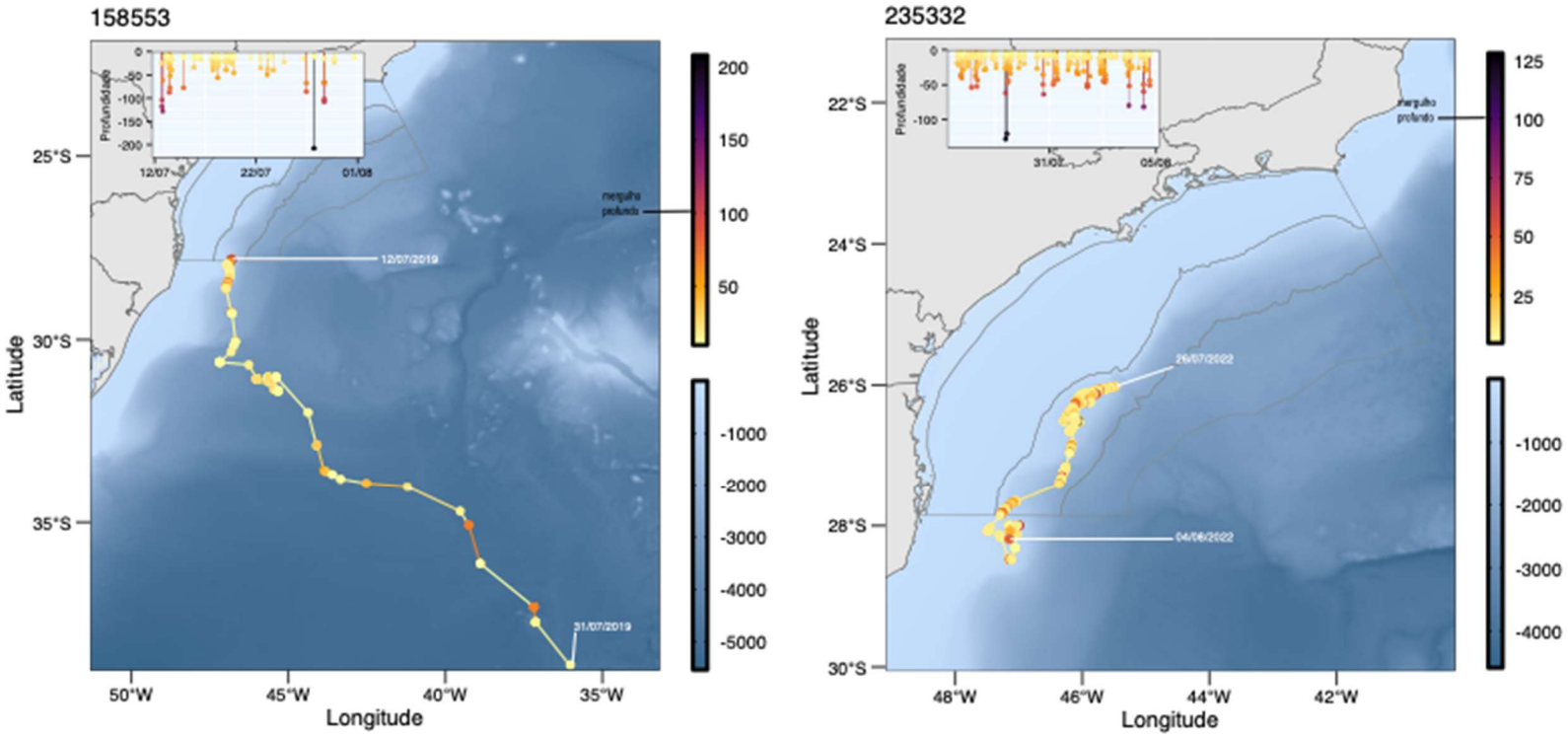


***Figura V.2-8**: À esquerda, movimento de um indivíduo de **Balaenoptera physalus** marcado com transmissor satelital em 12/07/2019 e que transmitiu até 01/08/2019. À direita, movimento de um outro indivíduo marcado com transmissor satelital em 26/07/2022 e que transmitiu até 05/08/2022. Gráficos no canto superior esquerdo dos mapas indicam variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração dos gráficos coincide com a coloração das trajetórias e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barras superiores laterais aos mapas relacionam a escala de cores com a profundidade (em metros) dos gráficos e das trajetórias. Barras azuis laterais aos mapas representam a batimetria em metros.*

Movimentos de **Balaenoptera borealis**

A comparação do catálogo de *B. borealis* do PMC-BS com o catálogo das Ilhas Malvinas (Responsável pela comparação: Dra. Caroline Weir, *Falklands Conservation*) permitiu a identificação de uma reavistagem. Um indivíduo registrado em 25/08/2016 pelo PMC-BS no norte da Bacia de Santos, foi observado nas Ilhas Malvinas em 19/02/2017, representando um deslocamento linear de aproximadamente 3.500 km (**Figura V.2-9**; WEIR et al., 2020). Este registro representa o maior movimento linear já registrado para um único indivíduo da espécie e sugere o uso de águas de baixa latitude durante o inverno e alta latitude no verão (WEIR et al., 2020). Um segundo foi registrado ao longo de três dias subsequentes, 06/08/2018 a 08/08/2018 (**Figura V.2-9**). O registro ocorreu na região do talude, ao sul do primeiro registro do primeiro indivíduo e coincide com a área de maior número de registros da espécie pelo PMC-BS. O agrupamento realizado pelo algoritmo *k-means* separou os registros na Bacia de Santos do registro nas Ilhas Malvinas.

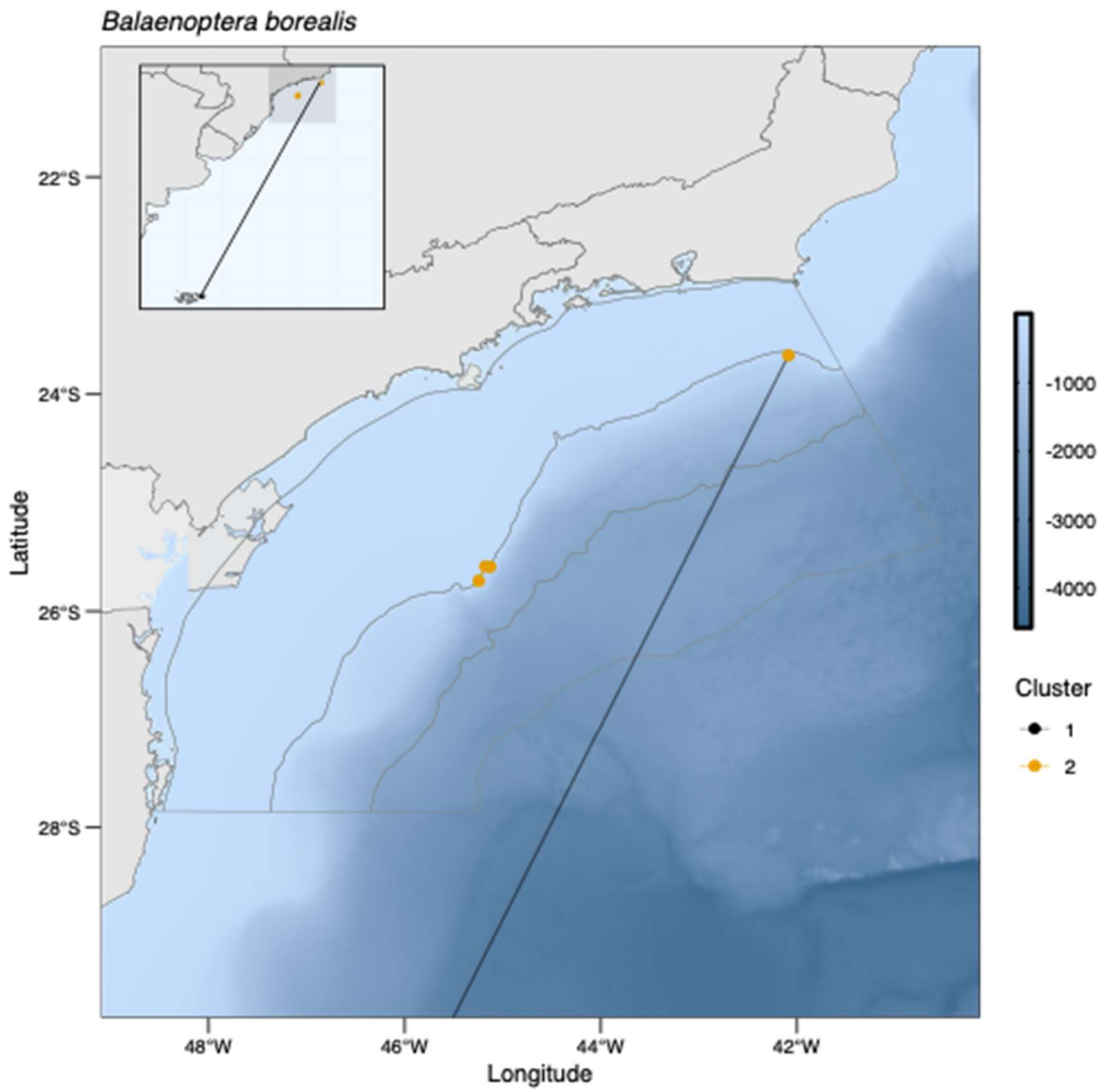


Figura V.2-9: *Localização das reavistagens (pontos) de* ***Balaenoptera borealis*** *com representação de movimentos mínimos entre registros (linhas entre pontos). Os registros foram agrupados em dois agrupamentos (Cluster 1 e Cluster 2) pelo algoritmo k-means e estão ilustrados com cores diferentes. Zoom apresenta a reavistagem nas Ilhas Malvinas. Barra lateral azul representa batimetria em metros.*

No total, foram marcados 26 indivíduos de *Balaenoptera borealis* com transmissores satelitais, todos no inverno (**Tabela V.2-4**), sendo a espécie com o maior número de indivíduos marcados. Do total de indivíduos marcados, dois não transmitiram e um não apresentou dados após a filtragem. Foi possível fazer a sexagem genética de 10 indivíduos, sendo oito machos e duas fêmeas. A

duração média do monitoramento foi de 22 dias (± 17 dias), com um mínimo de três e um máximo de 59 dias.

Alguns indivíduos foram monitorados por um período mais curto, e os seus movimentos não foram apresentados no mapa. A grande maioria dos indivíduos com movimentos mais significativos seguiu no sentido sul, sugerindo uma migração para altas latitudes, sendo eles os PTTs 34638, 58005, 158555, 162629, 162630, 197766, 197767 e 235340, iniciada entre o final de julho e o início de setembro, e chegando à latitude máxima de 39°S. Os PTTs 179337 e 179339 também seguiram no sentido sul, mas após um breve movimento ao norte da Bacia de Santos. Estes movimentos para o sul coincidem com o período de maior número de registros na Argentina (IÑIGUEZ et al., 2010). Cabe destacar também que alguns indivíduos permaneceram por vários dias na Bacia de Santos antes de seguir para o sul, como os PTTs 58005, 162630, 179337, 179339 e 197766. Dentre todas as baleias-sei marcadas, somente o PTT 179339 realizou mergulhos profundos (> 100m), realizadas de forma esparsa nas proximidades do talude e durante a migração, sugerindo que possivelmente sejam mergulhos exploratórios, relacionados à orientação (GARRIGUE et al., 2015; OWEN et al., 2016), semelhante ao observado para a baleia-azul e a baleia-fin durante a migração.

Três indivíduos (PTTs 34755, 58007 e 197762) se movimentaram no sentido norte, sendo que o PTT 58007 e o PTT 197762 foram monitorados até chegar ao norte da Cadeia Vitória-Trindade, numa latitude máxima de 17,9° S. Estes indivíduos foram marcados no final de julho e o movimento no sentido norte foi registrado na primeira quinzena de agosto (**Figuras V.2-10** e **V.2-11**). De maneira geral, a baleia-sei apresentou um padrão variado de movimentação na Bacia de Santos. Permaneceram principalmente na região do talude, mas também transitaram ao longo da plataforma continental, chegando a regiões com profundidade de 29 metros. Além disso, longos períodos de permanência na região do talude da Bacia de Santos foram observados em alguns casos, sugerindo que a região é estratégica para a espécie.

A baleia-sei é tipicamente oceânica (OLSEN et al., 2009) e realiza migrações latitudinais, como a maioria dos misticetos (CORKERON; CONNOR, 1999;

WEIR et al., 2001; JEFFERSON et al., 2015), permanecendo no verão em altas latitudes para alimentação e no inverno em baixas latitudes para reprodução (HORWOOD, 1987). Enquanto as áreas de alimentação são bem conhecidas, são escassas as informações sobre as áreas de reprodução das baleias-sei (PRIETO, 2014) e sobre suas rotas migratórias. A espécie costuma ocupar a região oceânica, mas pode se aproximar da costa para se alimentar (SHILLING et al., 1992). O único trabalho realizado até o momento usando telemetria satelital com essa espécie ocorreu no Atlântico Norte e registrou uma migração de 4.102 km de distância na primavera, entre a Ilha Faial (Açores) e as águas produtivas do mar de Labrador, num intervalo de 43 dias (OLSEN et al., 2009).

No Brasil, a presença da baleia-sei é pouco documentada. DI TULLIO et al. (2016) registraram apenas um indivíduo na região sul, na primavera, após oito cruzeiros na região do talude continental entre os anos de 2009 e 2014, ao longo das regiões sudeste e sul do Brasil. HEISSLER et al. (2016) fizeram o registro de baleias-sei na região do Arquipélago de Trindade e Martin Vaz, incluindo três grupos com filhotes entre maio e junho de 2015. Este dado sugere que as águas do Brasil podem ser utilizadas pelas baleias-sei para fins reprodutivos. Em duas oportunidades, em 2017, o PMC-BS registrou a presença de filhotes, o que sugere a possibilidade de a Bacia de Santos ser utilizada para reprodução. No entanto, a região oceânica da Bacia de Santos, em especial durante o inverno, quando as águas se tornam mais produtivas (ODEBRECHT; CASTELLO, 2001), parece ser utilizada também para alimentação, como sugere os movimentos de padrão não definido com alto tempo de permanência na Bacia de Santos.

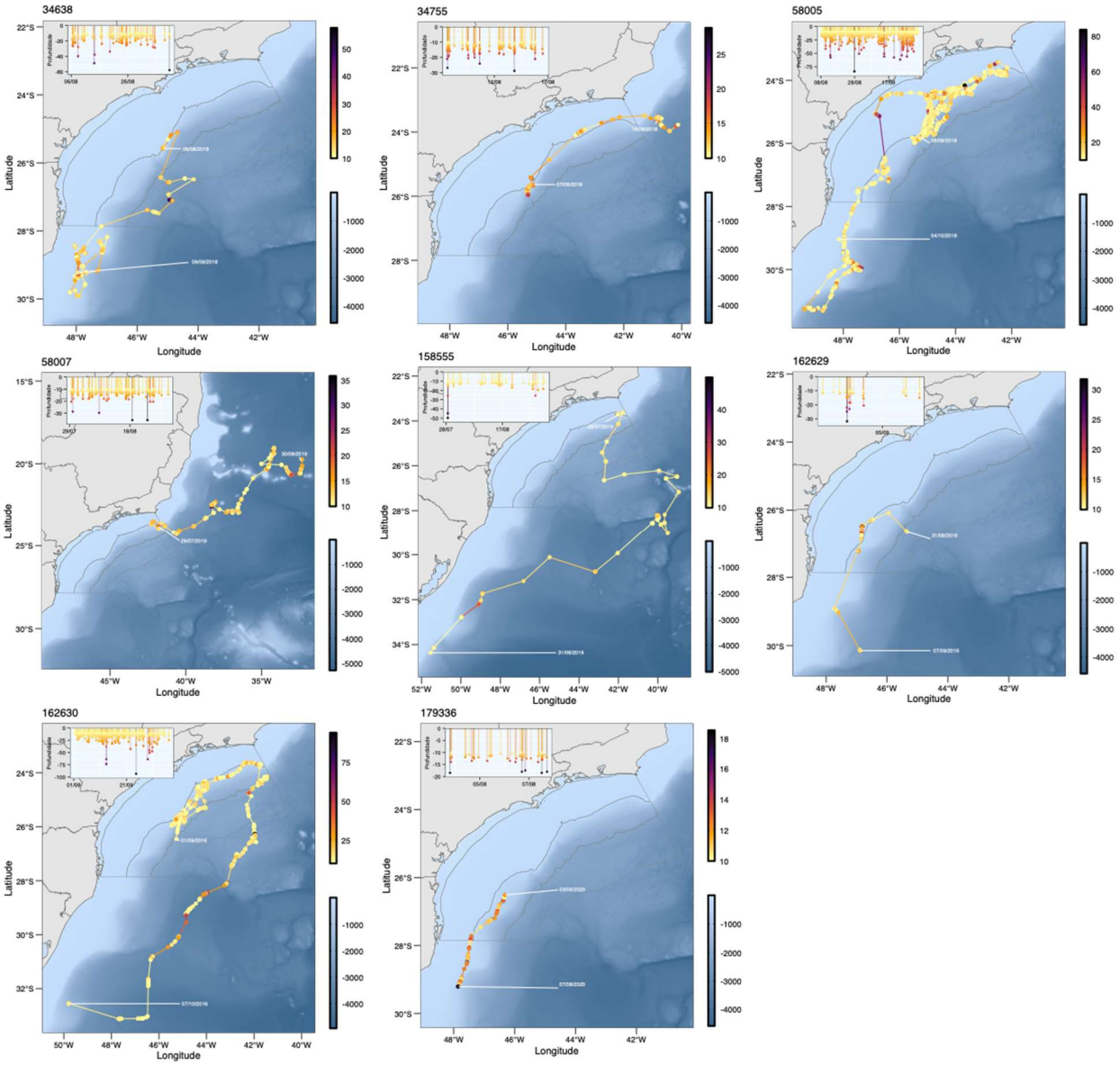


Figura V.2-10: *Movimentos de 8 indivíduos de* ***Balaenoptera borealis*** *dentre os 26 indivíduos marcados com transmissores satelitais na Bacia de Santos entre 2016 e 2022. Apenas os movimentos mais longos foram representados. Gráficos no canto superior esquerdo dos mapas indicam variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração dos gráficos coincide com a coloração das trajetórias e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barras superiores laterais aos mapas relacionam a escala de cores com a profundidade (em metros) dos gráficos e das trajetórias. Barras azuis laterais aos mapas representam a batimetria em metros.*

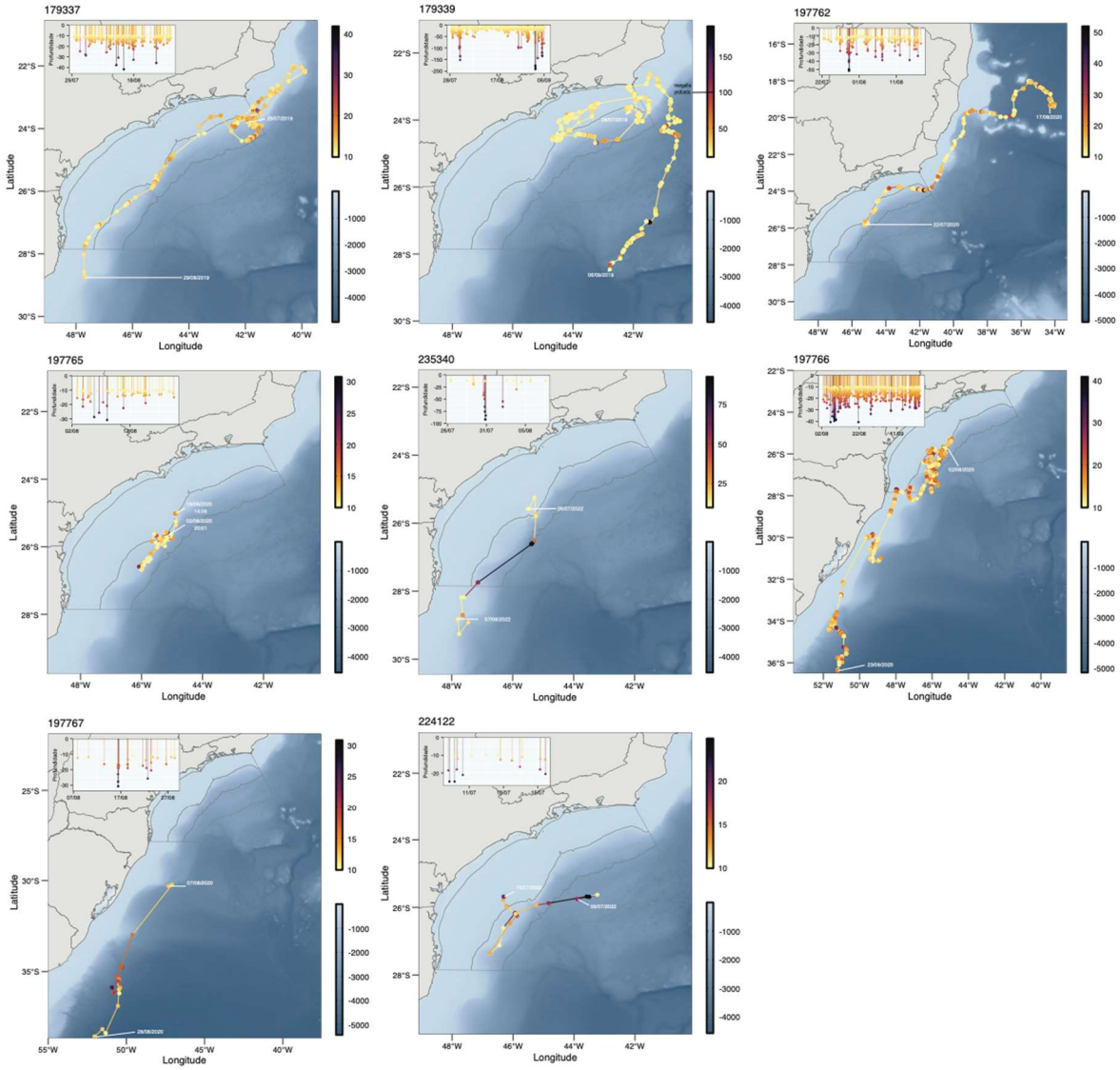


Figura V.2-11: *Movimentos de 8 indivíduos de* ***Balaenoptera borealis*** *dentre os 26 indivíduos marcados com transmissores satelitais na Bacia de Santos entre 2016 e 2022. Apenas os movimentos mais longos foram representados. Gráficos no canto superior esquerdo dos mapas indicam variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração dos gráficos coincide com a coloração das trajetórias e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barras superiores laterais aos mapas relacionam a escala de cores com a profundidade (em metros) dos gráficos e das trajetórias. Barras azuis laterais aos mapas representam a batimetria em metros.*

Movimentos de **Orcinus orca**

Três indivíduos foram fotoidentificados em um mesmo grupo nas proximidades de Cabo Frio (RJ), em 05/03/2016. Via comparação de catálogo com o Projeto Baleia à Vista (PROBAV), tais indivíduos foram registrados nas proximidades da Ilha de São Sebastião (SP) em três dias diferentes, em 10/08/2018, 30/11/2018 e 13/07/2020 (**Figura V.2-12**). Este registro sugere a possibilidade de visitas ocasionais às áreas costeiras, em especial nesta faixa de costa. Em 2018 foram registradas as primeiras reavistagens de *Orcinus orca* (**Figura V.2-12**) com os dados do PMC-BS. Dois indivíduos em um mesmo grupo foram fotoidentificados em 06/08/2017 na região do talude, na altura de Paranaguá (PR). O grupo foi reavistado em 06 e 07/08/2018, exatamente um ano depois, a apenas 2 km de distância do primeiro registro. Em 2020, mais um indivíduo foi avistado nessa mesma área, sendo reavistado praticamente no mesmo ponto 27 dias depois. Nesta mesma região foi registrado um indivíduo em 05/09/2021, e este mesmo indivíduo foi reavistado no ano seguinte, em 21/07/2022, também no talude, no entanto ao norte, na latitude da Ilha de São Sebastião. O agrupamento realizado pelo algoritmo *k-means* separou as reavistagens em áreas costeiras das reavistagens em áreas oceânicas. Considerando todos os registros de orca do PMC-BS, nota-se que tanto a área costeira quanto a área oceânica onde ocorreram essas reavistagens de fotoidentificação coincidem com a área de maior densidade de registros para a espécie. Este padrão indica a possibilidade de os mesmos indivíduos visitarem essas áreas sistematicamente, ou mesmo apresentarem algum grau de fidelidade e residência a elas, utilizando-as para atividades de alimentação.

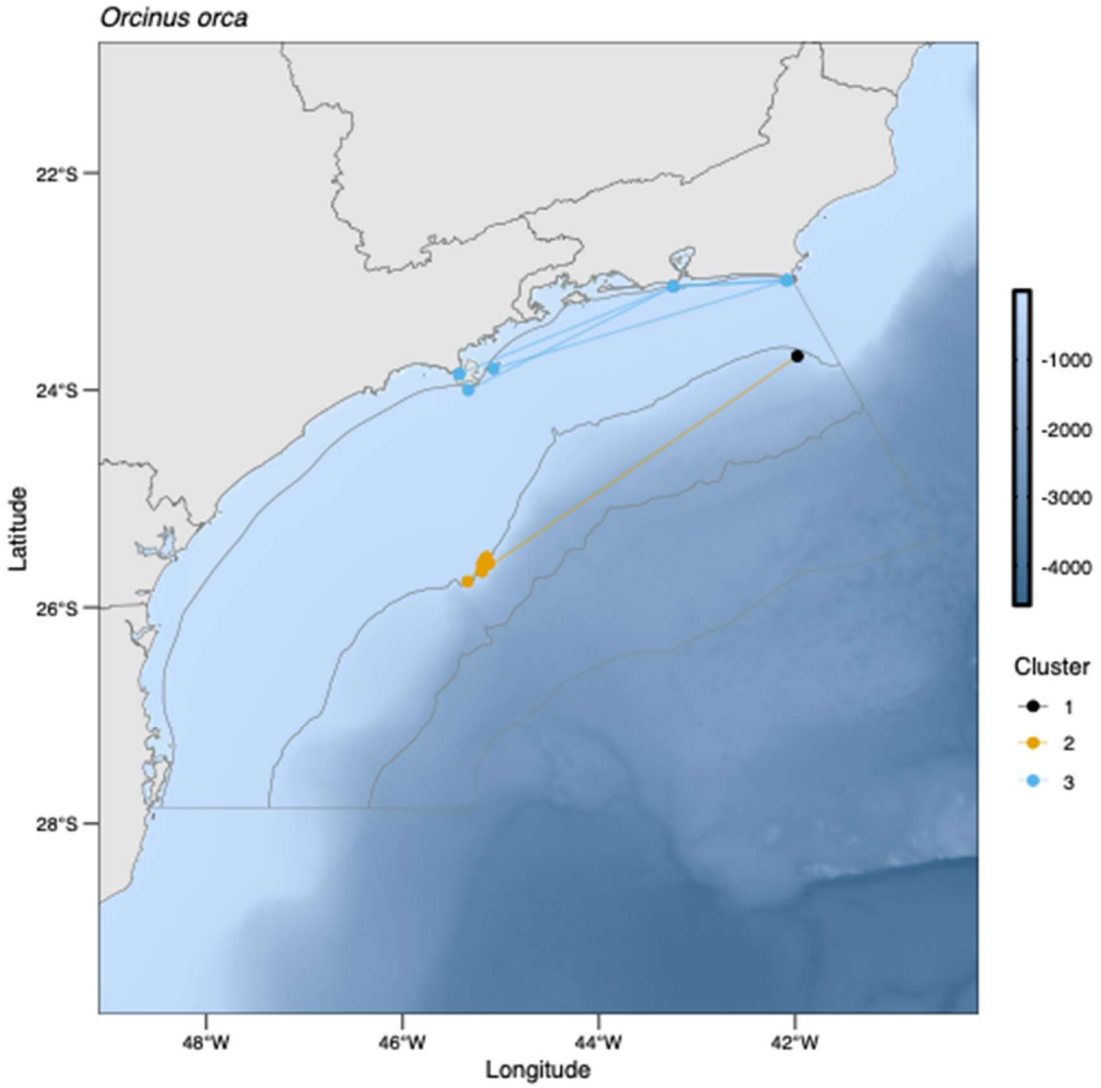


Figura V.2-12: *Localização das sete reavistagens (pontos) de* ***Orcinus orca*** *com representação de movimentos mínimos entre registros (linhas entre pontos). Os registros foram agrupados em três agrupamentos (cluster) pelo algoritmo k-means e estão ilustrados com cores diferentes. Barra lateral azul representa batimetria em metros.*

Onze orcas foram marcadas com transmissores satelitais até o momento, entre o início de julho e o início de setembro, sendo que para um dos indivíduos as informações não foram transmitidas. Foram obtidos dados para cinco machos e uma fêmea adultos, e três indivíduos de sexo não identificado, todos em águas oceânicas; e para um macho na região costeira, que chegou a ocupar áreas rasas com até 11 metros de profundidade. No caso dos indivíduos da região

oceânica, todas as marcações foram realizadas na região do cânion de Cananéia, na borda do talude, com profundidade máxima de 1.141 metros, que vem sendo identificada pelo PMC-BS como uma região de concentração de cetáceos na Bacia de Santos. Em 2016 e em 2021 foram marcados dois indivíduos no mesmo grupo.

Em 2018 foi marcado um macho (PTT 58013) e um indivíduo de sexo desconhecido (PTT 58014) em grupos distintos. Nos dois casos, os animais marcados eram do mesmo grupo daqueles fotoidentificados (conforme detalhado acima), sendo um deles o indivíduo #06. Esses quatro indivíduos foram monitorados por um curto período, variando de 3 a 14 dias. Em 2020 (PTT 197768) foi marcado um macho, monitorado durante 32 dias. Em todos os casos, os animais permaneceram na mesma região, fazendo um deslocamento latitudinal ao longo do talude, percorrendo em média 51,2 km/dia, o que foi reforçado pelos dados de fotoidentificação. De maneira distinta, o macho marcado nas águas costeiras de Santa Catarina no inverno de 2017 (PTT 162633) realizou um longo deslocamento até a latitude de 36,3ºS, paralelamente à costa, e chegou até a desembocadura do estuário do rio da Prata, percorrendo em média 81,6 km/dia. Este macho foi monitorado por um período de 33 dias e apresentou um padrão de uso de habitat bastante distinto dos outros indivíduos marcados, movendo-se principalmente entre as isóbatas de 10 e 50 metros de profundidade e percorrendo 2.692,5 km (**Figura V.2-12**). Em 2021 foram marcados um macho e um indivíduo de sexo não identificado no mesmo grupo (PTTs 208549 e 197771), num grupo de sete indivíduos. Os dados sugerem que os indivíduos marcados permaneceram no mesmo grupo, sendo que o indivíduo monitorado por um período um pouco maior iniciou um movimento no sentido sul, paralelo à linha de costa, chegando à latitude de 29,5º S. O terceiro indivíduo (PTT 224117) foi marcado na região de Cabo Frio, permanecendo nela durante todo o monitoramento.

Duas áreas de permanência (*area of restricted search* – ARS) foram identificadas na Bacia de Santos, sendo uma na região de Cabo Frio (associada ao PTT 224117) e outro na região do cânion de Cananéia (associada aos PTTs 158547 e 162628, marcados em 2016; 58013 e 58014, marcados em 2018;

197768 e 208549, marcados em 2020 e 2021, respectivamente), resultantes do modelo hierárquico de estado-espaço ajustado ao conjunto de indivíduos marcados. Não é possível especificar se estão relacionadas a alimentação ou reprodução, mas considerando o comportamento das orcas em geral, é possível que estejam relacionadas a ambos. Ao sul da Bacia de Santos não parece haver uma área específica de maior permanência, e o modelo indicou a predominância do estado comportamental de deslocamento/movimentação (*transiting* - TRA), associado ao movimento de dois indivíduos (PTTs 162633 e 197771) (**Figura V.2-13**)**.** Este resultado reforça a hipótese levantada por meio dos dados de fotoidentificação, ou seja, de que os animais apresentam algum grau de fidelidade ou residência na região do talude da Bacia de Santos, mas que usam áreas costeiras com frequência, principalmente no litoral de Cabo Frio, no Rio de Janeiro.

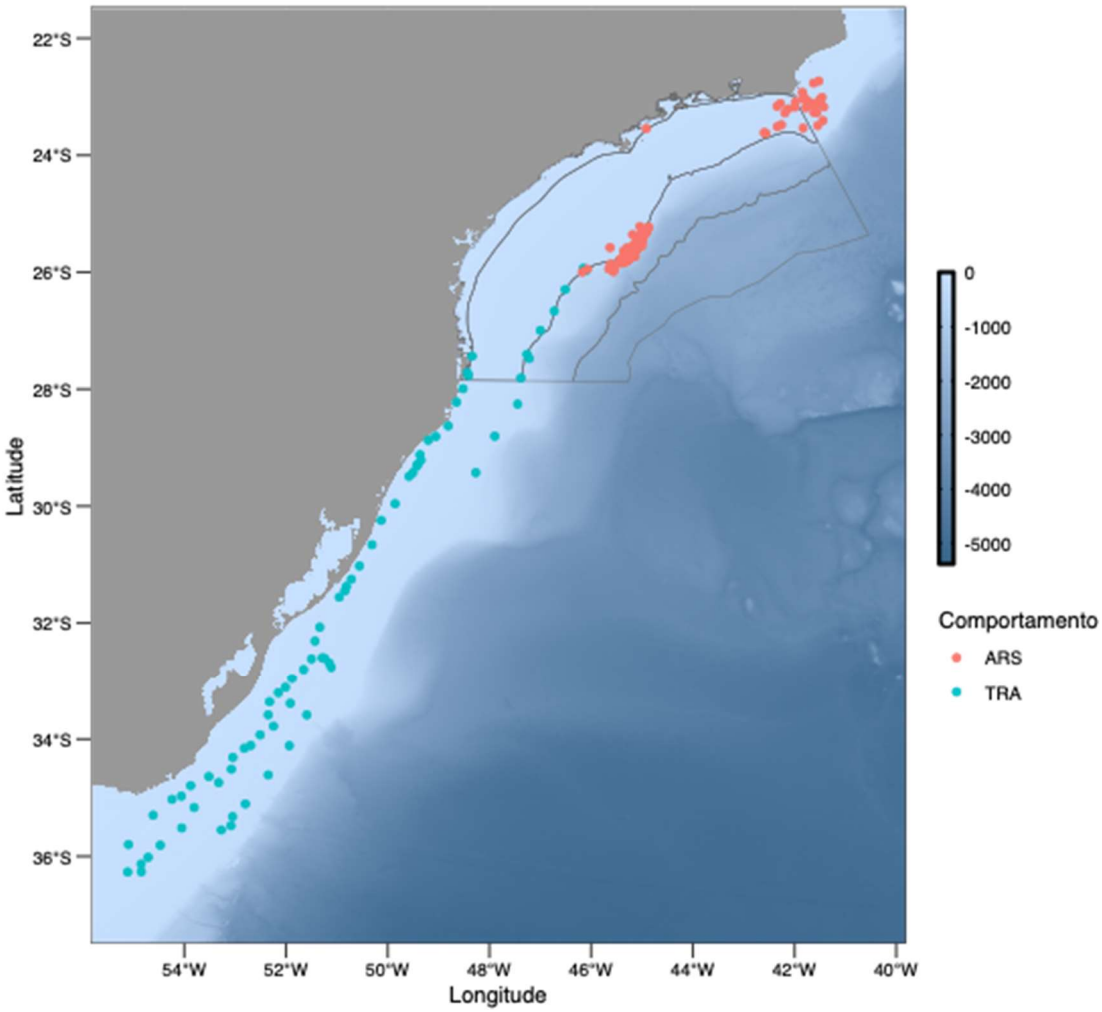


Figura V.2-13: *Movimentos de* ***Orcinus orca*** *obtidos para 10 indivíduos marcados com transmissores satelitais na Bacia de Santos entre os anos de 2016 a 2022 pelo PMC-BS. Estados comportamentais estimados pelo modelo hierárquico de estado-espaço estão representados com colorações diferentes: TRA (verde) = Transiting, que representa comportamento de movimento/deslocamento; ARS (laranja) = area of restricted-search, que representa alimentação ou reprodução (possivelmente, ambos). Barra lateral azul representa batimetria em metros.*

As orcas são cosmopolitas, ocorrem em ambientes costeiros e oceânicos, e se alimentam de uma ampla gama de presas, incluindo peixes, cefalópodes, tartarugas, aves e mamíferos marinhos (JEFFERSON et al., 2015). Há registros ocasionais de indivíduos solitários de orcas, ou grupos de tamanho variado, chegando a 11 indivíduos, no litoral dos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e

Santa Catarina, em todas as estações (SICILIANO et al., 1999; SANTOS et al., 2010; LODI; FARIAS-JÚNIOR, 2011; ATHAYDE et al., 2023). DI TULLIO et al. (2016) registraram apenas dois grupos de orcas na região do talude da Bacia de Santos, ambos no outono, enquanto WEDEKIN et al. (2014) registraram dois indivíduos no Banco de Vitória, a sudeste do Banco de Abrolhos, no inverno. No sul do Brasil, orcas foram registradas na região do talude durante interação com a pesca de espinhel do atum e peixe-espada (SECCHI; VASKE, 1998; DALLA-ROSA; SECCHI, 2007), com aparente padrão sazonal ocorrendo entre junho e outubro, o que coincide com o movimento dos PTTs 162633 e 197771, que ocorreram nos meses de julho e setembro. Com base em dados de fotoidentificação, ATHAYDE et al. (2023) registraram o movimento de três indivíduos entre o litoral sul do Rio de Janeiro e o litoral centro de Santa Catarina, e de dois indivíduos entre o litoral sul do Rio de Janeiro e o Uruguai.

Movimentos de **Globicephala macrorhynchus**

Até o momento, oito reavistagens via fotoidentificação de *G. macrorhynchus* foram realizadas pelo PMC-BS, todas em áreas próximas ao talude continental (**Figura V.2-14**). A importância do talude foi reforçada pelos dados de telemetria. Foram marcados cinco indivíduos da espécie. O primeiro foi marcado em 24/01/2019 (PTT 58016), e em duas ocasiões foram marcados dois indivíduos no mesmo grupo (13/07/2019 - PTTs 179340 e 179341) (02/12/2020 – PTTs 208554 e 208555). Em todos os casos, a identificação em nível de espécie foi feita por meio da análise genética de biópsias coletadas de indivíduos do grupo. A distância média percorrida foi de 1.569,9 km (**Figura V.2-14**).

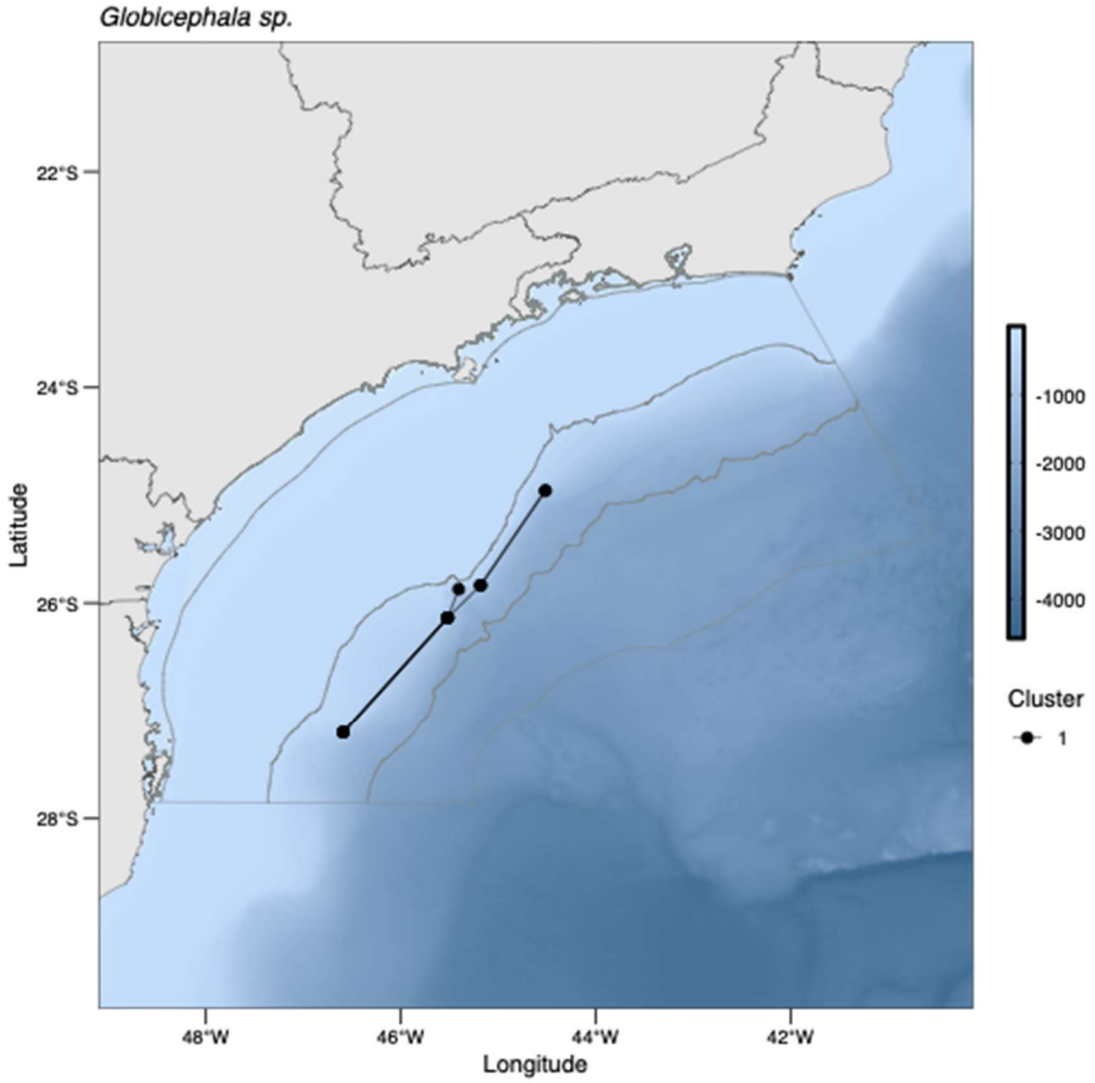


***Figura V.2-14**: Localização das oito reavistagens (pontos) de **Globicephala macrorhynchus** com representação de movimentos mínimos entre registros (linhas entre pontos). Os registros foram agrupados em um único agrupamento (Cluster 1) pelo algoritmo k-means. Barra lateral azul representa batimetria em metros.*

Oito indivíduos foram marcados, todos na região do talude, tanto no inverno como na primavera/verão, e os animais se mantiveram em áreas com profundidade entre 390 e 3.755 metros. A maior parte dos movimentos monitorados ocorreu na Bacia de Santos, especialmente ao longo do talude, incluindo os três machos para os quais foi possível a sexagem. Exceção foi o PTT 58016, marcado no verão e que seguiu em direção ao norte pelo talude até a região da Cadeia Vitória-Trindade (20,8°S). A partir deste ponto, o animal

retornou para o sul, adentrando novamente o talude na Bacia de Santos (**Figura V.2-15).** A grande maioria dos mergulhos deste indivíduo fora da Bacia de Santos foi rasa (< 100 m), o que sugere que este movimento não estava associado à alimentação. Outro caso foi o PTT 224112, que saiu da Bacia de Santos no sentido leste, com uma maior incidência de mergulhos profundos nesta região.

Em duas ocasiões foram marcados dois indivíduos no mesmo grupo, sendo uma no inverno (PTTs 179340 e 179341) e outra no verão (PTTs 208554 e 208555). Em ambos os casos os indivíduos permaneceram juntos, na mesma região, realizando movimento ao longo do talude. Para a primeira dupla foram registrados poucos mergulhos, que em sua grande maioria eram rasos, enquanto para a segunda dupla foi possível observar uma maior concentração de mergulhos profundos em determinadas regiões do talude. Esta associação entre indivíduos já foi registrada para dois machos jovens de *G. melas* a noroeste do Atlântico (NAWOJCHIK et al., 2003) e quatro indivíduos marcados no entorno das ilhas Faroe, incluindo dois machos adultos, um jovem e uma fêmea, que tinham relações de parentesco (BLOCH et al., 2003). No Atlântico Norte, uma associação de longa duração, de mais de dez anos, já foi registrada para um grupo de cinco indivíduos de *G. macrorhynchus* (ALVES et al., 2018).

As baleias-piloto-de-peitorais-curtas estão distribuídas em águas temperadas e tropicais de todos os oceanos, com limite latitudinal em 50ºN e 40ºS, geralmente em áreas oceânicas e nas proximidades do talude continental (OLSON, 2018). Em geral são nômades, embora algumas populações com algum grau de residência tenham sido registradas no Havaí (VAN CISE et al., 2017), nas Ilhas Madeira e na costa da Califórnia (ALVES et al., 2018; OLSON, 2018). Elas têm a capacidade de realizar mergulhos profundos para a captura de suas presas, o que está relacionado à sua ocorrência no ambiente oceânico, nas proximidades do talude (GARRISON, 2007; THORNE et al., 2017). Movimentos de grande extensão já foram registrados entre as ilhas Madeira e Açores, numa distância de mais de 2.000 km (ALVES et al., 2018).

Informações sobre a distribuição e movimentos de baleias-piloto no Atlântico Sul Ocidental são escassas e ocasionais. Os dados de telemetria do PMC-BS,

no entanto, confirmam a importância do talude para a alimentação. Os indivíduos marcados no inverno permaneceram mais ao sul da Bacia de Santos, o que pode estar relacionado a uma maior disponibilidade de alimento neste período do ano na região (ODEBRECHT; CASTELLO, 2001). O único indivíduo que seguiu para o norte foi marcado no verão e percorreu 2.746,1 km, com uma média de 85,8 km/dia, valor bem superior à média dos indivíduos que permaneceram no talude da Bacia de Santos, que foi de 54,1 km/dia. Considerando a profundidade dos mergulhos realizados mais ao norte, sugere-se que este tenha sido um movimento exploratório, não associado à alimentação. As baleias-piloto (*Globicephala* spp.) foram mais frequentes na região sul do talude, em comparação ao sudeste (com apenas dois registros), durante cruzeiros realizados nos anos de 2009 a 2014 (DI TULLIO et al., 2016).

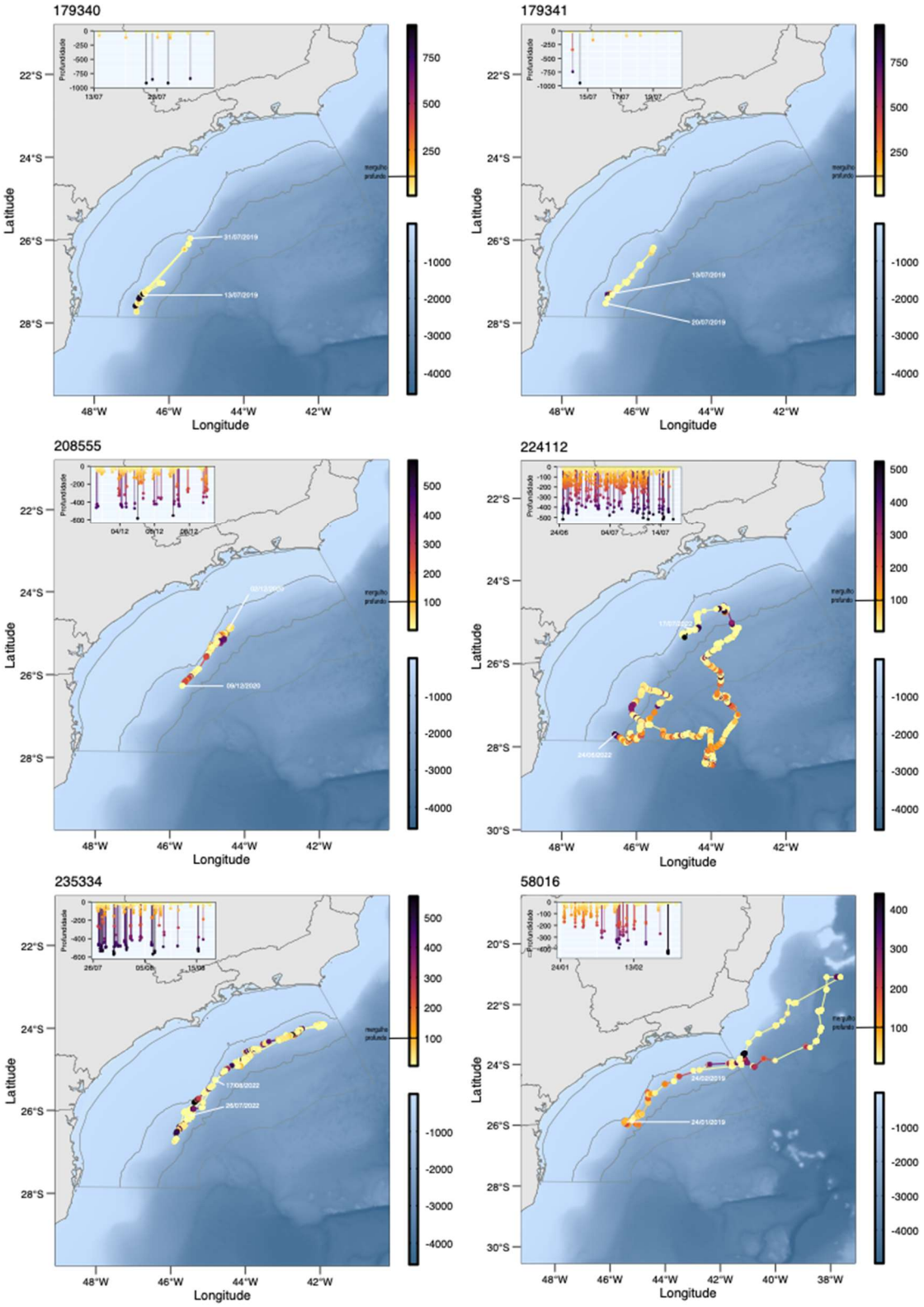


Figura V.2-15 *Movimentos de* ***Globicephala macrorhynchus*** *na Bacia de Santos obtidos para seis dos oito indivíduos marcados com transmissores satelitais. Apenas os movimentos mais longos foram representados.*

Gráficos no canto superior esquerdo dos mapas indicam variação da profundidade de mergulho em função do tempo. A variação da coloração dos gráficos coincide com a coloração das trajetórias e representa a profundidade de mergulho (quanto mais escuro, mais profundo). Barras superiores laterais aos mapas relacionam a escala de cores com a profundidade (em metros) dos gráficos e das trajetórias. Barras azuis laterais aos mapas representam a batimetria em metros.

Movimentos de **Tursiops truncatus**

Tursiops truncatus é a espécie com maior número de reavistagens: 98 indivíduos reavistados. O agrupamento realizado pelo algoritmo *k-means* sugere a separação das reavistagens em quatro áreas e indica um padrão de reavistagens nas proximidades de Cabo Frio (RJ) à Ilha Grande (RJ) – **Área 1**; entre Ilha Grande (RJ) e a Ilha de São Sebastião (SP) – **Área 2**; mais ao sul, entre Paranaguá (PR) e Florianópolis (SC) – **Área 3**; e em águas oceânicas – **Área 4** (**Figura V.2-16)**. Há vários movimentos longos entre as Áreas 1, 2 e 3.

Estes resultados indicam: a) a ocorrência de uma população costeira e transiente entre a Ilha de São Sebastião (SP) e Cabo Frio (RJ), com algum grau de fidelidade ao Arquipélago das Cagarras e adjacências (LODI et al. 2014), o que justifica, respectivamente, tanto os movimentos observados entre as áreas 1 e 2, quanto as muitas reavistagens na área 1; b) a ocorrência de longos e frequentes movimentos que conectam as áreas 1 e 2 com a área 3, com destaque para um indivíduo observado nas três áreas, em um movimento linear de no mínimo 700 km. Destaca-se que, com exceção de um indivíduo, todas as outras 56 reavistagens eram de indivíduos do ecótipo oceânico (SIMÕES-LOPES et al., 2019), porém observados em áreas próximas a costa. A única reavistagem do ecótipo costeiro, via comparação de catálogos, ocorreu na área 3 e foi de um indivíduo conhecido da população de Laguna (SC) que foi observado pelo PMC-BS em Itajaí (SC; ~150 km ao norte). Apenas três indivíduos, observados no mesmo grupo, foram reavistados na região oceânica, nas proximidades do talude. O primeiro registro ocorreu em setembro 2018 na latitude de Florianópolis (SC; área 4) e, 27 meses depois, estes indivíduos foram observados novamente juntos, praticamente na mesma área. Assim como neste

caso, outras 17 reavistagens sugeriram certa estabilidade de grupo, uma vez que os mesmos indivíduos avistados em momento anterior no mesmo grupo foram reavistados novamente, ainda juntos. Esse padrão ocorreu em especial nas áreas 1 e 2, indicando a ocorrência de um grande e estável grupo, que usa com frequência as águas costeiras dessa faixa de costa (**Figura V.2-16**). Em resumo, os dados de fotoidentificação sugerem a ocorrência de áreas frequentemente visitadas pelos mesmos indivíduos, movimentos longos entre essas áreas e algum grau de estabilidade na composição dos grupos avistados.

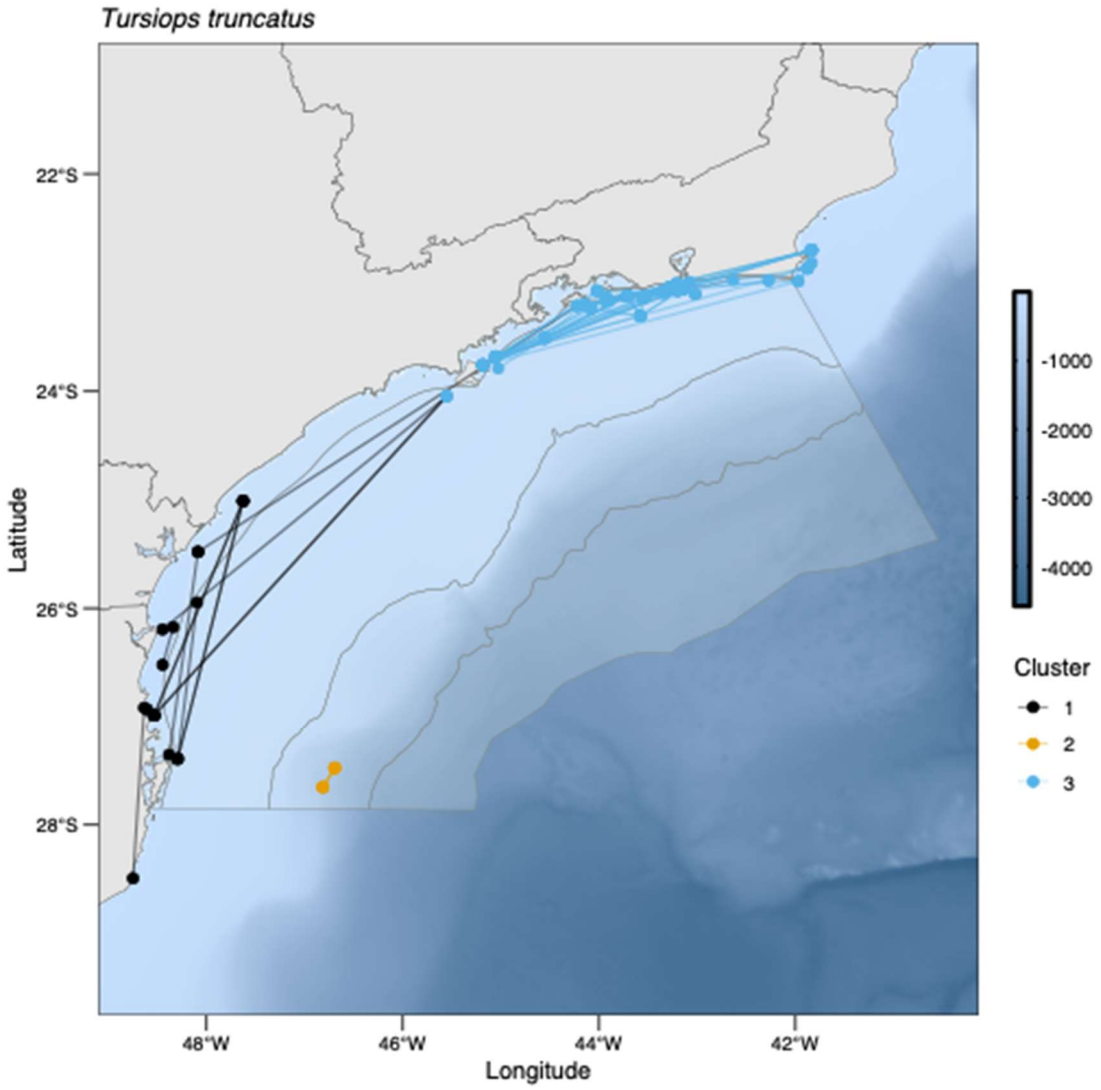


Figura V.2-16: *Localização das reavistagens (pontos) de* ***Tursiops truncatus*** *com representação de movimentos mínimos entre registros (linhas entre pontos) e dos agrupamentos identificados pelo k-means. Os registros*

foram agrupados em três agrupamentos (Cluster 1, 2 e 3) pelo algoritmo k-means. Barra lateral azul representa batimetria em metros.

Tursiops truncatus é a segunda espécie com o maior número de transmissores satelitais instalados. Dentre os 18 indivíduos marcados, não houve a transmissão de dados para dois indivíduos, e para um terceiro foram obtidos poucos registros que, após a filtragem, foram descartados. A duração do monitoramento variou de 1 a 20 dias e todos os indivíduos realizaram movimentos latitudinais. Dados sobre associação entre indivíduos também foram obtidos por meio da telemetria satelital. Os indivíduos PTT 58017 e PTT 162636 foram marcados no mesmo grupo no inverno, na latitude 23,1ºS. Os dados sugerem que eles se mantiveram no grupo por pelo menos três dias e então se separaram. Cinco dias depois da marcação, o PTT 162636 deslocou-se para o sul até a latitude de 31,0°S durante seis dias, e o PTT 58017 se movimentou para o norte até a latitude de 22,9ºS. Ambos permaneceram próximos à costa. O PTT 162632 e o PTT 162637 também foram marcados durante o verão no mesmo grupo próximo à Ilha de Santa Catarina (27,3ºS). Os dados indicam que eles se mantiveram no grupo por pelo menos sete dias. O movimento do PTT 166665 também foi similar ao do PTT 34751. Esses indivíduos também foram marcados no verão no mesmo grupo na latitude de 23,0^0 S. Neste caso, os dados indicam que a permanência dentro de um grupo se prolongou por pelo menos 11 dias, período no qual se movimentaram ao longo da costa.

Quatorze indivíduos foram marcados na região costeira e um na região oceânica, próximo do talude. A distância média percorrida foi de 58,3 km/dia, variando de 7,1 a 120,7 km/dia. A maioria dos animais marcados se movimentou ao longo da costa sul e sudeste da Bacia de Santos, entre 22,2º a 28,4°S. Desses, três animais se movimentaram entre o Paraná e Santa Catarina (PTT 158551, marcado em 25/02/2016; PTT 162632, fêmea marcada em 24/02/2017; PTT 162637, marcado em 24/02/2017), dois animais permaneceram ao longo da costa de Santa Catarina (PTT 158544, marcado em 17/03/2016; PTT 224123, marcado em 28/07/22), seis animais se movimentaram ao longo da costa do Rio de Janeiro (PTT 162634, fêmea marcada em 14/02/2017; PTT 166663, marcado

em 20/07/2017; PTT 34751, marcado em 30/03/2018; PTT 34754, marcado em 03/04/2018; PTT 58008, marcado em 28/01/2020; PTT 224118, marcado em 16/07/2022), e dois indivíduos se movimentaram entre a costa de São Paulo e Rio de Janeiro (PTT 166665, marcado em 30/03/2018; PTT 58017, marcado em 28/07/2018). Apenas um indivíduo foi marcado na região oceânica e se manteve na região, próximo ao talude (PTT 162631, marcado em 06/09/2916 ao norte da Bacia de Santos). Apenas um indivíduo (PTT 162636), marcado em 28/07/2018, realizou um movimento de longa distância, percorrendo 1.810 km, com uma média de 120,7 km/dia, em direção à costa do Rio Grande do Sul até a latitude de 31,0ºS.

Todos os indivíduos marcados tinham um padrão de coloração típico do ecótipo oceânico da espécie (SIMÕES-LOPES et al., 2019) e as biópsias, coletadas de indivíduos de todos os grupos, indicam que eles apresentam haplótipos do ecótipo oceânico na região-controle do DNA mitocondrial. Os dados apontam que o ecótipo oceânico de *T. truncatus* realiza deslocamentos latitudinais de longa distância, com uma extensa área de vida ao longo da costa sul e sudeste do Brasil. Movimentos longitudinais, ao longo da plataforma, não foram registrados.

Dados de 12 indivíduos foram utilizados para o modelo hierárquico de estado-espaço e permitiram identificar a ocorrência dos dois padrões comportamentais classificados pelo modelo, sendo identificadas três áreas de permanência (ARS – *area of restricted-search*), que podem estar relacionadas a comportamentos de alimentação e/ou reprodução: entre o litoral sul do Rio de Janeiro e norte de São Paulo; litoral centro-norte de Santa Catarina; e litoral central do Rio Grande do Sul. As outras áreas se caracterizaram como sendo de deslocamento/movimentação **(Figura V.2-17).** Este resultado reforça a hipótese levantada pelos dados de fotoidentificação, de que os animais apresentam algum grau de fidelidade em regiões ao longo do litoral da Bacia de Santos.

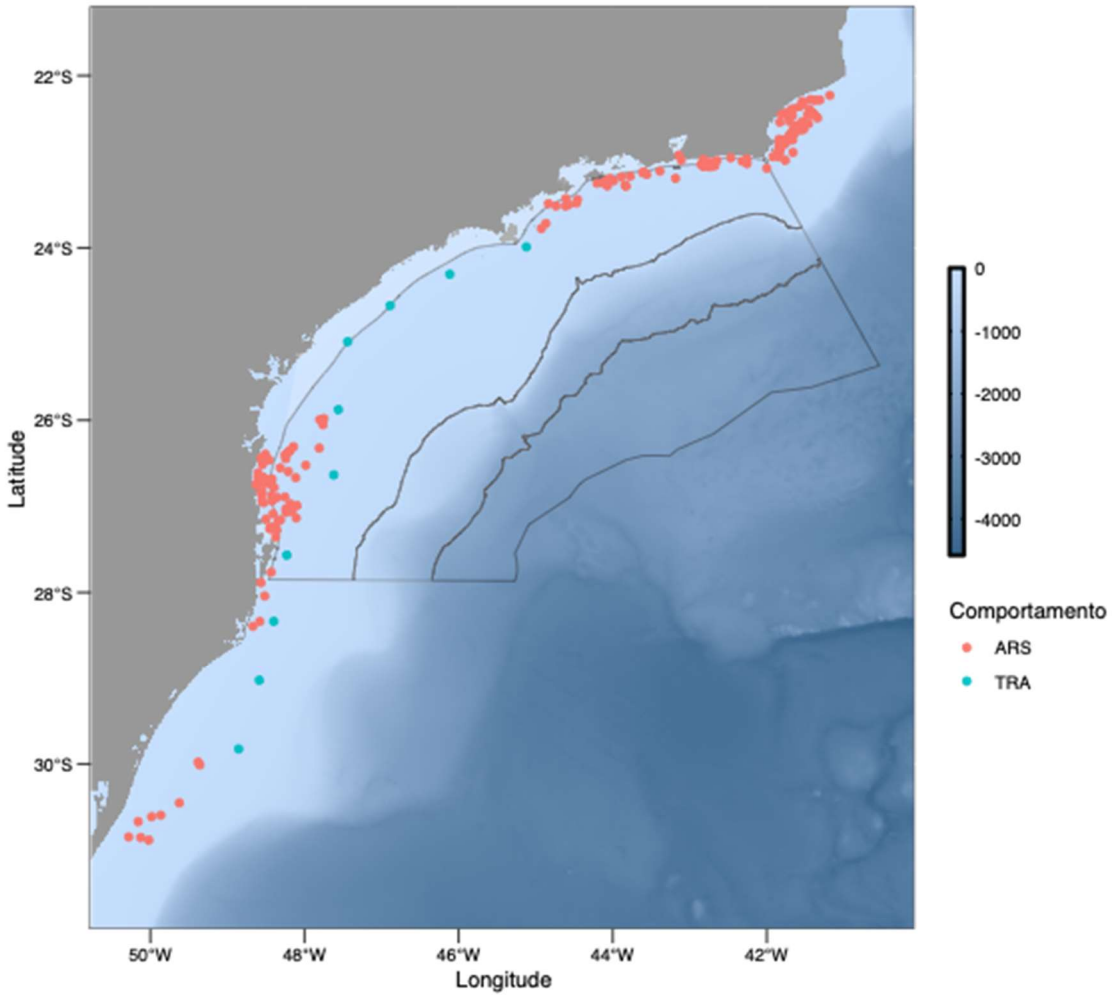


Figura V.2-17 *Movimentos de* ***Tursiops truncatus*** *na Bacia de Santos obtidos para 12 indivíduos marcados com transmissor satelital. Estados comportamentais estimados pelo modelo hierárquico de estado-espaço estão representados com colorações diferentes: TRA (verde) = Transiting, que representa comportamento de movimento/deslocamento; ARS (laranja) = area of restricted-search, que representa alimentação ou reprodução (possivelmente, ambos). Barra lateral azul representa batimetria em metros*

Todas as reavistagens de fotoidentificação mostraram movimentos no sentido norte-sul ocorrendo justamente dentro das áreas de maior intensidade de uso identificadas pela telemetria satelital, que são a região entre o sul do Rio de Janeiro e o norte de São Paulo e o Paraná e o norte de Santa Catarina. No entanto, alguns indivíduos fotoidentificados nas áreas 1 e 2, e reavistados na

área 3, sugerem um movimento semelhante ao registrado pelo PTT 161636, ou seja, cruzando a região entre as áreas de maior intensidade de uso. Caso o padrão de movimento, em termos sazonais e direcionais, se repita em anos seguintes, ele deve indicar um evento condicionado ao movimento de presas específicas.

Tursiops truncatus é uma espécie de ampla distribuição. Ela ocorre em águas tropicais e temperadas e ocupa uma variedade de habitats, incluindo águas pelágicas, baías costeiras e estuários ao longo de toda a sua distribuição. No Brasil, a espécie está distribuída de forma contínua ao longo da costa de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, onde o ecótipo costeiro forma populações residentes em quatro diferentes sistemas estuarinos, desde Laguna, SC, até a Lagoa dos Patos, RS (SIMÕES-LOPES; FABIÁN, 1999; FRUET et al., 2014), que são as mais conhecidas em todo o Atlântico Sul Ocidental.

A fotoidentificação ajudou a descrever movimentos de indivíduos do ecótipo costeiro a uma distância de até 314 km, entre o Rio Grande do Sul e Santa Catarina (SIMÕES-LOPES; FABIÁN, 1999). No litoral do Rio de Janeiro, houve o registro do deslocamento de oito indivíduos por uma distância de 100 km ao longo da costa (LODI et al., 2008). Ao norte da Ilha de Santa Catarina (SC), também há registros de grupos com até 200 indivíduos próximos à costa (WEDEKIN et al., 2008). As reavistagens aqui apresentadas reforçam esses longos movimentos. Já a região oceânica proporciona registros pontuais de ocorrência da espécie, não havendo informações disponíveis sobre os padrões de distribuição e movimento de tais populações (WEDEKIN et al., 2014). No entanto, este relatório apresenta a reavistagem, com intervalo de tempo considerável, de três indivíduos em uma área oceânica, nas proximidades do talude, sugerindo uma possível utilização recorrente de áreas com alta disponibilidade de recurso.

V.2.3 Estrutura Genética Populacional

A identificação de populações distintas de cetáceos é fundamental para definir estratégias adequadas de proteção e manejo para as populações consideradas Unidades Evolutivamente Significativas (*Evolutionarily Significant Unit - ESU*). Embora não existam barreiras físicas óbvias nos oceanos que impeçam o fluxo gênico e a maioria dos cetáceos possuam alta capacidade de dispersão, várias espécies possuem maior estrutura populacional do que seria esperado devido a adaptação e evolução a diferentes habitats ou mesmo em simpatria como resultado de especializações alimentares.

A genética molecular tem sido amplamente utilizada para análise de estrutura populacional em cetáceos, sendo de grande importância para identificar unidades de conservação e estimar fluxo gênico entre as populações (HOELZEL, 2002). Portanto, a técnica pode auxiliar na avaliação da estrutura populacional das diferentes espécies de cetáceos da Bacia de Santos, e consequentemente fornecer informações importantes sobre ocorrência, distribuição e uso de habitat.

Nos anos anteriores a estrutura genética populacional foi investigada para as três espécies (*Tursiops truncatus*, *Stenella frontalis* e *S. longirostris*) com maior número amostral ao longo do PMC-BS, sendo que *T. truncatus* e *S. frontalis* foram amostradas tanto em áreas costeiras quanto em áreas oceânicas. Além disso, a estrutura populacional e as relações filogenéticas entre as baleias-sei (*Balaenoptera borealis*) amostradas na Bacia de Santos, Oceano Atlântico Sul Ocidental, e a população de *B. borealis* do Oceano Atlântico Norte foram investigadas (ver PETROBRAS, 2023a). Como o tamanho amostral para essas quatro espécies não aumentou consideravelmente nesse ano, não houve mudança siginifcativa nos resultados e um breve resumo do que foi encontrado para cada espécie é relatado abaixo.

Para o golfinho-nariz-de-garrafa, que foi a segunda espécie com maior amostragem ao longo do PMC-BS, oito novas amostras foram coletadas nesse ano, totalizando 114 amostras, mas não houve haplótipo novo, portanto, não alterando os resultados anteriores. A maioria dos indivíduos de *T. truncatus* foi

amostrada mais próximo à costa (n = 87), em profundidades menores que 60 metros, e o restante (n = 27) amostrado em áreas oceânicas, no talude continental (**Figura V.2-18**). Conforme relatado nos Relatórios Anuais e Consolidado do PMC-BS (PETROBRAS, 2023a), as análises genéticas de estrutura populacional confirmaram que tanto os indivíduos amostrados mais próximo à costa quanto os amostrados em áreas oceânicas da Bacia de Santos pertencem ao ecótipo oceânico ou subespécie *T. truncatus truncatus*, corroborando os dados morfológicos de coloração mais escura, nadadeira dorsal falcada e o rostro mais curto encontrada nesses indivíduos (SIMÕES-LOPES et al., 2019).

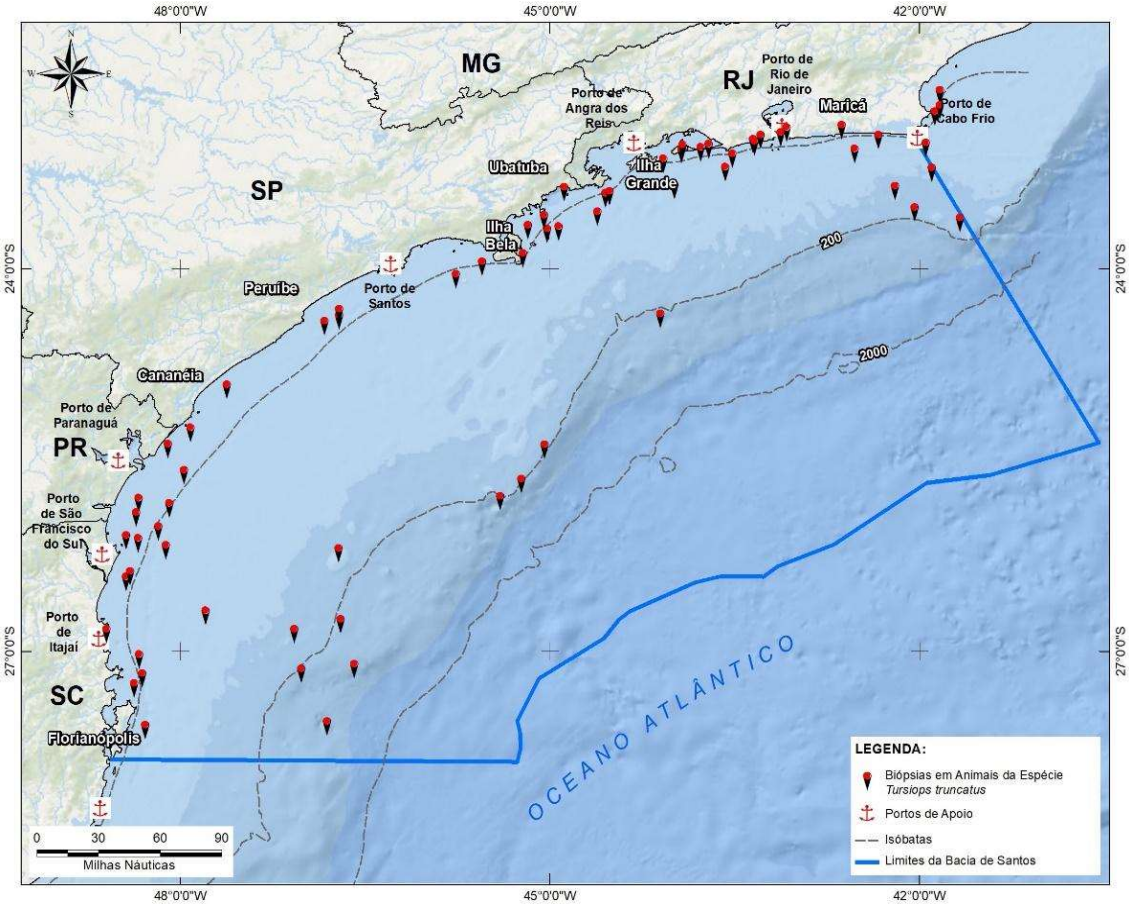


Figura V.2-18: *Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de* ***Tursiops truncatus****. Os pontos vermelhos representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados.*

Além disso, não houve diferenciação genética mitocondrial entre *T. truncatus truncatus* costeiros e oceânicos. Embora uma fraca diferenciação genética nuclear foi encontrada entre esses indivíduos, provavelmente devido a um isolamento por distância, o baixo valor de F_{ST} para os microssatélites e a dificuldade para detectar estruturação pelo STRUCTURE sugerem que um fluxo gênico ocorre entre os grupos costeiros e oceânicos. No entanto, o monitoramento a longo prazo, com constante amostragem, aumentando principalmente o n amostral da região oceânica, e análises mais robustas vão aprimorar os resultados em escala mais fina e permitir uma avaliação mais completa do *status* dessa subespécie na Bacia de Santos.

Ao longo dos oito anos do PMC-BS, o golfinho-pintado-do-Atlântico foi a espécie com maior amostragem (n = 158), sendo que 16 indivíduos foram amostrados nesse ano, mas nenhum com haplótipo novo. No Atlântico Sul Ocidental, a distribuição dos golfinhos-pintado-do-Atlântico é descontínua com ocorrência na costa e no Talude, com profundidade variando entre 20 e 200 metros, além de registros na isóbata de 1000 metros ou mais. Além disso, no Brasil existem duas regiões de concentração com uma descontinuidade (entre 6°S e 18°S) entre elas: uma no sul-sudeste entre 21°S e 33°S, separada da outra ao norte por mais de 1300 km (MORENO et al., 2005). Nas campanhas do PMC-BS, 88 indivíduos foram amostrados mais próximos à costa (profundidade abaixo de 80 metros) e 70 indivíduos em áreas oceânicas (profundidades de ~ 100 a 200 metros) (**Figura V.2-19**).

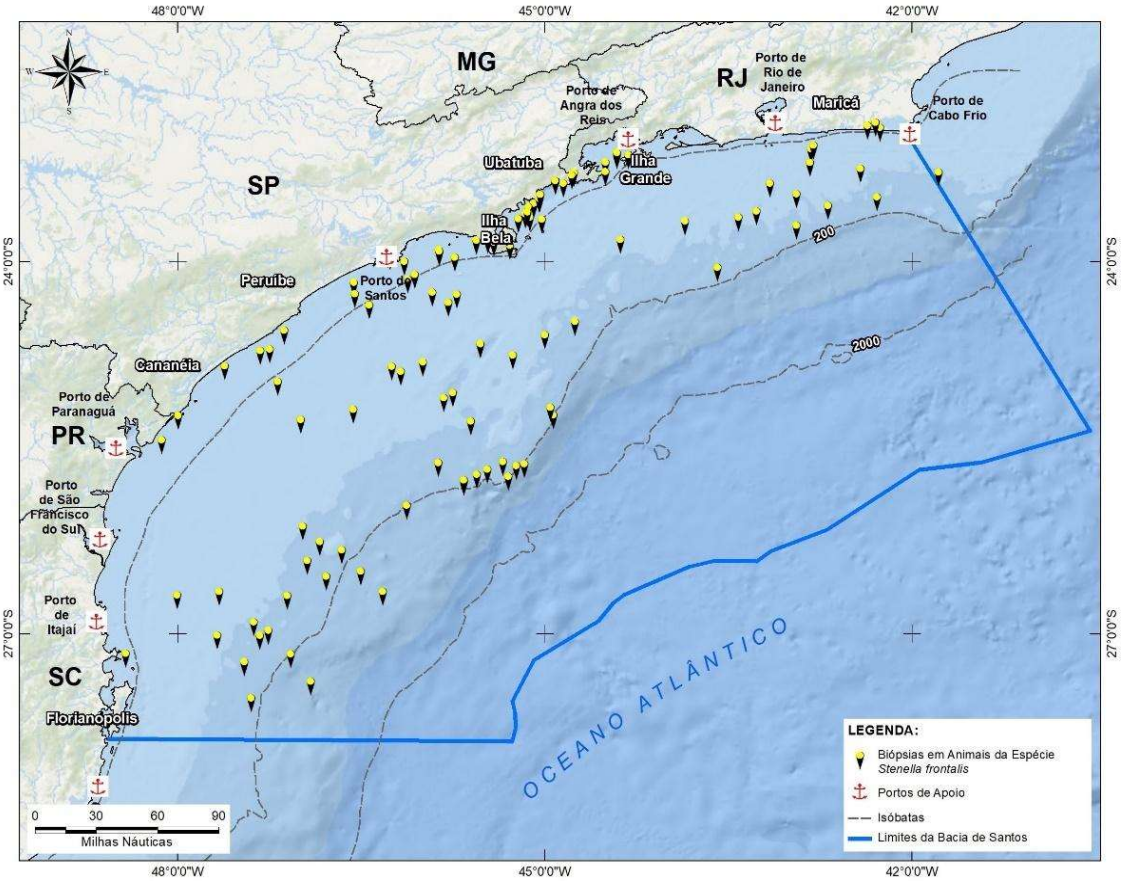


Figura V.2-19: *Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de* ***Stenella frontalis****. Os pontos amarelos representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados.*

Embora estudos moleculares recentes sugiram que a população de *S. frontalis* do sul-sudeste está reprodutivamente isolada das populações no nordeste do Brasil e no Caribe (CABALLERO et al., 2013; DO AMARAL et al., 2021) não se sabe se existe diferenciação genética populacional entre os indivíduos costeiros e oceânicos da Bacia de Santos como ocorre no oeste do Atlântico Norte. Conforme descrito nos relatórios anteriores, uma diferenciação significativa moderada para o DNAmt foi encontrada entre os indivíduos costeiros e oceânicos. Para os locos de microssatélites, também foi encontrada uma diferenciação significativa entre os *S. frontalis* costeiros e oceânicos, mas bem mais fraca do que aquela obtida com o DNAmt (ver PETROBRAS, 2023).

Adicionalmente, as relações filogenéticas dos *S. frontalis* amostrados na

Bacia de Santos com as populações da espécie no Atlântico Norte (Arquipélago de Madeira, Arquipélago dos Açores e Ilhas Canárias, Bahamas, leste e oeste do Golfo do México, *Mid Atlantic Bight* e South Atlantic Bight), no Caribe, e com a população do nordeste do Brasil foram investigadas. Cinco haplótipos foram compartilhados entre os indivíduos amostrados na Bacia de Santos e aqueles amostrados no Arquipélago dos Açores, leste do Golfo do México e *South Atlantic Bight*. Além disso, na análise filogenética os haplótipos de *S. frontalis* de ambos os oceanos não formaram clados separados, nem distinguiu os golfinhos-pintados-do-Atlântico do morfotipo costeiro e oceânico do Atlântico Norte. Essa ausência de monofilia recíproca e a presença de haplótipos compartilhados pode ser o resultado de divergência recente e/ou um grande tamanho de população ancestral em vez de fluxo gênico. No entanto, a incapacidade de diferenciar entre os grupos também pode ser devido à baixa eficácia da análise associada ao pequeno fragmento da região controle do DNAmt e o uso de sequências mais longas, ou genomas mitocondriais inteiros, pode melhorar a resolução filogenética.

A Bacia de Santos (entre 23°S e 28°S) deve ser o principal habitat dessa população de *S. frontalis* do sul-sudeste do Brasil e do ponto de vista conservacionista merece especial atenção. Portanto, considerando a escassez de dados sobre a espécie no Atlântico Sul Ocidental, os resultados apresentados nos Relatórios Anuais e Consolidado do PMC-BS, apesar de preliminares, são importantes para a compreensão da estrutura genética populacional do golfinho-pintado-do-Atlântico na Bacia de Santos. E uma constante amostragem com o aumento do *n* amostral a longo prazo permitirá análises mais robustas e resultados mais acurados para a espécie.

O golfinho-rotador foi a terceira espécie de cetáceo mais amostrada (n = 76) do PMC-BS, sendo que 10 amostras foram coletadas nesse ano, mas somente uma com haplótipo novo. No Brasil a distribuição da espécie está entre 1°S e 30°S ao longo da quebra da plataforma continental (DO AMARAL et al., 2015), e uma população insular é encontrada no Arquipélago de Fernando de Noronha (SILVA-JR, 1996). Portanto, na Bacia de Santos todos os indivíduos foram amostrados em área oceânica (profundidades de ~ 200 a 2000 metros) devido a

ocorrência da espécie nessa área (**Figura V.2-20**).

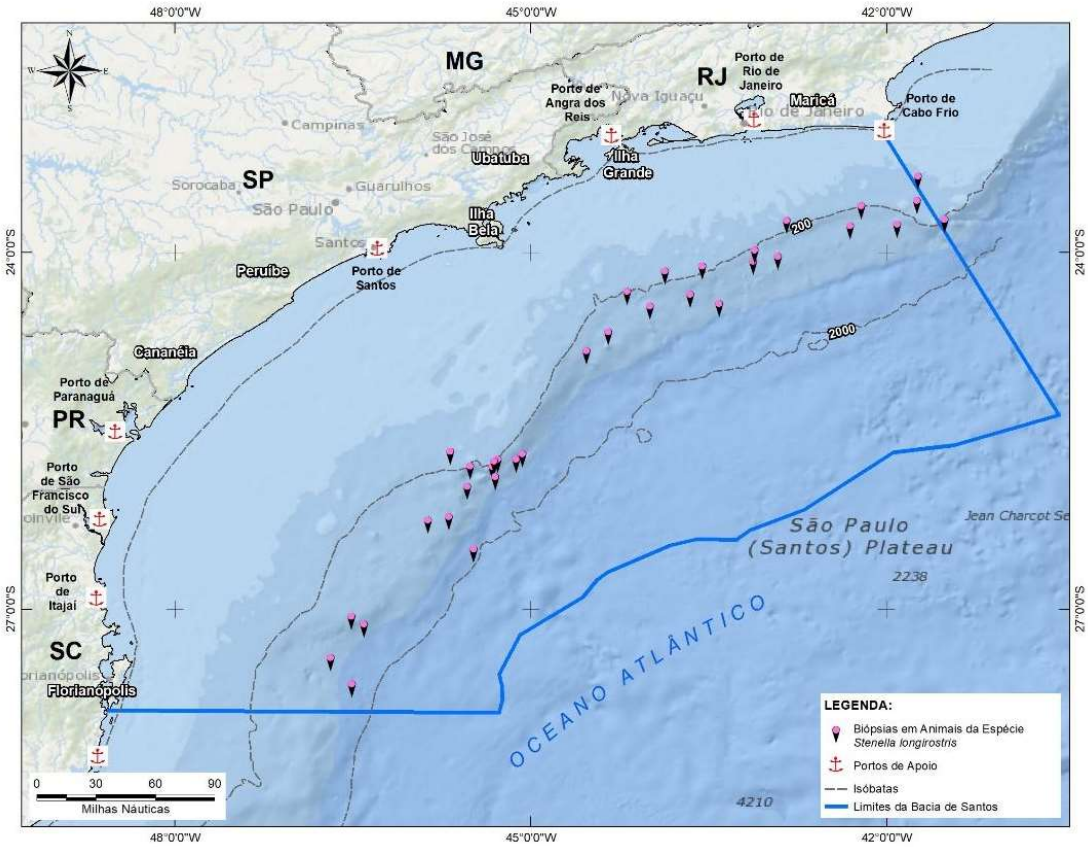


Figura V.2-20: *Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de* ***Stenella longirostris****. Os pontos rosas representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados.*

Conforme demonstrado no Relatório Anual passado, as análises genéticas de estrutura populacional confirmaram que os indivíduos de *S. longirostris* amostrados na Bacia de Santos pertencem a uma única população, que apresenta alta diversidade genética e uma alta diferenciação da população de golfinhos-rotadores do Arquipélago de Fernando de Noronha, a qual possui uma baixa diversidade genética (ver PETROBRAS, 2023a). Além disso, os dados corroboraram o isolamento e a fidelidade geográfica da população de Fernando de Noronha, mostrando que esses golfinhos são mais diferenciados de todas as populações da espécie (FARIA et al., 2020). Esses resultados apresentados no relatório passado do PMC-BS são importantes para a compreensão da estrutura

genética populacional da espécie na Bacia de Santos e sua relação com outras populações.

A baleia-sei foi a espécie de misticeto com maior amostragem (n = 40) do PMC-BS, sendo três indivíduos amostrados no inverno do ano passado, mas somente um com haplótipo novo (**Figura V.2-21**).

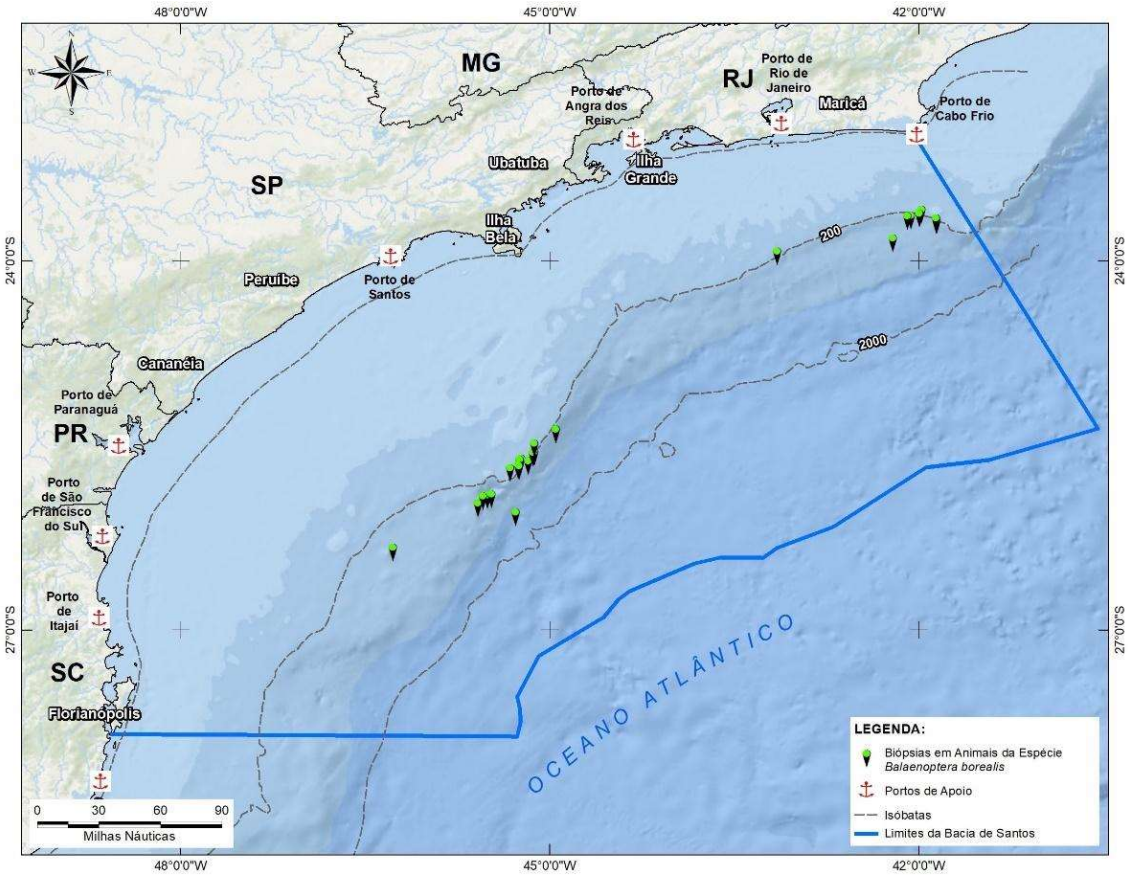


Figura V.2-21: *Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de* ***Balaenoptera borealis****. Os pontos verdes representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados.*

No Hemisfério Sul, a principal concentração de verão de *B. borealis* está entre 40°S e 50°S, e no inverno a ocorrência da espécie está correlacionada com águas pelágicas e a quebra da plataforma continental. Registros da espécie no Arquipélago de Trindade e Martins Vaz, incluindo grupos com filhotes (HEISSLER et al., 2016), e as avistagens regulares na área oceânica da Bacia

de Santos durante as campanhas de inverno do PMC-BS, sugerem que essas águas fazem parte da área de reprodução da espécie no Oceano Atlântico Sul Ocidental. Além disso, a reavistagem de um indivíduo foto-identificado no inverno na Bacia de Santos e posteriormente no verão nas Ilhas Falkland (WEIR et al., 2020), descreve o movimento mais longo para a espécie nesse oceano, sugerindo a ligação entre essas áreas de reprodução e alimentação.

Nos Relatórios Anuais anteriores e Consolidado do PMC-BS, foram investigadas a estrutura populacional e as relações filogenéticas entre as baleias-sei amostradas na Bacia de Santos e a população da espécie no Atlântico Norte. Os resultados, baseados nos dados de DNA mitocondrial, apresentados nestes relatórios, indicaram que as baleias-sei dos oceanos Atlântico Norte e Sul são geneticamente distintas (ver PETROBRAS, 2023a). A alta diferenciação entre essas populações era esperada devido à oposição sazonal do ciclo migratório, pois quando as baleias do norte estão em águas tropicais, as suas coespecíficas estão em águas polares, e seis meses mais tarde a situação se inverte. Além disso, a população de baleias-sei do Atlântico Norte apresentou uma diversidade genética intermediária e a rede haplotípica em formato de estrela, indica uma expansão populacional, como já foi sugerido em estudo anterior (HUIJSER et al., 2018).

No entanto, o compartilhamento do haplótipo Hap 6 encontrado em um indivíduo do Arquipélago dos Açores e uma fêmea amostrada na Bacia de Santos sugere uma recente migração da linhagem maternal do oceano Atlântico Sul para o Atlântico Norte. Embora preliminares, estes resultados são os primeiros para a espécie no Oceano Atlântico Sul Ocidental e são importantes para a compreensão da estrutura genética populacional, das conexões migratórias e do isolamento das baleias-sei nesse oceano.

Neste relatório anual, a estrutura genética populacional e as relações filogenéticas com outras populações foram investigadas para duas espécies de delfinídeos (*Delphinus delphis* e *Steno bredanensis*).

V.2.3.1 Resultados - Estrutura genética Delphinus delphis

Ao longo do PMC-BS, o golfinho-comum-de-bico-curto (*Delphinus delphis*) foi a quarta espécie de delfinídeo mais amostrada (n = 33), sendo que todos os indivíduos (exceto um amostrado na quebra da plataforma continental a ~ 100 metros de profundidade) foram amostrados em área costeira (profundidades de ~ 20 a 40 metros) estendendo de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, a Peruíbe, São Paulo (**Figura V.2-22**). A espécie tem uma ampla distribuição em águas tropicais e temperadas dos Oceanos Atlântico e Pacífico, além dos Mares Mediterrâneo e Negro.

No Atlântico Sul Ocidental, os golfinhos-comuns estão associados as áreas de alta produtividade e separados em três potenciais estoques: um localizado ao norte do Brasil (0-1°S, Pará e Maranhão), o segundo estendendo do Rio de Janeiro até Florianópolis, Santa Catarina (entre 22°S e 28°S), e o terceiro englobando os espécimes do Rio Grande do Sul a Argentina (entre 29°S e 42°S). No entanto, no sudeste do Brasil os golfinhos-comuns apresentam hábitos mais costeiros, estendendo de 18 a 70 metros, enquanto no sul os indivíduos são avistados em águas mais profundas, entre 71 e 1435 metros, sendo comuns próximos a quebra da plataforma continental (TAVARES et al., 2010). Os indivíduos amostrados na Bacia de Santos fazem parte do estoque do sudeste e de fato foram avistados mais próximos a costa.

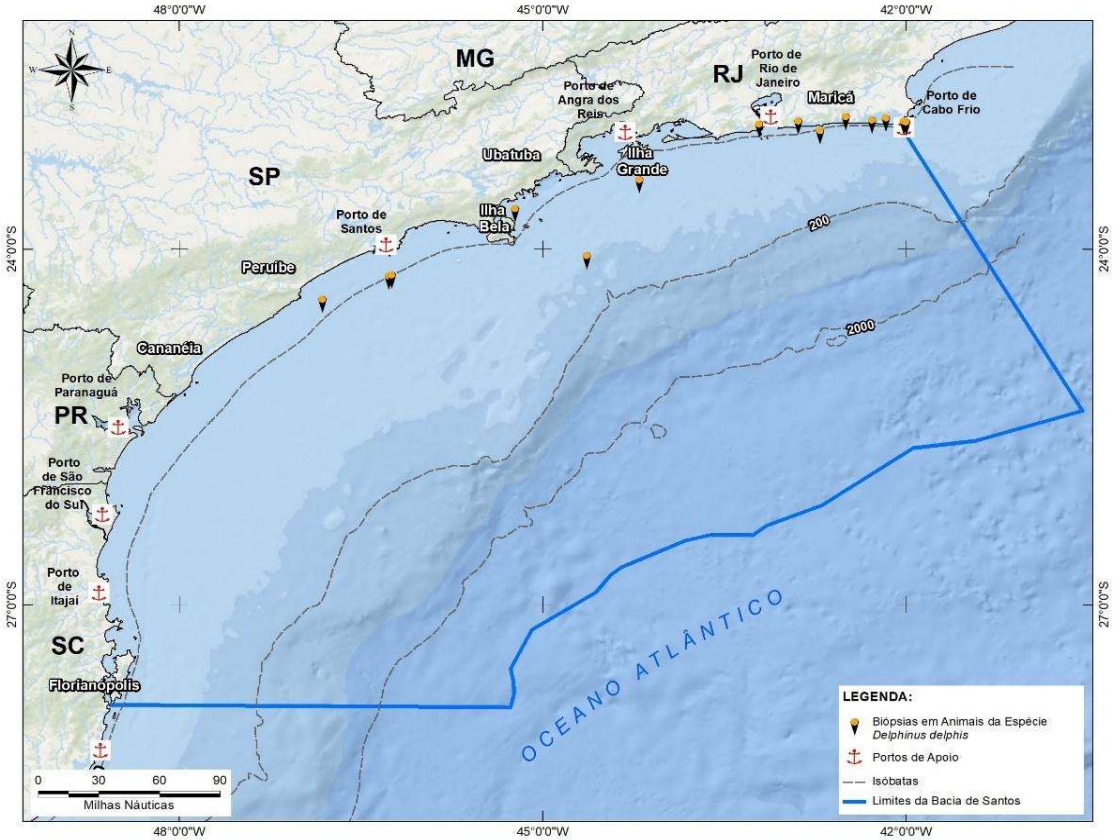


Figura V.2-22: *Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de* ***Delphinus delphis*** *na Bacia de Santos. Os pontos amarelos representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados.*

A taxonomia do gênero *Delphinus* é ainda controversa devido à discordância entre a classificação baseada em dados morfológicos e a baseada em dados genéticos. No Brasil, apesar dos estudos baseados em morfologia indicarem a presença das duas espécies (*D. delphis* e *D. capensis*) (TAVARES et al., 2010), um estudo genético recente indica a presença de somente uma espécie, *D. delphis* (CUNHA et al., 2015). De fato, dados genéticos consistentemente indicam que os golfinhos-comuns-de-bico-curto e golfinhos-comuns-de-bico-longo do Oceano Atlântico não formam grupos reciprocamente monofiléticos (NATOLI et al., 2006; AMARAL et al., 2007; CUNHA et al., 2015). Cunha et al. (2015) sugeriram que a diferença no comprimento do rostro que distingue os dois morfotipos parece estar relacionada a especialização de nicho (plasticidade fenotípica), e não à especiação.

Embora, durante a última década *D. delphis* vem sendo bem estudada no Oceano Atlântico Norte, existe uma carência de informações sobre a espécie e quantas populações existem em toda a sua área de distribuição no Oceano Atlântico Sul. Além disso, não se sabe se existe mais de uma população da espécie dentro da Bacia de Santos, e qual a relação filogenética desses golfinhos-comuns-de-bico-curto com outras populações que ocorrem no Oceano Atlântico.

Primeiro, a existência de estruturação genética e o provável número de populações (K) de *D. delphis* na Bacia de Santos foi avaliada usando os locos de microssatélites através da análise bayesiana no programa STRUCTURE 2.3.3. Cinco corridas independentes foram realizadas para cada número de agrupamento (K) entre 1 e 4, com nenhuma informação sobre local de amostragem, usando os modelos de "*admixture*" e "*correlated allele frequencies*", com eliminação das 500.000 primeiras iterações (*burn-in*) e uma amostragem de 1.000.000 iterações na Cadeia de Markov.

Os resultados gerados foram processados no STRUCTURE HARVESTER 0.6.94 (EARL; VONHOLDT, 2012), que determina o melhor número de agrupamentos usando o método de Evanno (EVANNO et al., 2005). Os múltiplos resultados gerados pelo STRUCTURE foram resumidos no CLUMPP (JAKOBSSON; ROSENBERG, 2007) e exibidos graficamente pelo DISTRUCT (ROSENBERG, 2004).

Embora o método ΔK de Evanno favoreceu K = 2 (**Figura V.2-23**), a maior probabilidade posterior (Mean LnP(K) = -961,74) foi de K = 1 e não houve diferença nos valores de atribuição entre os indivíduos nos gráficos (**Figura V.2-24**), indicando uma única população de *D. delphis* na Bacia de Santos.

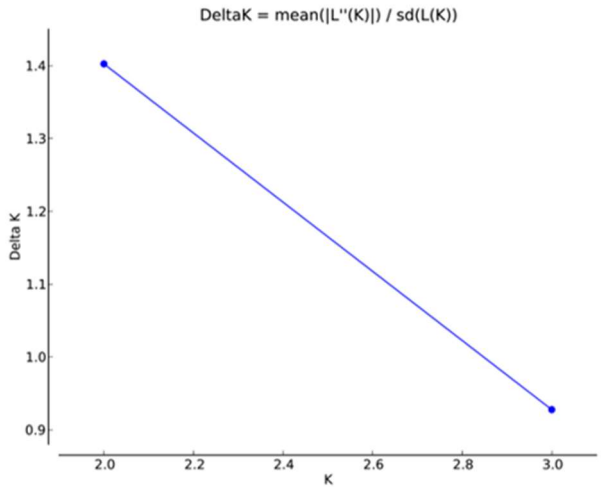


Figura V.2-23: *ΔK calculado usando STRUCTURE HARVESTER para agrupamentos de 1 a 4 dos* ***Delphinus delphis*** *da Bacia de Santos.*

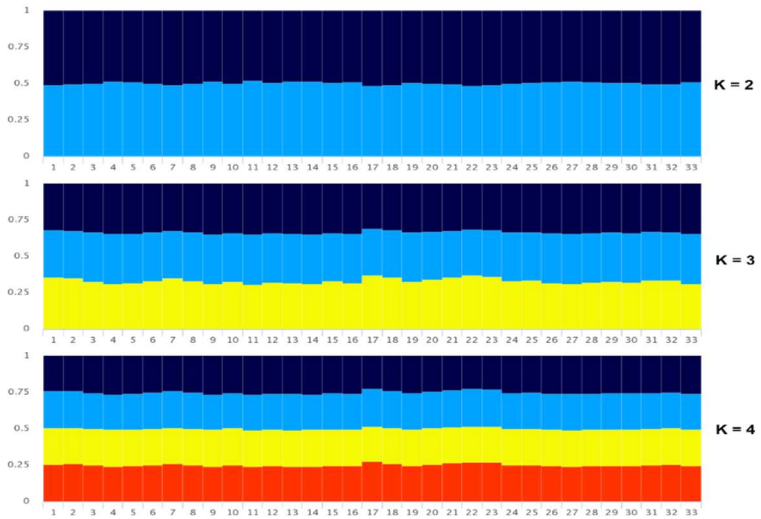


Figura V.2-24: *Gráfico do STRUCTURE com a proporção de associação de cada indivíduo de* ***Delphinus delphis*** *a cada agrupamento para K = 2 a K = 4. Cada indivíduo é representado por uma barra vertical dividida em segmentos coloridos com o comprimento indicando o coeficiente de associação (valor de atribuição) a cada agrupamento.*

Para avaliar as relações filogenéticas e frequências relativas dos 10 haplótipos da região controle de DNAmt, encontrados em 33 indivíduos, foi construída uma rede de haplótipos (*network*) *median-joining (MJ)* usando o programa NETWORK 10.2.0.0 (BANDELT et al., 1999). Dos 10 haplótipos,

quatro foram compartilhados entre os indivíduos e seis foram encontrados em apenas um indivíduo. Considerando a região de amostragem, seis foram exclusivos dos indivíduos amostrados no litoral do Rio de Janeiro, dois foram exclusivos de dois indivíduos amostrados no litoral de São Paulo, um em Peruíbe (H_9) e outro em Santos (H_8), e dois foram compartilhados entre ambos, sendo que um (H_1) apresentou uma frequência maior de indivíduos amostrados no litoral de São Paulo, e outro (H_3) uma frequência maior de indivíduos amostrados no litoral do Rio de Janeiro, incluindo o indivíduo amostrado em águas mais profundas (**Figura V.2-25**). Além disso, a rede de haplótipos apresentou um padrão em forma de estrela, o qual sugere que a população na Bacia de Santos está em expansão, corroborando a baixa diversidade nucleotídica (π = 0,18%) da espécie.

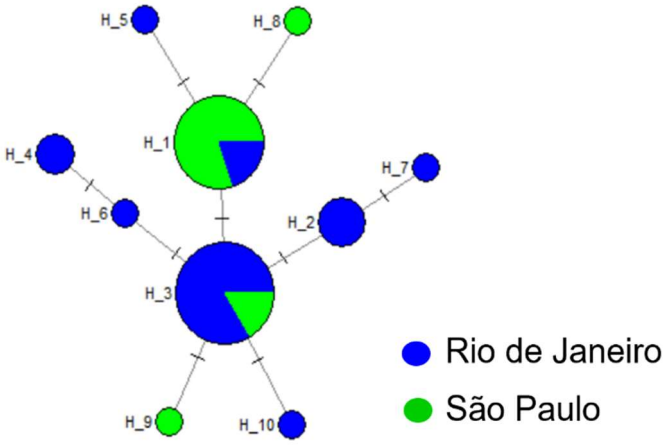


Figura V.2-25: *Rede de haplótipos median-joining das sequências (696 pares de base) da região controle do DNAmt de* ***Delphinus delphis*** *da Bacia de Santos. Os círculos representam os 10 haplótipos encontrados, e seus tamanhos são proporcionais à frequência de haplótipos sobre os 33 indivíduos amostrados. Os traços representam os passos mutacionais entre os haplótipos.*

Adicionalmente, para investigar as relações filogenéticas dos *D. delphis* amostrados na Bacia de Santos com algumas populações da espécie no Oceano Atlântico Norte, os 10 haplótipos encontrados em 33 indivíduos foram comparados com 42 haplótipos (números de acesso no GenBank: DQ378096-DQ378137) reportados em um estudo genético englobando amostras das populações do leste (Escócia, norte da Espanha, oeste e sul de Portugal) desse oceano (AMARAL et al., 2007). Além disso, foram adicionadas 10 sequências de *D. capensis* (U01956, U02656-U02664) do Oceano Pacífico Norte Oriental (ROSEL et al., 1994). O alinhamento (696 pares de bases) dos 10 haplótipos da Bacia de Santos foi encurtado para 404 pares de bases para incluir as sequências dos 52 haplótipos publicados. Esse alinhamento de 62 sequências resultou em 52 haplótipos definidos por 47 sítios polimórficos. Nove dos 42 haplótipos (630 pares de base) encontrados nos *D. delphis* do Atlântico Norte Oriental colapsaram em outros nove haplótipos, e um haplótipo dos *D. delphis* da Bacia de Santos colapsou em outro dessa população devido à região consenso mais curta (404 pares de base). Não houve compartilhamento de haplótipos entre os dois oceanos.

A relação ancestral entre os 42 haplótipos de DNAmt encontrados nos *D. delphis* dos dois oceanos foi também avaliada através de uma árvore filogenética, construída usando o método de máxima verossimilhança implementado no programa MEGA 11.0.10 (TAMURA et al., 2013). O modelo *Kimura's 2-parameter* foi selecionado, e a árvore consenso e o suporte para cada nó foram inferidos por 10.000 réplicas de amostragem (FELSENSTEIN, 1985). A genealogia foi enraizada com a sequência homóloga da região controle do DNAmt de um golfinho-nariz-de-garrafa (*T. truncatus*) amostrado na Bacia de Santos. Na análise filogenética os haplótipos dos golfinhos-comuns-de-bico-curto da Bacia de Santos formaram um clado único, embora com baixo suporte. Além disso, um clado agrupou os haplótipos dos golfinhos-comuns-de-bico-longo do Oceano Pacífico Norte Oriental (**Figura V.2-26**).

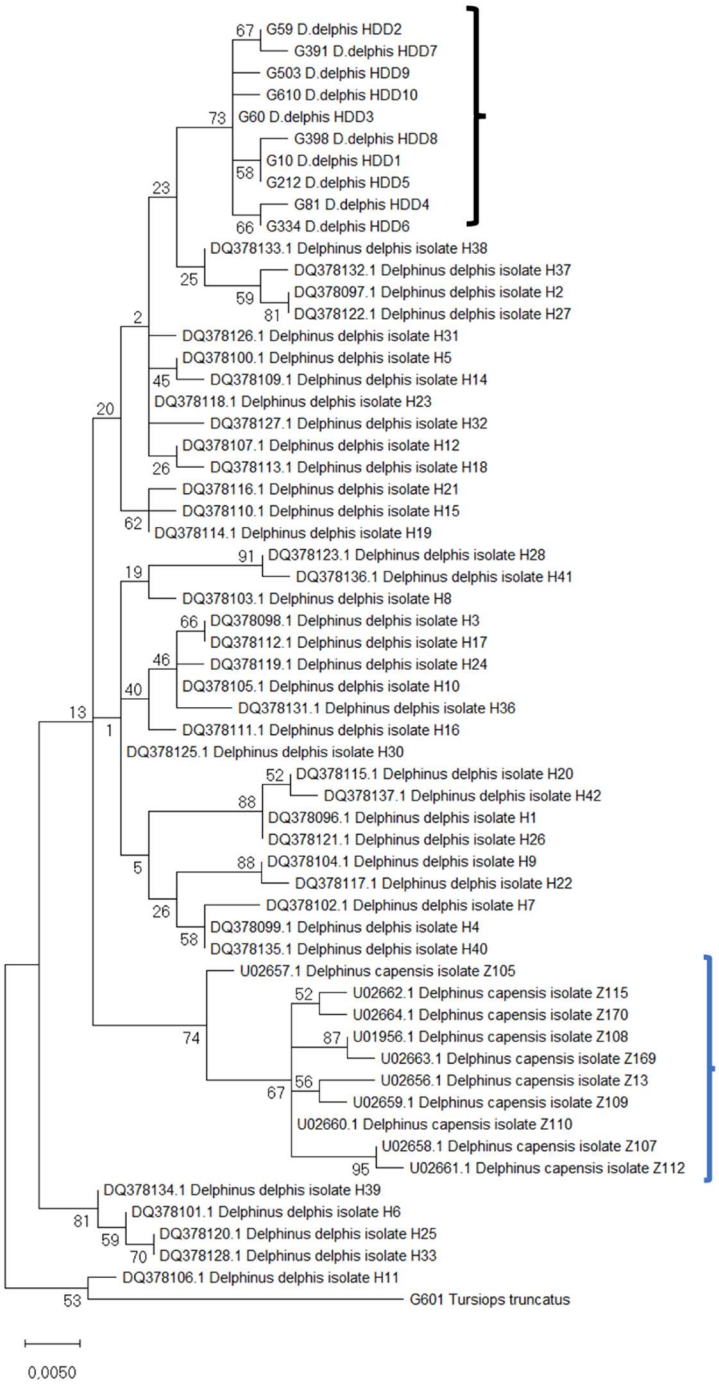


Figura V.2-26: *Árvore filogenética da máxima verossimilhança dos haplótipos da região-controle do DNA mitocondrial de* ***Delphinus delphis*** *dos oceanos Atlântico Sul (Bacia de Santos) e Norte, e D. capensis do oceano Pacífico Norte Oriental. Destacado em preto clado com os haplótipos de D. delphis da Bacia de Santos e em azul, clado com os haplótipos de D. capensis.*

Os resultados apresentados neste 8º Relatório Anual do PMC-BS confirmam que os indivíduos de *D. delphis* amostrados na Bacia de Santos pertencem a uma única população que apresenta uma diversidade genética menor quando comparada àquela das populações da espécie tanto no oeste quanto no leste do Oceano Atlântico Norte (MIRIMIN et al., 2009) (ver item **V.3.3 Diversidade Genética**). Além disso, os dados corroboram que os golfinhos-comuns no Atlântico Sul Ocidental pertencem a uma única espécie, *Delphinus delphis*, e que os termos golfinhos-comuns-de-bico-curto e golfinhos-comuns-de-bico-longo se referem a morfotipos nesse oceano e não espécies. De acordo com os dados genéticos, os golfinhos-comuns-de-bico-longo do Oceano Pacífico Norte Oriental pertencem a uma espécie diferente endêmica, *D. capensis* (CUNHA et al., 2015).

Portanto, considerando a escassez de dados sobre a espécie no Atlântico Sul Ocidental, os dados apresentados neste relatório, apesar de preliminares, são importantes para a compreensão da estrutura genética populacional do golfinho-comum-de-bico-curto na Bacia de Santos e sua relação com outras populações. A continuação da amostragem e o aumento do n amostral a longo prazo permitirá análises mais robustas e uma avaliação mais completa do *status* da espécie nesse oceano.

V.2.3.2 Resultados – Estrutura genética Steno bredanensis

O golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) foi uma das espécies de delfinídeos bem-amostradas (n = 18) durante os oito anos do PMC-BS, sendo amostrada tanto em áreas costeiras (n = 13) quanto em áreas oceânicas (n = 5) dentro da Bacia de Santos (**Figura V.2-27**). *Steno bredanensis* tem uma ampla distribuição em águas tropicais e temperadas dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico, e são geralmente encontrados em profundidades superiores a 1500 metros, apresentando fidelidade a algumas ilhas oceânicas (JEFFERSON, 2009). No entanto, no Brasil a espécie apresenta uma ampla distribuição costeira, do sul ao norte, embora também ocorra em áreas oceânicas (LODI et al., 2012).

Estudos genéticos têm apresentado forte diferenciação genética não somente entre as populações de *S. bredanensis* dos oceanos Pacífico e Atlântico, mas também entre populações de ilhas oceânicas no Oceano Pacífico, e dentro do Oceano Atlântico Ocidental, onde três populações foram detectadas: Caribe, sudeste (Rio de Janeiro e Espírito Santo) e sul (Santa Catarina e Rio Grande do Sul) do Brasil (OREMUS et al., 2012; DA SILVA et al., 2015; ALBERTSON et al., 2017; 2022). Além disso, Albertson et al. (2022) sugeriram que a divergência genética nuclear e mitocondrial encontrada entre os golfinhos-de-dentes-rugosos do Atlântico e Pacífico/Índico atendem aos critérios propostos para reconhecimento de duas subespécies. Embora duas populações da espécie foram identificadas no Brasil, uma no sudeste e outra no sul, os estudos usaram somente amostras de encalhe ou biópsias de indivíduos costeiros. Então, não se sabe se existe diferenciação genética populacional entre os indivíduos costeiros e oceânicos no Oceano Atlântico Sul Ocidental. Portanto, neste relatório foi investigado se existe diferenciação genética entre os indivíduos de *S. bredanensis* amostrados na costa e no Talude da Bacia de Santos.

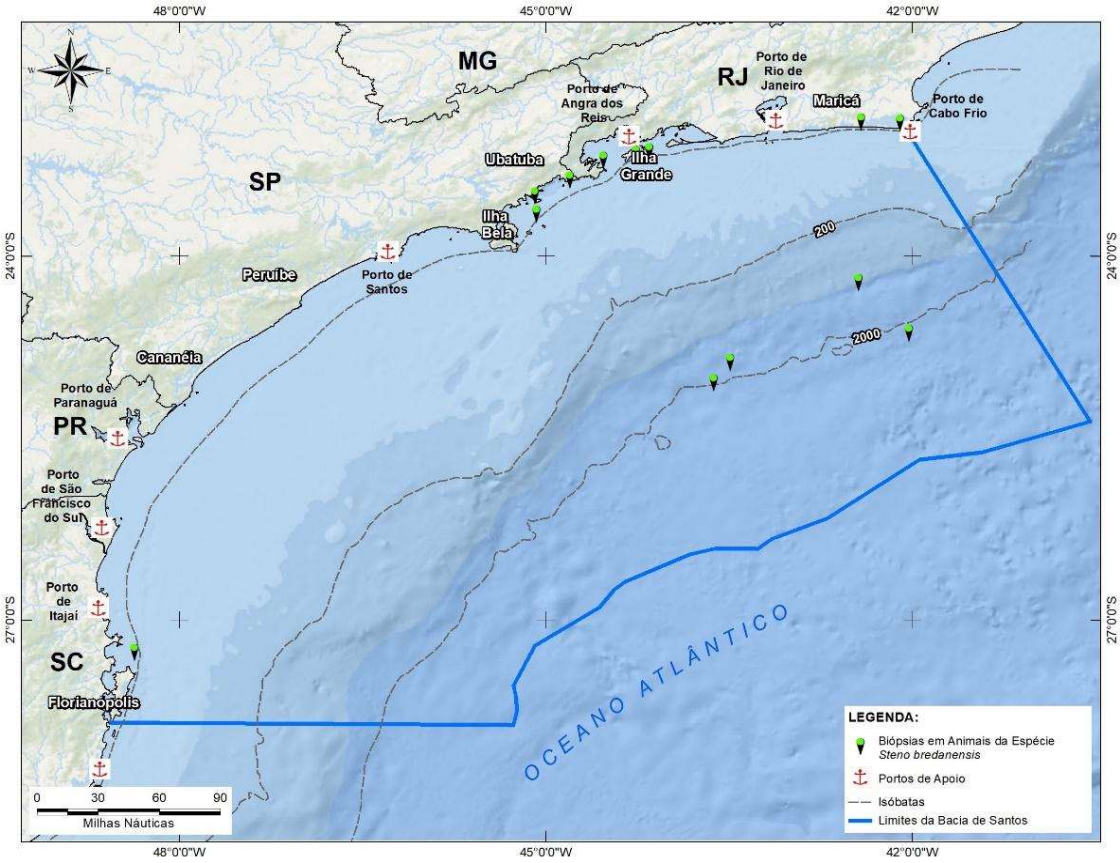


Figura V.2-27: *Mapa destacando a Bacia de Santos com os locais de coleta de biópsia de indivíduos de* ***Steno bredanensis*** *na Bacia de Santos. Os pontos verdes representam a localização geográfica dos grupos da espécie amostrados.*

Para avaliar se existe uma diferenciação genética populacional entre os indivíduos costeiros e oceânicos de *S. bredanensis* dentro da Bacia de Santos, os índices F_{ST} e Φ_{ST} (WEIR; COCKERHAM, 1984) foram estimados para as sequências da região controle do DNAmt e F_{ST} para os locos de microssatélites usando o programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER; LISCHE, 2010). Todas as análises foram realizadas com 10.000 permutações. Enquanto uma elevada diferenciação significativa foi encontrada entre os indivíduos costeiros e oceânicos de *S. bredanensis* para o DNAmt (F_{ST} = 0,432, P = 0,004; Φ_{ST} = 0,710, P = 0,001), uma diferenciação baixa foi encontrada para os locos de microssatélites, mas significativa (F_{ST} = 0,019, P = 0,000).

Adicionalmente, a existência de estruturação genética e o provável número de populações (K) de *S. bredanensis* na Bacia de Santos foi avaliada usando os locos de microssatélites por meio da análise bayesiana no programa STRUCTURE 2.3.3. Primeiro, foram realizadas cinco corridas independentes para cada agrupamento (K entre 1 e 4) usando os mesmos parâmetros, modelos e comprimento descritos acima para *D. delphis*. Da mesma forma, uma segunda análise foi realizada com informação prévia sobre local de amostragem, separando indivíduos amostrados em áreas costeiras (n = 13) daqueles amostrados em áreas oceânicas (n = 5). Os resultados gerados foram processados no STRUCTURE HARVESTER, resumidos no CLUMPP e exibidos graficamente pelo DISTRUCT.

Os resultados das análises com e sem informação sobre local de amostragem apresentaram a maior probabilidade posterior (Mean LnP(K) = -312 e -325, respectivamente) para K = 2, que também foi corroborado pelo método ΔK de Evanno que indicou duas populações de *S. bredanensis* na Bacia de Santos (**Figura V.2-28**) em ambas as análises. Da mesma forma, a representação gráfica da associação mostrou um delineamento claro para os indivíduos costeiros e oceânicos, sendo que a maioria dos indivíduos costeiros exibiram altos valores de atribuição (> 95%) para um único grupo no gráfico para k = 2, enquanto todos os indivíduos oceânicos exibiram altos valores de atribuição (> 98%) para um segundo grupo (**Figura V.2-29**).

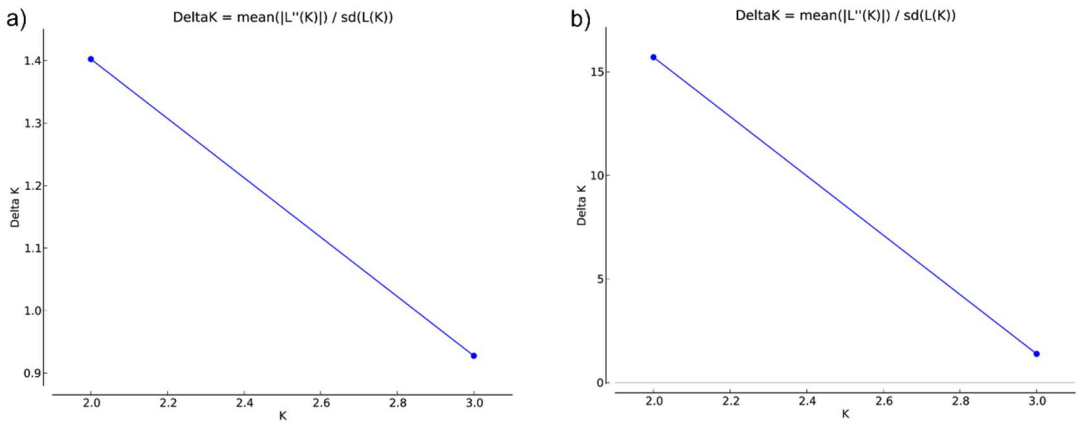


Figura V.2-28: *ΔK calculado usando STRUCTURE HARVESTER para agrupamentos de 1 a 4 dos* ***Steno bredanensis*** *da Bacia de Santos. a) sem informação sobre local de amostragem e b) com informação sobre local de amostragem.*

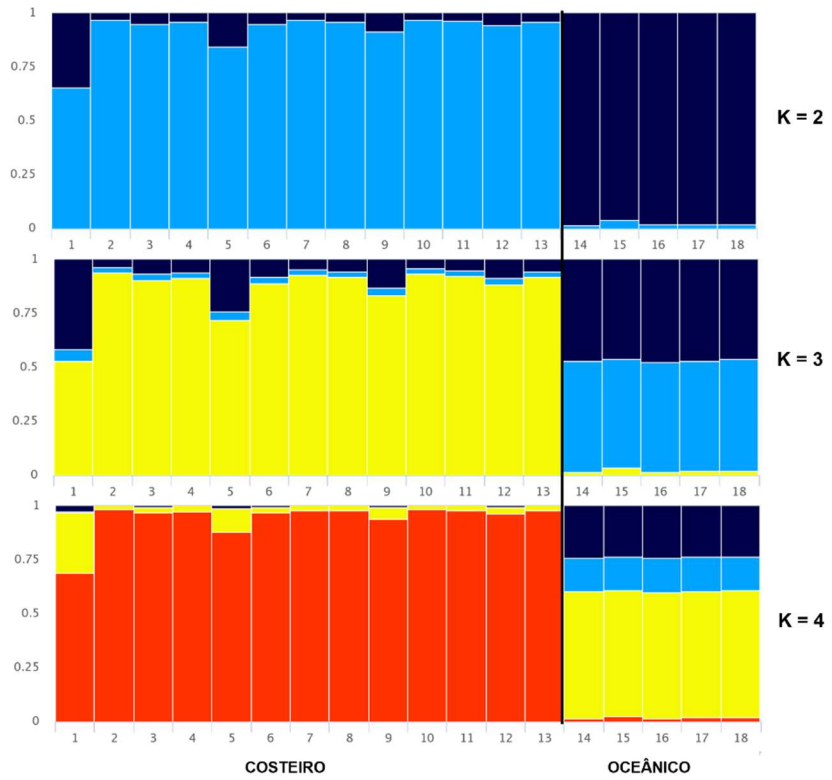


Figura V.2-29: *Gráfico do STRUCTURE com a proporção de associação de cada indivíduo de* ***Steno bredanensis*** *a cada agrupamento para K = 2 a K = 4 com o local de amostragem na Bacia de Santos informado (costeiro x oceânico). Cada indivíduo é representado por uma barra vertical dividida em segmentos coloridos com o comprimento indicando o coeficiente de associação a cada agrupamento.*

Apenas seis haplótipos (659 pares de base) da região controle de DNAmt foram encontrados nos 18 indivíduos e, para avaliar suas relações filogenéticas e frequências relativas, foi construída uma rede de haplótipos (*network*) *median-joining (MJ)* usando o programa NETWORK 10.2.0.0. Dos seis haplótipos, quatro (H_3, H_4, H_5 e H_6) foram exclusivos de quatro indivíduos costeiros, incluindo o indivíduo (G524, haplótipo H_5) amostrado em Santa Catarina, e um (H_2) foi exclusivo de quatro indivíduos oceânicos. O haplótipo mais comum (H_1) foi mais frequente nos indivíduos costeiros (n = 9) e compartilhado com um indivíduo oceânico (**Figura V.2-30**).

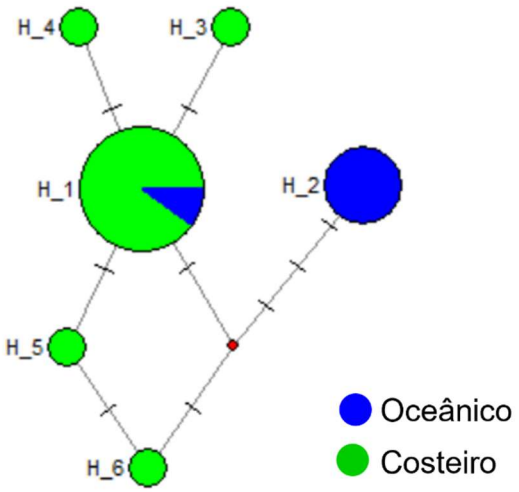


Figura V.2-30: *Rede de haplótipos median-joining das sequências (659 pares de base) da região-controle do DNAmt de* ***Steno bredanensis*** *da Bacia de Santos. Os círculos representam os 10 haplótipos encontrados, e seus tamanhos são proporcionais à frequência de haplótipos sobre os 18 indivíduos amostrados. Os traços representam os passos mutacionais entre os haplótipos, enquanto os pontos vermelhos representam os haplótipos extintos ou não amostrados.*

Para investigar as relações filogenéticas dos golfinhos-de-dentes-rugosos amostrados na Bacia de Santos com as populações do sudeste (Rio de Janeiro e Espírito Santo) e sul (Santa Catarina e Rio Grande do Sul) do Brasil, os seis haplótipos foram comparados com os cinco haplótipos (números de acesso no GenBank: KM260653 - KM260657) encontrados nessas populações (DA SILVA et al., 2015). As seis sequências (659 pares de base) da Bacia de Santos foram encurtadas para 545 pares de bases para incluir as sequências dos cinco haplótipos publicados. O alinhamento de 11 sequências resultou em 10 haplótipos definidos por nove sítios polimórficos. Um haplótipo (H_4) dos *S. bredanensis* da Bacia de Santos colapsou no haplótipo mais frequente (H_1) dessa população devido à região consenso mais curta (545 pares de base). Não houve compartilhamento de haplótipos entre os indivíduos da Bacia de Santos e

os *S. bredanensis* das populações do sudeste e sul do Brasil.

Posteriormente, a relação ancestral entre esses 10 haplótipos de DNAmt encontrados nos *S. bredanensis* do Brasil foi avaliada através de uma árvore filogenética, construída usando o método de máxima verossimilhança no MEGA 11.0.10. O modelo *Kimura's 2-parameter* foi selecionado, e a árvore consenso e o suporte para cada nó foram inferidos por 10.000 réplicas de amostragem. A genealogia foi enraizada com a sequência homóloga da região controle do DNAmt de um boto-cinza (*Sotalia guianensis*) amostrado na Bacia de Santos. Na reconstrução filogenética os haplótipos dos golfinhos-de-dentes-rugosos amostrados na área costeira da Bacia de Santos (incluindo o haplótipo HSB5 encontrado no indivíduo amostrado em Santa Catarina) formaram um clado separado daqueles das populações do sudeste e sul do Brasil, mas com baixo suporte (**Figura V.2-31**). Enquanto o haplótipo (HSB2 ou H_2 na rede de haplótipos) encontrado em quatro indivíduos amostrados em área oceânica agrupou em um clado com o haplótipo 2 (KM260653) encontrado em um indivíduo amostrado no Espírito Santo, e que no estudo de Da Silva et al. (2015) foi compartilhado com um haplótipo encontrado no Caribe.

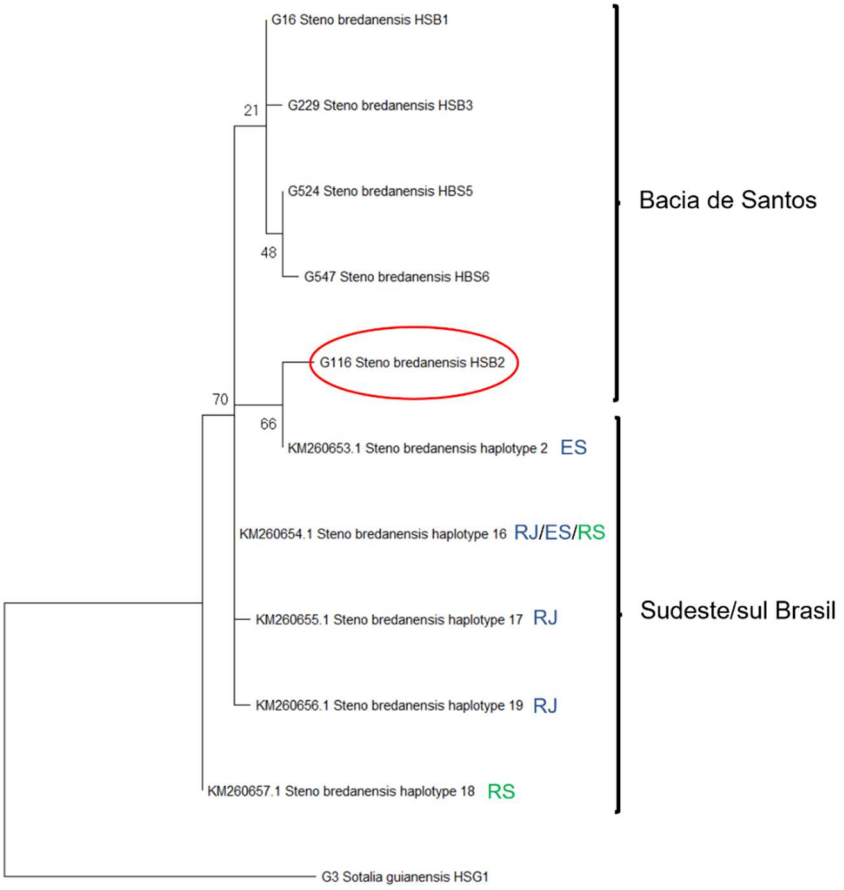


Figura V.2-31: *Árvore filogenética da máxima verossimilhança dos haplótipos (545 pares de base) da região controle do DNAmt de* ***Steno bredanensis*** *amostrados na Bacia de Santos e das populações sudeste e sul do Brasil. Haplótipo dos indivíduos oceânicos (HSB2) da Bacia de Santos destacado (círculo vermelho) em um clado junto com o haplótipo 2 (KM260653) encontrado em um indivíduo amostrado no Espírito Santo.*

Adicionalmente, para avaliar as relações filogenéticas dos *S. bredanensis* do Brasil, Oceano Atlântico Sul Ocidental, com as populações da espécie no Oceano Pacífico Central, os 10 haplótipos (cinco desses encontrados na Bacia de Santos) foram comparados com 16 haplótipos (números de acesso no GenBank: KU745651 - KU745666) reportados em um estudo genético englobando amostras das ilhas oceânicas dos Arquipélagos do Havaí, da Polinésia Francesa e de Samoa (ALBERTSON et al., 2017). O alinhamento (545

pares de bases) dos 10 haplótipos encontrados no Brasil foi encurtado para 327 pares de bases para incluir as sequências dos 16 haplótipos publicados. Esse alinhamento de 26 sequências resultou em 21 haplótipos definidos por 28 sítios polimórficos.

Enquanto, os haplótipos HSB5 e HSB6 foram exclusivos da Bacia de Santos, os haplótipos 17 (KM260655) e 18 (KM260657) foram exclusivos, respectivamente, das populações do sudeste e do sul do Brasil. Três dos cinco haplótipos encontrados nas populações do sudeste e sul do Brasil colapsaram em três haplótipos encontrados na Bacia de Santos. O haplótipo (16, KM260654) mais frequente encontrado nos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Rio Grande do Sul, colapsou no haplótipo mais frequente da Bacia de Santos (HSB1), também encontrado em um indivíduo amostrado no Talude. Enquanto o haplótipo 19 (KM260656) encontrado em um indivíduo no Rio de Janeiro colapsou no haplótipo HSB3 encontrado em um indivíduo costeiro da Bacia de Santos, o haplótipo 2 (KM260653) encontrado em um indivíduo no Espírito Santo colapsou no haplótipo HSB2 encontrado nos quatro indivíduos oceânicos da Bacia de Santos. Dois haplótipos do Oceano Pacífico Central colapsaram em outros dois haplótipos desse oceano. Não houve compartilhamento de haplótipos entre os dois oceanos.

A relação ancestral entre esses 21 haplótipos de DNAmt encontrados nos dois oceanos foi também avaliada através de uma árvore filogenética de máxima verossimilhança usando o programa MEGA 11.0.10, sendo o modelo *Kimura's 2-parameter* selecionado, e a árvore consenso e o suporte para cada nó inferidos por 10.000 réplicas de amostragem. A genealogia foi enraizada com a sequência homóloga da região controle do DNAmt de um boto-cinza (*Sotalia guianensis*) amostrado na Bacia de Santos. Na análise filogenética, os haplótipos de *S. bredanensis* de ambos os oceanos formaram clados separados com alto suporte (**Figura V.2-32**), corroborando a forte diferenciação genética das populações da espécie entre os oceanos Pacífico e Atlântico.

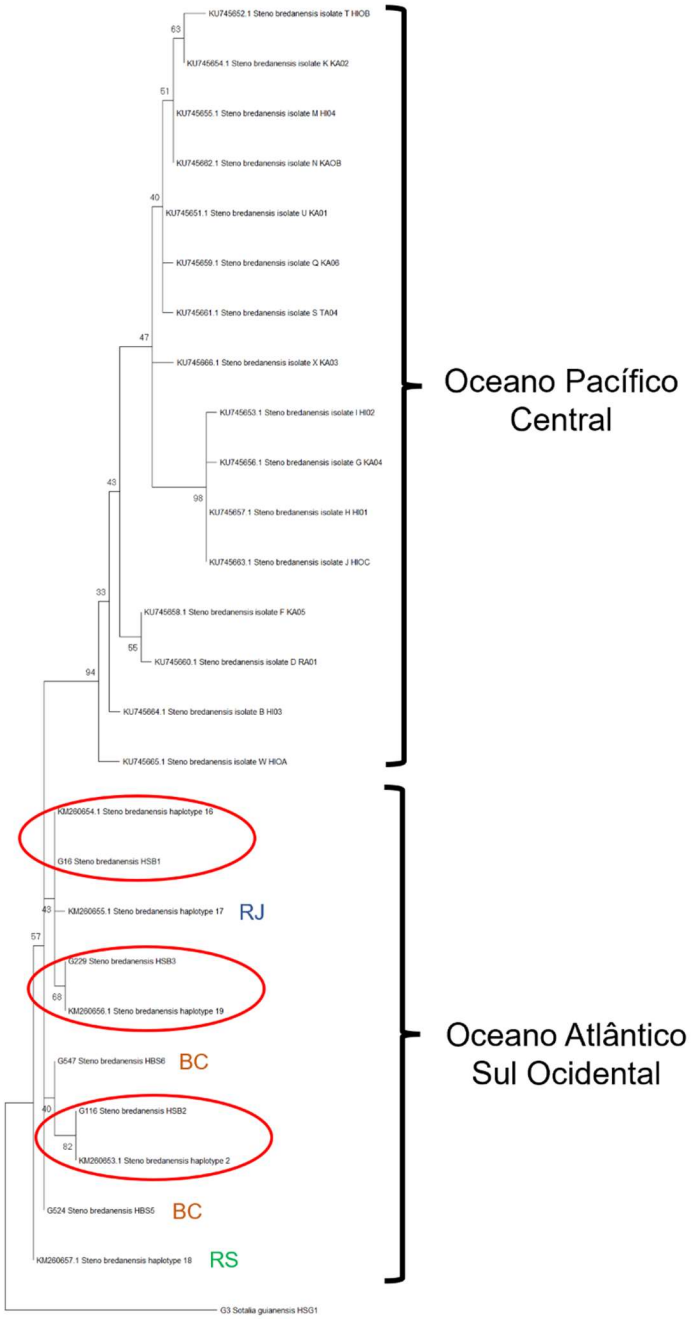


Figura V.2-32: *Árvore filogenética de máxima verossimilhança dos haplótipos (327 pares de base) da região controle do DNAmt de* ***Steno bredanensis*** *amostrados no Brasil e no Oceano Pacífico Central. A árvore é enraizada ao boto-cinza (Sotalia guianensis). Os haplótipos das populações sudeste e sul do Brasil que colapsaram nos haplótipos da Bacia de Santos estão destacados (círculo vermelho).*

Embora preliminares, os resultados apresentados neste 8º Relatório Anual do PMC-BS indicaram que os indivíduos de *S. bredanensis* amostrados em áreas costeiras e oceânicas na Bacia de Santos pertencem a duas populações diferentes, sugerindo a existência de populações locais com alta fidelidade, que podem ter um fluxo gênico restrito entre elas. Embora, na análise filogenética os dados das sequências mais longas de DNAmt apresentaram uma separação da população costeira da Bacia de Santos das populações do sudeste e do sul do Brasil, quando as sequências são encurtadas três dos cinco haplótipos dessas populações colapsaram em três haplótipos encontrados na Bacia de Santos. Além disso, o haplótipo BSB2 dos indivíduos oceânicos da Bacia de Santos formou um clado com o haplótipo encontrado em um indivíduo do Espírito Santo, que foi compartilhado com o haplótipo do Caribe, sugerindo algum fluxo gênico entre essas populações. Finalmente, os dados das análises filogenéticas também suportaram a elevada divergência genética entre os *S. bredanensis* dos oceanos Atlântico e Pacífico encontrada nos estudos anteriores (DA SILVA et al., 2015; ALBERTSON et al., 2022).

No Brasil, os hábitos costeiros do golfinho-de-dentes-rugosos fazem a espécie mais suscetível a ameaças antrópicas, tais como degradação de habitat, poluição química e sonora e emalhamento acidental em redes de pesca. Portanto, considerando a escassez de dados para essa espécie de delfinídeo que apresentou a menor diversidade genética (ver item **V.3.3 Diversidade Genética**) na Bacia de Santos, e o fluxo gênico restrito entre essas áreas no Oceano Atlântico Sul Ocidental, as populações devem ser consideradas unidades de manejo distintas. Esses resultados são importantes para a compreensão da estrutura genética populacional de *S. bredanensis* na Bacia de Santos, e o monitoramento a longo prazo, com constante amostragem, aumentando principalmente o *n* amostral da região oceânica, e análises mais robustas vão aprimorar os resultados e permitir uma avaliação mais completa do *status* dessa espécie na Bacia de Santos.

V.3 Biologia populacional

V.3.1 Estimativas de densidade e abundância de cetáceos

No âmbito do PMC-BS, o monitoramento populacional consiste em mensurar repetidamente ao longo do tempo a densidade e a abundância de populações de interesse. Uma abordagem robusta para estimar parâmetros populacionais como densidade é o método de transecções lineares com amostragem de distâncias (BUCKLAND et al., 2001). Uma vantagem é que este método lida com um problema comum em amostragens de populações animais, que é a detecção imperfeita. Um dos potenciais problemas em contagens ao longo de linhas de transecção é o fato de que a detectabilidade dos grupos diminui com a distância do observador. Este método procura corrigir este viés considerando o processo de detecção de grupos e a influência de diferentes variáveis numa função/curva de detecção ajustada aos dados.

Outra abordagem bastante utilizada para estimar parâmetros populacionais em estudos de longo prazo é o método de marcação-recaptura. O reconhecimento individual via fotoidentificação permite a construção de históricos de captura a partir das reavistagens de indivíduos ao longo do tempo. Estes históricos de captura alimentam os modelos de marcação-recaptura e a partir destes, é possível estimar parâmetros populacionais, como abundância.

Este item apresenta estimativas de densidade e abundância de três espécies da família Delphinidae em campanhas de avistagem embarcada num período de oito anos, entre 2015 e 2023, na Bacia de Santos pelo PMC-BS.

V.3.1.1 Análise dos dados – Transecções lineares com amostragem de distâncias

Para as campanhas de avistagem embarcada, a distância radial de cada grupo de cetáceo foi calculada por meio do ângulo horizontal da avistagem e altura dos observadores na torre de observação (7 metros). O ângulo foi obtido pela leitura do número de retículos de binóculos 7x50 e utilizando as conversões

de retículos disponíveis na literatura que consideram a curvatura da Terra (LERCZAK; HOBBS, 1998; KINZEY; GERRODETTE, 2001). A distância perpendicular da detecção em relação à linha de transecção, que foi usada para modelar a curva de detecção, foi estimada usando a distância radial do grupo calculada pelo retículo e o ângulo vertical entre a avistagem e a rota do navio, medida por uma alidade.

Para avaliar variações espaciais e temporais na distribuição dos animais na Bacia de Santos, as campanhas de avistagem embarcada foram classificadas em estação quente (realizadas entre dezembro e maio) ou estação fria (realizadas entre junho e novembro), assim como, os dados coletados foram estratificados espacialmente em oito regiões, de acordo com a batimetria local: 1) CN – região costeira norte; 2) CS – região costeira sul; 3) PN – plataforma continental norte; 4) PS – plataforma continental sul; 5) TN – talude norte; 6) TS – talude sul; 7) região oceânica norte; e 8) região oceânica sul. Foram excluídas das análises todas as linhas de transecção com menos de 5 milhas náuticas percorridas em esforço.

Foram construídos modelos de detecção para o golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*) e para o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) com os dados de distância perpendicular das detecções usando o programa *Distance* (THOMAS et al., 2010). Antes da modelagem, as observações mais distantes foram eliminadas (truncagem de dados), de acordo com a inspeção dos histogramas de distâncias das detecções. Testaram-se modelos que consideram diferentes fatores que podem afetar a distância com que os cetáceos são observados, que foram inseridos nos modelos de detecção como covariáveis (MARQUES; BUCKLAND, 2003; **Tabela V.3-1**). Foram testadas duas funções básicas de detecção: curva meia-normal e curva taxa-de-risco, além de ajustes de série visando melhorar o ajuste das funções de detecção (cosseno, polinomial simples e polinomial de Hermite).

O melhor modelo foi escolhido com base no menor valor de AIC – Critério de Informação de Akaike (BURNHAM; ANDERSON, 2002), que considera o bom ajuste do modelo aos dados e penaliza pelo número de parâmetros no modelo. A diferença no AIC do melhor modelo (Delta AIC = 0) para os outros modelos,

que constitui o Delta AIC, determina quais modelos são mais plausíveis. Um Delta AIC de até dois indica os modelos que devem ser considerados como os melhores. A partir o modelo selecionado para cada espécie, foram geradas estimativas de densidade e abundância para cada campanha, e estimativas para cada uma das oito regiões da Bacia de Santos na estação quente e na estação fria.

Tabela V.3-1: *Variáveis utilizadas para modelar a curva de detecção durante as Campanhas de Avistagem Embarcada do PMC-BS.*

Variável	Descrição
MEIO DE DETECÇÃO	Olho nu, Binóculo 7x50, Binóculo 15x50
PISTA DE DETECÇÃO	Borrifo, corpo ou comportamento aéreo
VISIBILIDADE	Péssima, Ruim, Boa, Excelente
ESTADO DO MAR	1 a 5 na escala Beaufort como variável contínua ou categórica
REFLEXO DO SOL	Percentual do través até a proa dos dois bordos com reflexo do sol
COBERTURA DE NUVENS	Percentual do céu encoberto
ESTADO DO TEMPO	Bom, Parcialmente nublado, Nublado sem chuva, Chuva fraca

O esforço amostral realizado nas campanhas de avistagem embarcada em oito anos de PMC-BS está sumarizado na **Tabela V.3-2.** Após a estratificação espacial dos dados, foi considerado para as análises um total de 1.471 linhas de transecção percorridas em 16 campanhas, somando 44.686,8 milhas náuticas percorridas na Bacia de Santos. Com os dados de avistagem embarcada foi possível estimar a densidade e abundância para golfinho-pintado-do-Atlântico *Stenella frontalis* e golfinho-nariz-de-garrafa *Tursiops truncatus*, assim como, avaliar tendências populacionais e variações na distribuição das duas espécies.

V.3.1.1.1 Resultados – densidade e abundância de Stenella frontalis

Para os dados de transecções lineares de golfinho-pintado-do-Atlântico

(*Stenella frontalis*), foram eliminadas todas as observações a uma distância maior que 0,54 milhas náuticas da linha de transecção, restando 167 observações. Foram construídos um total de dez modelos para a curva de detecção de golfinho-pintado-do-Atlântico (**Tabela V.3-2**). O melhor modelo teve como variável explanatória o meio de detecção; grupos avistados com binóculos foram avistados a uma distância maior da linha de transecção do que grupos avistados a olho nu.

Tabela V.3-2: *Modelos de detecção para* ***Stenella frontalis*** *na Bacia de Santos ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike). Notação: k = número de parâmetros; (cat) = variável categórica; (cont) = variável contínua.*

Modelo	k	AIC	Delta AIC
Meio de detecção	3	-372,86	0,00
Nulo	2	-369,62	3,24
Visibilidade (cat)	4	-357,27	15,59
Beaufort (cont)	2	-352,26	20,60
Visibilidade (cont)	2	-351,64	21,22
Beaufort (cat)	7	-351,51	21,35
Reflexo	2	-350,35	22,51
Tempo (cont)	2	-348,67	24,19
Nuvens	2	-346,71	26,15
Pista de detecção	4	8,00	380,86

A densidade média estimada de golfinho-pintado-do-Atlântico foi de 6,34 indivíduos por 100 km^2 ao longo de todo o período amostrado (IC 95% = 4,67 – 8,60; CV = 15,6%). Entretanto, houve uma grande variabilidade da densidade entre as campanhas, oscilando de 1,23 a 13,87 indivíduos por 100 km^2 (**Tabela V.3-3**). Assim como, a abundância estimada variou acentuadamente entre as campanhas, de 3.365 a 37.804 indivíduos, sendo as maiores abundâncias observadas nas campanhas realizadas na estação quente (**Figura V.3-1**). A abundância média ao longo de todas as campanhas foi de 17.273 indivíduos (IC 95% = 12.734 – 23.430; CV = 15,6%).

Tabela V.3-3: *Estimativa de densidade e abundância de* ***Stenella frontalis*** *durante as campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação.*

Campanha	n	Densidade		Abundância		
		Indivíduos / 100 km²	IC 95%	Estimativa	IC 95%	CV %
1	7	4,47	1,82 - 10,98	12.180	4.959 - 29.917	47,7
2	9	5,38	2,63 – 11,03	14.672	7.162 – 30.056	37,5
3	6	3,60	1,62 – 8,01	9.812	4.410 – 21.830	42,0
4	16	9,63	5,77 – 16,08	26.260	15.733 – 43.831	26,4
5	8	4,91	2,28 – 10,56	13.376	6.213 – 28.797	40,2
6	23	13,41	7,35 – 24,49	36.566	20.034 – 66.741	31,1
7	2	1,23	0,35 – 4,40	3.365	944 – 11.990	71,2
8	14	8,59	4,46 – 16,56	23.422	12.154 – 45.137	34,1
9	4	2,44	0,79 – 7,55	6.650	2.148 – 20.587	62,0
10a	13	13,87	7,67 – 25,09	37.804	20.898 – 68.386	30,4
11	3	1,88	0,65 – 5,44	5.126	1.773 – 14.821	57,6
10b	5	6,29	2,66 – 14,87	17.136	7.245 – 40.527	52,4
12	10	6,13	3,14 – 11,95	16.701	8.564 – 32.569	34,7
13	4	2,49	0,96 – 6,44	6.793	2.627 – 17.565	50,8
14	15	8,90	4,76 – 16,66	24.274	12.978 – 45.403	32,4
15	7	4,37	1,98 – 9,64	11.906	5.394 – 26.277	41,5
16	21	12,33	7,32 – 20,78	33.629	19.966 – 56.640	26,8

* A 10ª Campanha de Avistagem Embarcada foi realizada em duas etapas, pois foi interrompida em março/2020 – "Campanha 10a" – em decorrência da pandemia de COVID-19 e retomada em outubro/2020 para complementar o esforço amostral – "Campanha 10b".

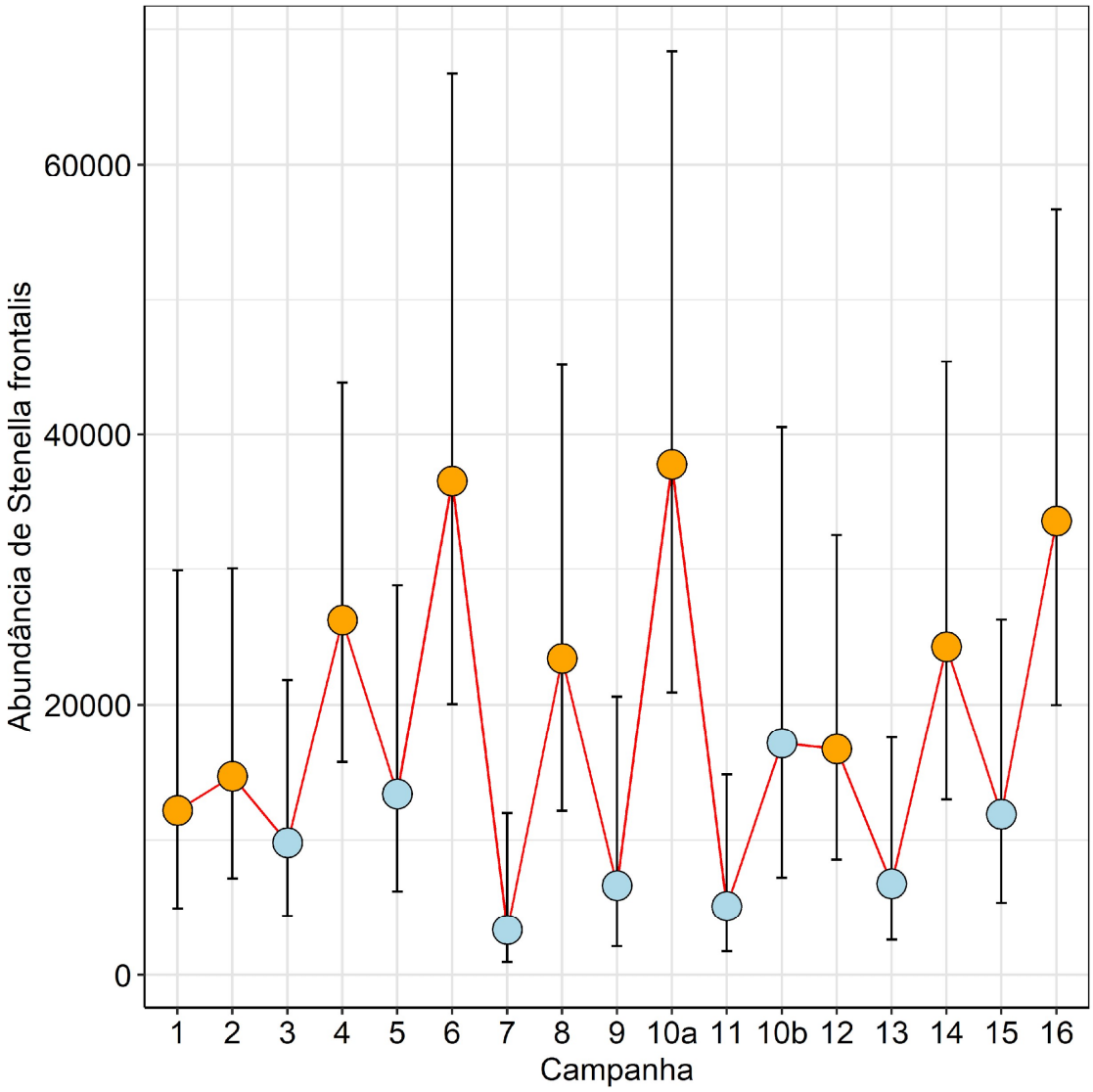


Figura V.3-1: *Abundância de* ***Stenella frontalis*** *observados ao longo das Campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS. Círculos preenchidos em azul indicam campanhas realizadas na estação fria (de junho a novembro), e círculos preenchidos em laranja, na estação quente (de dezembro a maio).*

As estimativas de densidade e abundância por região da Bacia de Santos na estação quente consideraram um esforço amostral de 24.016,9 milhas náuticas, 784 linhas de transecção e 128 observações de golfinho-pintado-do-Atlântico. Na estação quente, a estimativa de densidade por região variou entre zero, na região oceânica sul, e 17,94 indivíduos por 100 km^2, na plataforma continental sul (**Tabela V.3-4**). Os indivíduos se concentraram principalmente na

plataforma continental, onde as estimativas de abundância corresponderam a 85% do total, estimado em 22.327 indivíduos (IC 95% = 14.850 – 33.570; CV = 21,0%). As menores abundâncias foram estimadas para a região oceânica.

Tabela V.3.1-4: *Estimativa de densidade e abundância de* ***Stenella frontalis*** *nos diferentes estratos da Bacia de Santos durante as campanhas de Avistagem Embarcada realizadas na estação quente em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação; CN = região costeira norte; CS = região costeira sul; ON = região oceânica norte; OS = região oceânica sul; PN = plataforma continental norte; PS = plataforma continental sul; TN = talude norte; TS = talude sul.*

Estrato	n	Densidade		Abundância		
		Indivíduos / 100 km²	IC 95%	Estimativa	IC 95%	CV%
CN	2	12,51	3,59 – 44,32	889	251 – 3.149	69,6
CS	3	4,62	1,20 – 17,93	713	184 – 2.764	76,8
ON	1	0,31	0,06 – 1,67	159	30 - 850	102,4
OS	0	-	-	-	-	-
PN	44	14,48	9,14 – 22,94	6.388	4.033 – 10.119	23,7
PS	68	17,94	11,53 – 27,92	12.489	8.025 – 19.435	22,8
TN	3	1,39	0,46 – 4,22	492	162 – 1.488	60,7
TS	7	4,10	1,89 – 8,90	1.198	552 – 2.598	40,7
Total	**128**	**8,19**	**5,45 – 12,32**	**22.327**	**14.850 – 33.570**	**21,0**

As estimativas de densidade e abundância por região da Bacia de Santos na estação fria consideraram um esforço amostral de 20.669,8 milhas náuticas, 687 linhas de transecção e 39 observações de golfinho-pintado-do-Atlântico. Na estação fria, a estimativa de densidade por região variou entre 1,39 indivíduos por 100 km², na região oceânica norte, e 32,26 indivíduos por 100 km², na região costeira norte (**Tabela V.3-5**). A abundância na plataforma continental correspondeu a 60% do total, estimado em 16.561 indivíduos (IC 95% = 8.106 – 33.836; CV = 37,2%; **Tabela V.3-5**).

Tabela V.3-5: *Estimativa de densidade e abundância de* ***Stenella frontalis*** *nos diferentes estratos da Bacia de Santos durante as campanhas de Avistagem Embarcada realizadas na estação fria em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação; CN = região costeira norte; CS = região costeira sul; ON = região oceânica norte; OS = região oceânica sul; PN = plataforma continental norte; PS = plataforma continental sul; TN = talude norte; TS = talude sul.*

Estrato	n	Densidade		Abundância		
		Indivíduos / 100 km²	IC 95%	Estimativa	IC 95%	CV%
CN	2	32,26	8,31 – 125,24	2.292	590 – 8.899	74,8
CS	3	10,76	3,27 – 35,46	1.659	504 – 5.465	65,9
ON	2	1,39	0,36 – 5,41	711	183 – 2.755	77,6
OS	1	2,04	0,36 – 11,43	428	76 – 2.392	105,0
PN	16	12,17	5,43 – 27,30	5.369	2.395 – 12.040	42,6
PS	11	6,63	2,92 – 15,09	4.618	2.030 – 10.503	43,5
TN	2	1,89	0,48 – 7,35	666	171 – 2.595	77,9
TS	2	2,80	0,71 – 11,12	818	206 – 3.247	78,7
Total	**39**	**6,08**	**2,97 – 12,41**	**16.561**	**8.106 – 33.836**	**37,2**

V.3.1.1.2 Resultados – densidade e abundância de Tursiops truncatus

Para os dados de transecções lineares de golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), foram eliminadas todas as observações a uma distância maior que 0,43 milhas náuticas da linha de transecção, restando 71 observações. Foram construídos um total de 11 modelos para a curva de detecção de golfinho-pintado-do-Atlântico (**Tabela V.3-6**). O melhor modelo teve como variável explanatória o estado do mar; grupos foram avistados a uma distância maior da linha de transecção em condições de mar mais calmo (**Figura V.3-2**).

Tabela V.3-6: *Modelos de detecção para* ***Tursiops truncatus*** *na Bacia de Santos ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike). Notação: k = número de parâmetros; (cat) = variável categórica; (cont) = variável contínua.*

Modelo	k	AIC	Delta AIC
Beaufort (cont)	2	-174,30	0,00
Nulo	2	-174,19	0,12
Visibilidade (cont)	2	-174,08	0,22
Beaufort (cont) + Visibilidade (cont)	3	-173,49	0,81
Visibilidade (cat)	4	-171,00	3,30
Beaufort (cat)	5	-170,52	3,78
Meio de detecção	3	-169,28	5,02
Nuvens	2	-165,11	9,19
Pista de detecção	4	-165,05	9,25
Tempo (cont)	2	-164,66	9,64
Reflexo	2	-164,00	10,30

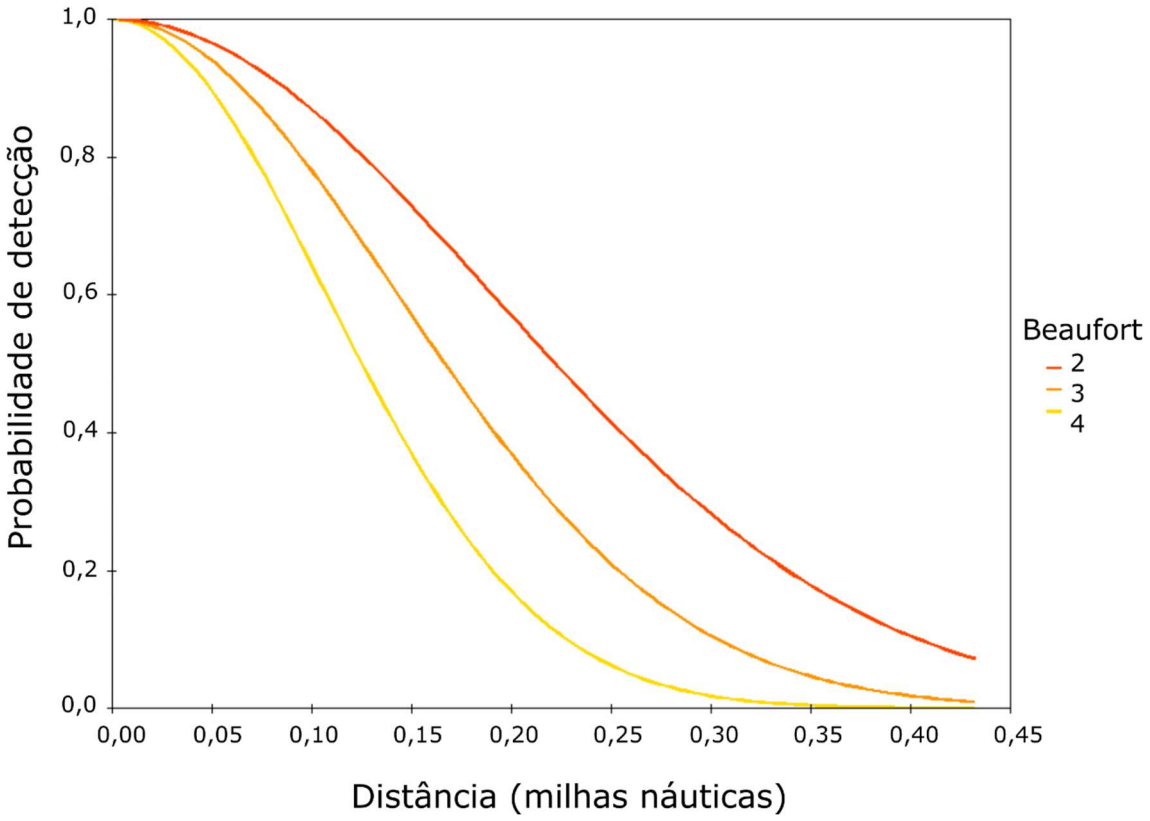


Figura V.3-2: *Curva de detecção de* ***Tursiops truncatus*** *nas Campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS.*

A densidade média estimada de golfinho-nariz-de-garrafa foi de 1,80 indivíduos por 100 km^2 ao longo de todo o período amostrado (IC 95% = 1,19 – 2,72; CV = 21,2%). A densidade variou entre as campanhas, oscilando entre zero e 3,55 indivíduos por 100 km^2 (**Tabela V.3-7**). Assim como, a abundância estimada variou entre as campanhas, de zero a 9.690 indivíduos, porém não apresentou uma sazonalidade definida (**Figura V.3-3**). A abundância média ao longo de todas as campanhas foi de 4.900 indivíduos (IC 95% = 3.241 – 7.407; CV = 21,2%).

Tabela V.3-7: *Estimativa de densidade e abundância de* ***Tursiops truncatus*** *durante as campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação.*

Campanha	n	Densidade		Abundância		
		Indivíduos / 100 km^2	IC 95%	Estimativa	IC 95%	CV%
1	2	0,84	0,23 – 0,31	2.315	636 – 8.427	72,7
2	4	1,59	0,60 – 4,20	4.338	1.642 – 11.459	52,2
3	3	1,20	0,40 – 3,55	3.264	1.101 – 9.678	59,2
4	3	1,20	0,40 – 3,56	3.276	1.106 – 9.698	59,2
5	3	1,22	0,41 – 3,63	3.337	1.126 – 9.894	59,2
6	7	2,69	1,27 – 5,68	7.331	3.473 – 15.475	39,2
7	5	2,05	0,85 – 4,97	5.597	2.314 – 13.536	46,9
8	8	3,27	1,58 – 6,73	8.904	4.321 – 18.347	37,8
9	7	2,84	1,32 – 6,09	7.743	3.608 – 16.615	40,1
10a	2	1,57	0,30 – 8,38	4.295	808 – 22.845	100,0
11	4	1,67	0,54 – 5,16	4.547	1.469 – 14.076	61,9
10b	1	0,83	0,15 – 4,47	2.280	426 – 12.195	100,1
12	6	2,44	0,99 – 6,03	6.667	2.701 – 16.452	48,1
13	5	2,07	0,75 – 5,71	5.649	2.050 – 15.568	54,7
14	9	3,55	1,70 – 7,43	9.690	4.636 – 20.251	38,6
15	2	0,83	0,22 – 3,07	2.263	612 – 8.370	73,7
16	0	-	-	-	-	-

* A 10ª Campanha de Avistagem Embarcada foi realizada em duas etapas, pois foi interrompida em março/2020 – "Campanha 10a" – em decorrência da pandemia de COVID-19 e retomada em outubro/2020 para complementar o esforço amostral – "Campanha 10b".

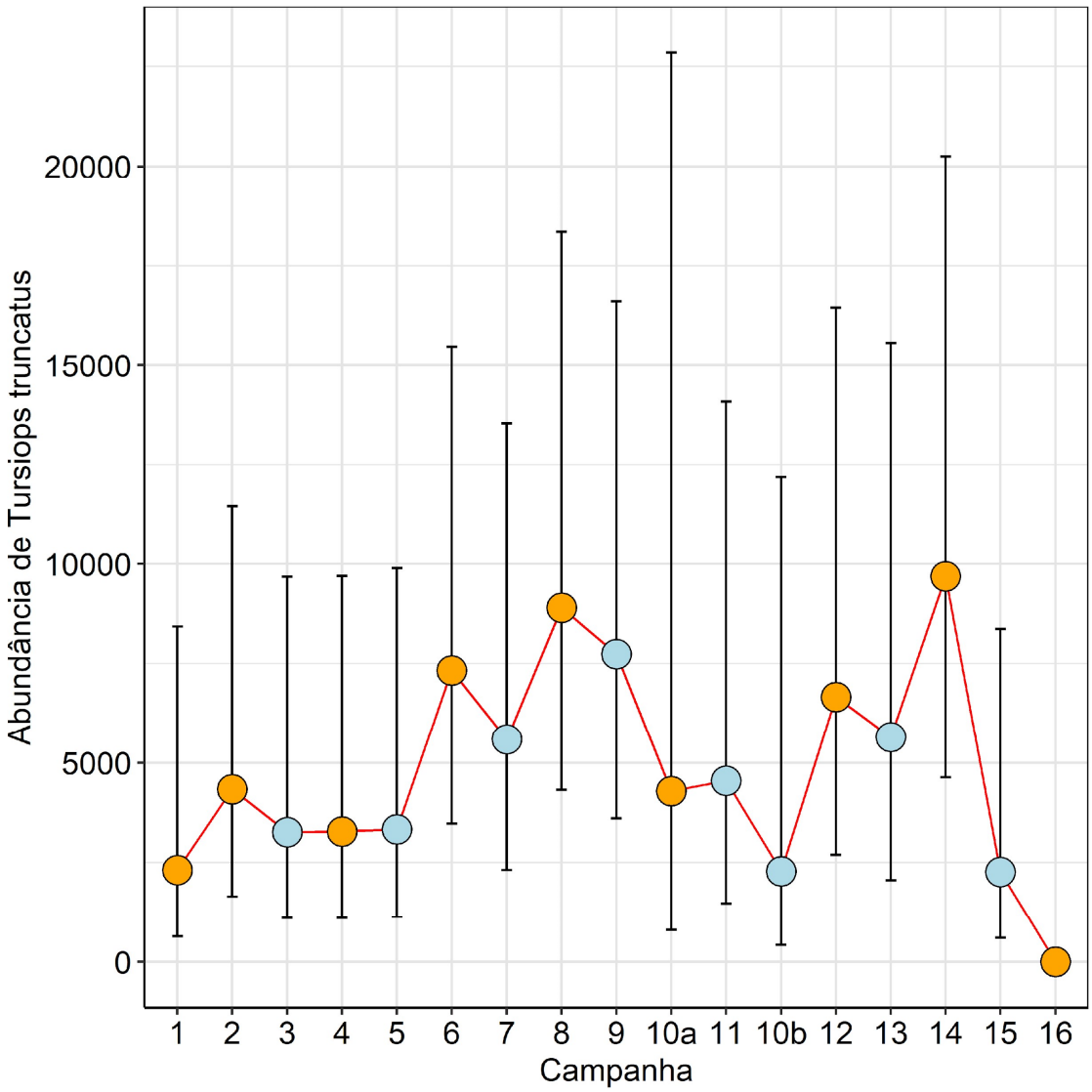


Figura V.3-3: *Abundância de* ***Tursiops truncatus*** *observados ao longo das Campanhas de Avistagem Embarcada em oito anos do PMC-BS. Círculos preenchidos em azul indicam campanhas realizadas na estação fria (de junho a novembro), e círculos preenchidos em laranja, na estação quente (de dezembro a maio).*

As estimativas de densidade e abundância por região da Bacia de Santos na estação quente consideraram um esforço amostral de 24.016,9 milhas náuticas, 784 linhas de transecção e 41 observações de golfinho-nariz-de-garrafa. Na estação quente, a estimativa de densidade por região variou entre zero, nas regiões costeira, talude e oceânica norte, e 6,39 indivíduos por 100

km^2, na região costeira sul (**Tabela V.3.1-9**). Os indivíduos se concentraram principalmente na plataforma continental, onde as estimativas de abundância corresponderam a 76% do total, estimado em 5.958 indivíduos (IC 95% = 3.484 – 10.188; CV = 27,6%). As menores abundâncias foram estimadas para a região oceânica.

Tabela V.3-8: *Estimativa de densidade e abundância de* ***Tursiops truncatus*** *nos diferentes estratos da Bacia de Santos durante as campanhas de Avistagem Embarcada realizadas na estação quente em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação; CN = região costeira norte; CS = região costeira sul; ON = região oceânica norte; OS = região oceânica sul; PN = plataforma continental norte; PS = plataforma continental sul; TN = talude norte; TS = talude sul.*

Estrato	n	Densidade		Abundância		
		Indivíduos / 100 km^2	IC 95%	Estimativa	IC 95%	CV%
CN	0	0	-	-	-	-
CS	5	6,39	2,58 – 15,83	985	397 – 2.440	48,3
ON	0	0	-	-	-	-
OS	1	0,71	0,13 – 3,83	149	28 - 802	101,8
PN	17	4,80	2,47 – 9,32	2.118	1.090 – 4.113	34,6
PS	16	3,48	1,86 – 6,52	2.423	1.293 – 4.539	32,6
TN	0	0	-	-	-	-
TS	2	0,97	0,26 – 3,60	284	77 – 1.050	73,9
Total	**41**	**2,18**	**1,28 – 3,74**	**5.958**	**3.484 – 10.188**	**27,6**

As estimativas de densidade e abundância por região da Bacia de Santos na estação fria consideraram um esforço amostral de 20.669,8 milhas náuticas, 687 linhas de transecção e 30 observações de golfinho-nariz-de-garrafa. Na estação fria, a estimativa de densidade por região variou entre zero, na região costeira norte, e 2,30 indivíduos por 100 km^2, no talude sul (**Tabela V.3-9**). A abundância na plataforma continental correspondeu a 48% do total, estimado em 3.198 indivíduos (IC 95% = 1.704 – 6.003; CV = 32,6%; **Tabela V.3-9**).

Tabela V.3-9: *Estimativa de densidade e abundância de* ***Tursiops truncatus*** *nos diferentes estratos da Bacia de Santos durante as campanhas de Avistagem Embarcada realizadas na estação fria em oito anos do PMC-BS. n = número de grupos detectados; IC = intervalo de confiança; CV = Coeficiente de variação; CN = região costeira norte; CS = região costeira sul; ON = região oceânica norte; OS = região oceânica sul; PN = plataforma continental norte; PS = plataforma continental sul; TN = talude norte; TS = talude sul.*

Estrato	n	Densidade		Abundância		
		Indivíduos / 100 km^2	IC 95%	Estimativa	IC 95%	CV%
CN	0	0	-	-	-	-
CS	2	1,96	0,52 – 7,36	302	81 – 1.134	74,5
ON	4	0,76	0,27 – 2,15	389	138 – 1.093	56,2
OS	1	0,56	0,10 – 3,10	117	21 - 649	104,2
PN	8	1,66	0,69 – 4,00	734	305 – 1.766	46,7
PS	7	1,15	0,50 – 2,68	803	346 – 1.866	44,7
TN	2	0,51	0,14 – 1,92	182	49 - 681	74,9
TS	6	2,30	0,86 – 6,16	671	250 – 1.800	53,0
Total	**30**	**1,17**	**0,62 – 2,20**	**3.198**	**1.704 – 6.003**	**32,6**

V.3.1.1.3 Resultados - Marcação-recaptura

Após oito anos de PMC-BS, o acúmulo de dados de reavistagens via fotoidentificação permitiu a elaboração de históricos de captura e posterior ajuste de modelos de marcação-recaptura para três espécies: golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*), golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), e golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*). Estas três espécies apresentaram um volume dados, e de recapturas, adequados, embora os resultados aqui apresentados ainda sejam preliminares e as estimativas geradas devam ser melhoradas e validadas com a chegada de novos registros. Assim, por ora, a apresentação deste resultado é uma ilustração do potencial de uso dessa técnica em uma nova frente: estimar parâmetros populacionais como abundância e sobrevivência.

Após a montagem dos históricos de captura, para as três espécies, foram

ajustados modelos Jolly-Seber, com a parametrização de POPAN (SCHWARZ; ARNASON, 2009), implementados no programa MARK, via o pacote 'RMark' (LAAKE, 2014), no R (R CORE TEAM, 2023). Para cada espécie foram gerados e comparados, via Critério de Informação de Akaike (ANDERSON; BURNHAM, 2002), oito modelos, assumindo: probabilidade aparente de sobrevivência, probabilidade de captura, probabilidade de entrada de indivíduos na população e abundância. Os parâmetros sobrevivência, probabilidade de captura e entrada foram considerados constantes ou variando no tempo. A estimativa de abundância considerou apenas indivíduos marcados, ou seja, com marcas naturais passíveis de reconhecimento via fotoidentificação. Para a estimativa da população total, este número estimado de marcados deve ser dividido pela proporção de marcados na população (URIAN et al., 2015). No entanto, esta proporção ainda se encontra em processamento e deve ser apresentada no próximo relatório.

Para *Steno bredanensis*, entre 2015 e 2023 (total de 28 ocasiões de captura sendo cada campanha uma ocasião), foram fotoidentificados 87 indivíduos. O modelo que melhor se ajustou aos dados sugere uma sobrevivência e probabilidade de captura constantes no tempo, e variação temporal na probabilidade de entrada de indivíduos na população. O modelo estimou uma sobrevivência aparente de 0,739 (IC95% = 0,649 - 0,812), uma probabilidade de captura de 0,085 (IC95% = 0,050 - 0,142), e uma probabilidade de entrada de indivíduos variando de 0 a no máximo 0,434 (IC95% = 0,276 - 0,606). A abundância de indivíduos marcados foi de 343 (IC95% = 233 - 537; **Figura V.3-4**).

Para *Tursiops truncatus*, entre 2015 e 2023 (total de 27 ocasiões de captura), foram fotoidentificados 764 indivíduos. O modelo que melhor se ajustou aos dados sugere uma sobrevivência constantes no tempo, variação temporal na probabilidade captura e probabilidade de entrada de indivíduos na população constante. O modelo estimou uma sobrevivência aparente de 0,919 (IC95% = 0,877 - 0,947), uma probabilidade de captura variando de 0 a no máximo 0,249 (IC95% = 0,179 - 0,336), e uma probabilidade de entrada de indivíduos de 0,034 (IC95% = 0,013 - 0,056). A abundância de indivíduos marcados foi de 7.815

(IC95% = 6.290 - 9.766; **Figura V.3-4**).

Para *Stenella frontalis*, entre 2015 e 2023 (total de 27 ocasiões de captura), foram fotoidentificados e incluídos no histórico de captura, 466 indivíduos. O modelo que melhor se ajustou aos dados sugere uma sobrevivência, probabilidade captura e probabilidade de entrada de indivíduos na população constantes no tempo. O modelo estimou uma sobrevivência aparente de 0,935 (IC95% = 0,882 - 0,966), uma probabilidade de captura de 0,010 (IC95% = 0,007 - 0,016), e uma probabilidade de entrada de indivíduos de 0,032 (IC95% = 0,029 - 0,035). A abundância de indivíduos marcados foi de 5.738 (IC95% = 4.238 - 7.841, **Figura V.3-4**).

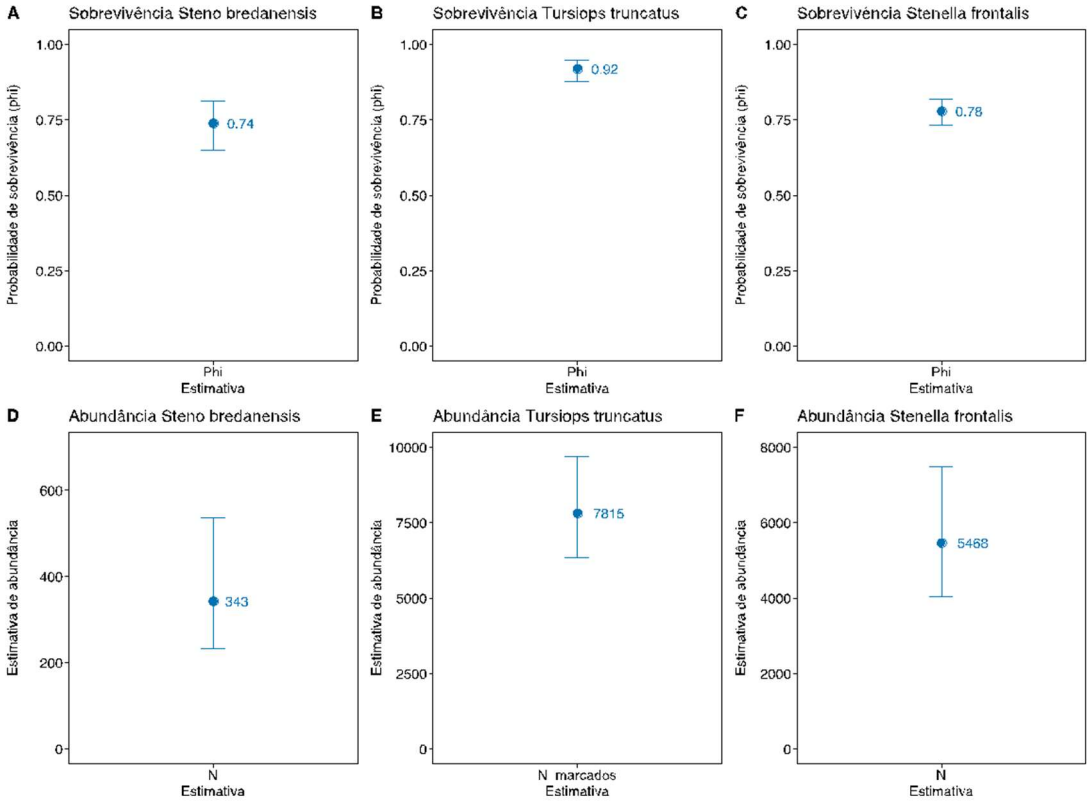


Figura V.3-4: *Parâmetros populacionais estimados via abordagem de marcação-recaptura com modelos POPAN. (A-C) Probabilidade aparente de sobrevivência (Phi) estimadas para* ***Steno bredanensis****,* ***Tursiops truncatus*** *e* ***Stenella frontalis****. (D-F) Abundâncias (N) de indivíduos marcados estimada para cada espécie.*

V.3.1.1.4 Discussão - densidade e abundância

Este 8º Relatório Anual apresentou novidades com relação às estimativas de densidade e abundância de três espécies da família Delphinidae: *Stenella frontalis, Tursiops truncatus* e *Steno bredanensis*. Pela primeira vez, foram avaliadas tendências populacionais e variações na distribuição e foram geradas estimativas a partir do método de marcação-recaptura.

Golfinho-pintado-do-Atlântico*, Stenella frontalis*

A estimativa de abundância de *Stenella frontalis* por amostragem de distâncias chegou a 36.000 golfinhos em uma campanha, bem acima da estimativa por marcação-recaptura, que ficou em torno de 5.700 golfinhos. No entanto, as estimativas por marcação-recaptura apresentadas neste relatório são preliminares, pois consideram somente os indivíduos com marcas naturais passíveis de reconhecimento via fotoidentificação. O processamento das fotos visando a estimativa da proporção de indivíduos marcados na população está em andamento e as estimativas de abundância corrigidas para a população total devem ser apresentadas no próximo relatório anual.

A abundância de *Stenella frontalis* apresentou uma flutuação sazonal entre campanhas, com maiores abundâncias nas campanhas realizadas na estação quente, sugerindo um padrão de movimentação desses animais. Essa flutuação sazonal também pode ser um efeito da amostragem. Vale ressaltar que as estimativas por Amostragem de Distâncias são uma “foto” do momento amostral, ou seja, representam o tamanho populacional em um determinado período e área específica.

A estimativa média na estação quente foi de 22.300 golfinhos, enquanto na estação fria foi de 16.500 golfinhos. Em ambas as estações, a plataforma continental apresentou a maior abundância entre as regiões, seguida da região costeira. A abundância na plataforma continental representou 85% da abundância total na estação quente e 60% na estação fria. A região com menor abundância foi a região oceânica.

A variação na distribuição e abundância de *Stenella frontalis* entre campanhas

pode estar relacionada a condições oceanográficas e núcleos de maior produtividade. Os golfinhos do gênero *Stenella* têm preferência por águas mais quentes, da Corrente do Brasil. No verão, a intensidade desta corrente é maior e provavelmente exista maior movimento de grupos de golfinhos provenientes do norte da Bacia de Santos, como as Bacias de Campos e do Espírito Santo. Além disso, a dinâmica da formação de meandros e vórtices na Corrente do Brasil, assim como a ressurgência induzida pelos ventos de Nordeste, a qual é comum nos meses de verão, contribuem para a penetração da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) na região da plataforma na Bacia de Santos, provendo nutrientes às águas pobres sobre a plataforma (SILVEIRA et al., 2000).

Golfinho-nariz-de-garrafa, *Tursiops truncatus*

As duas abordagens metodológicas geraram estimativas de abundância mais próximas para *Tursiops truncatus.* A estimativa por amostragem de distâncias chegou a 9.600 golfinhos em uma campanha, enquanto a estimativa por marcação-recaptura ficou em torno de 7.800 golfinhos. No entanto, esta estimativa por marcação-recaptura está considerando somente os indivíduos marcados por enquanto, e deverá aumentar após ser corrigida para a população total.

A abundância de *Tursiops truncatus* flutuou entre campanhas, porém não apresentou uma sazonalidade definida como *Stenella frontalis*, sugerindo que a dinâmica das populações e os movimentos destas espécies são distintos.

De qualquer forma, a estimativa média para *Tursiops truncatus* na estação quente, 5.900 golfinhos, foi maior do que na estação fria, 3.200 golfinhos. A plataforma continental foi a região com maior abundância, principalmente na estação quente, concentrando 76% da abundância total, muito provavelmente devido à maior produtividade na região da plataforma continental no verão. Na estação quente, os golfinhos utilizaram principalmente a região costeira sul e plataforma continental, enquanto na estação fria, utilizaram a Bacia de Santos de forma mais homogênea, com exceção da região costeira norte. Nesta análise estratificada, o número de detecções em alguns estratos ainda foi pequeno, gerando estimativas pouco precisas. Porém, com a inclusão de novos dados estas estimativas devem ficar mais

precisas.

Golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*

Com base nos dados de reavistagens via fotoidentificação acumulados em oito anos de PMC-BS foi possível gerar a primeira estimativa de abundância para *Steno bredanensis* na Bacia de Santos. Apesar de ser uma estimativa preliminar, ela demonstra o alto potencial do método de marcação-recaptura para estimar parâmetros populacionais em estudos de longo prazo.

V.3.2 Estimativa do Tamanho Efetivo da População

O tamanho efetivo (N_e) da população é um parâmetro chave a longo prazo e essencial para a genética populacional, a biologia evolutiva e a biologia da conservação, mas é difícil de estimar em muitas populações naturais, incluindo os cetáceos. Geralmente o N_e é muito menor do que o tamanho de censo (N_c), ele representa o número de indivíduos que contribuem com os genes para a próxima geração, sendo diretamente relacionado aos processos evolutivos, como taxas de deriva genética e perda de variabilidade genética, níveis de endogamia e eficácia da seleção, e é afetado pela proporção sexual, variação no sucesso reprodutivo, estrutura etária, migração e outros fatores demográficos (FRANKHAM, 2002). Portanto, as reduções em N_e estão relacionadas à redução da viabilidade populacional (LEBERG, 2005).

Vários métodos genéticos têm sido desenvolvidos para estimar N_e, sendo que algumas abordagens estimam o N_e contemporâneo e outras o N_e histórico, e a comparação de ambos pode fornecer importantes informações sobre a dinâmica populacional (se a população está crescendo ou diminuindo) (LEBERG, 2005). Além disso, se a taxa N_e/N_c é conhecida ou pode ser estimada, a estimativa de N_e pode fornecer informações sobre a abundância da população (FRANKHAM, 1995). Um dos métodos que estima o tamanho efetivo da geração parental (contemporâneo) por meio de dados genotípicos, é baseado no desequilíbrio de ligação (*linkage disequilibrium* - LD), sendo de maior interesse para as ações de manejo e gestão das

espécies ameaçadas (WAPLES; ENGLAND, 2011).

O tamanho efetivo contemporâneo da população foi estimado para as cinco espécies de delfinídeos (*Tursiops truncatus*, *Stenella frontalis*, *S. longirostris*, *S. attenuata* e *D. delphis*) e uma espécie de misticeto (*Balaenoptera borealis*) que apresentaram o maior número de amostras (número amostral maior que 20 indivíduos) coletado na Bacia de Santos durante os oito anos do PMC-BS. Adicionalmente, cada população foi avaliada para uma possível redução demográfica recente.

V.3.2.1 Análise dos dados – Tamanho efetivo da população

O programa NeEstimator v.2.01 (DO et al., 2014) foi usado para estimar o tamanho efetivo contemporâneo (N_e) das populações do golfinho-nariz-de-garrafa, do golfinho-pintado-do-Atlântico, do golfinho-rotador, do golfinho-pintado-pantropical, do golfinho-comum-de-bico-curto e da baleia-sei com base nos dados dos locos de microssatélites dessas seis espécies. O programa é baseado no método de desequilíbrio de ligação, e calcula estimativas separadas usando diferentes critérios para excluir alelos raros. O modelo de acasalamento aleatório e os seguintes valores críticos (p_{crit}): 0,05, 0,02 e 0,01, com intervalos de confiança de 95%, foram usados. No entanto, o valor p_{crit} de 0,02 foi escolhido para reduzir o viés para alelos de baixa frequência, fornecendo melhor precisão e estimativas mais confiáveis.

Para avaliar se essas populações sofreram uma redução demográfica recente, dois métodos implementados no programa BOTTLENECK v. 1.2.0.2 (PIRY et al., 1999) foram usados: 1) teste para um déficit de alelos raros em uma amostra de locos (método gráfico); e 2) teste para excesso de heterozigosidade observada baseado no *two-phase model* (TPM, assumindo 70% de *stepwise mutation model* e 30% de variação) através de 10.000 iterações usando o *one-tailed Wilcoxon sign-rank test*. Um nível de probabilidade abaixo de 0,05 foi considerado significativo.

V.3.2.2 Estimativas de tamanho efetivo contemporâneo da população

O N_e contemporâneo estimado para os golfinhos-nariz-de-garrafa da Bacia de

Santos foi de 516 indivíduos (IC 95% = 252 - 8691; tamanho médio da amostra harmônica = 109,7) para o p_{crit} de 0,02 (**Tabela V.3-10)**. As análises com BOTTLENECK não forneceram evidências para uma redução demográfica recente, tanto para o teste de excesso de heterozigosidade não significativo (p = 0,230), quanto para o teste de déficit de alelos raros, com a distribuição das frequências dos alelos em forma de L.

Para os golfinhos-pintados-do-Atlântico, o N_e contemporâneo foi estimado em 439 indivíduos (IC 95% = 294 - 806; tamanho médio da amostra harmônica = 156,1) para o p_{crit} de 0,02 (**Tabela V.3-10)**. Apesar do teste para excesso de heterozigosidade com base no modelo TPM ter sido significativo (p = 0,012), a distribuição das frequências dos alelos foi claramente em forma de L. Além disso, uma outra análise baseada no *stepwise mutation model* (SMM) não foi significativa (p = 0,997).

O N_e contemporâneo estimado para os golfinhos-rotadores da Bacia de Santos foi de 495 indivíduos (IC 95% = 233 - ∞; tamanho médio da amostra harmônica = 75,8) para o p_{crit} 0,02 (**Tabela V.3-10)**. Para essa população também não houve evidências para um declínio populacional recente, sendo que o teste para excesso de heterozigosidade não foi significativo (p = 0,150) e a distribuição das frequências dos alelos foi em forma de L.

Para os golfinhos-pintados-pantropical e os golfinhos-comum-de-bico-curto da Bacia de Santos, os N_e*s* contemporâneos foram estimados em 271 (IC95% = 87 - ∞; tamanho médio da amostra harmônica = 21) e 239 indivíduos (IC95% = 76 - ∞; tamanho médio da amostra harmônica = 33), respectivamente, para o valor crítico 0,02 (**Tabela V.3-10)**. Para ambas as espécies não houve evidências de redução demográfica recente, tanto para o teste de excesso de heterozigosidade (p = 0,187 e p = 0,273, respectivamente para *S. attenuata* e *D. delphis*), quanto para o teste de déficit de alelos raros, com a distribuição das frequências dos alelos em forma de L.

A baleia-sei foi o único misticeto que teve o N_e contemporâneo estimado, com uma estimativa de 4.784 indivíduos (IC95% = 224 - ∞; tamanho médio da amostra harmônica = 39,2) para o p_{crit} 0,02 (**Tabela V.3-10)**. Embora o teste de excesso de heterozigosidade baseado no modelo TPM (p = 0,004) apresentou evidência para um declínio recente da população de baleia-sei da Bacia de Santos, a distribuição das

frequências dos alelos foi em forma de L e a análise baseada no SMM não foi significativa (p = 0,875).

Tabela V.3-10: *Estimativas de tamanho efetivo contemporâneo das populações de cinco delfinídeos (**Tursiops truncatus**, **Stenella frontalis**, **S. longirostris**, **S. attenuata** e **D. delphis**) e um misticeto (**Balaenoptera borealis**) amostrados no PMC-BS para os diferentes valores críticos (p_{crit}). IC = intervalo de confiança.*

Espécies	p_{crit} 0,01		p_{crit} 0,02		p_{crit} 0,05	
	Estimativa	IC95%	Estimativa	IC95%	Estimativa	IC95%
Tursiops truncatus	507	272 – 2.445	516	252 - 8691	1.286	274 - ∞
Stenella frontalis	540	360 – 1.013	439	294 - 806	289	188 - 549
Stenella longirostris	336	206 - 824	495	233 - ∞	314	151 – 6.110
Stenella attenuata	271	87 - ∞	271	87 - ∞	1.890	65 - ∞
Delphinus delphis	1.957	129 - ∞	239	76 - ∞	172	56 - ∞
Balaenoptera borealis	∞	377 - ∞	4784	224 - ∞	2.090	167 - ∞

Conforme esperado as estimativas de N_e contemporâneo variaram entre os diferentes valores de p_{crit} para cada espécie (**Tabela V.3-10** e **Figura V.3-5**), mas a estimativa recomendada foi o p_{crit} 0,02, que exclui alelos com frequências inferiores a 0,02, fornecendo melhor precisão e estimativas mais confiáveis. Dependendo das combinações entre o verdadeiro N_e, o tamanho amostral e os valores de p_{crit}, estimativas tendenciosas podem ser geradas (Waples et al., 2014). Embora *S. attenuata* e *D. delphis* apresentaram estimativas mais congruentes comparadas àquelas dos relatórios anteriores (PETROBRAS, 2023a), as duas espécies ainda possuem um pequeno tamanho amostral. Tallmon et al. (2010) relataram que as simulações indicaram que o tamanho amostral deve ser de pelo menos 60 indivíduos para se obter estimativas mais confiáveis usando métodos de LDNe. Portanto, as estimativas de N_e tanto para *D. delphis* quanto para *S. attenuata* devem ser tendenciosas e espera-se com o aumento do número amostral obter estimativas mais precisas e acuradas para as duas espécies. Assim, essas estimativas não foram discutidas nesse 8º Relatório Anual.

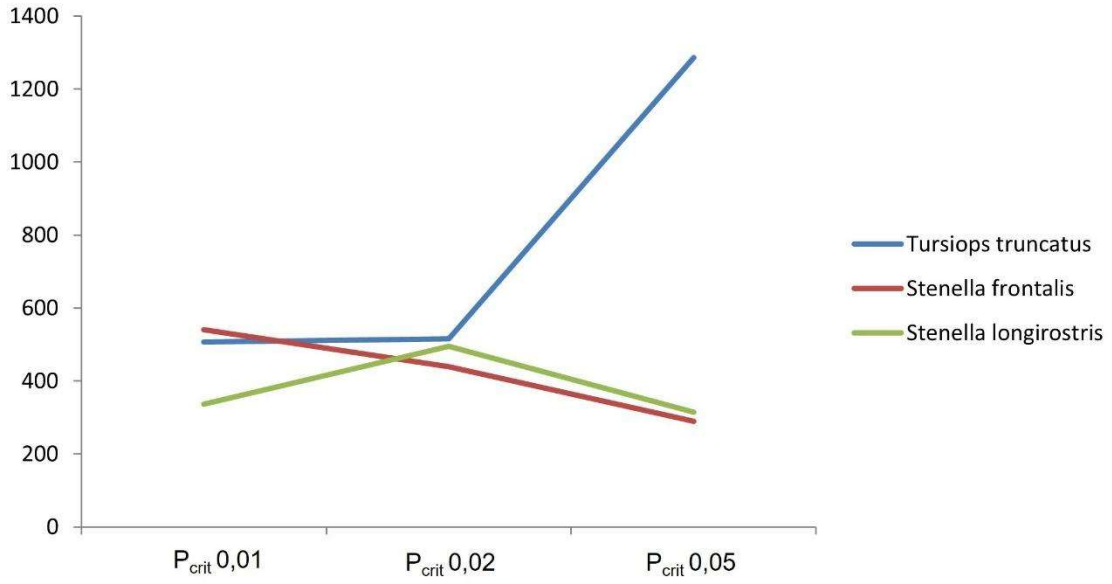


Figura V.3-5: *Estimativas de N_e contemporâneo para os diferentes valores críticos para **Tursiops truncatus**, **Stenella frontalis** e **Stenella longirostris** na Bacia de Santos.*

O tamanho populacional mínimo viável a curto prazo (5 gerações) sugerido atualmente é de N_e > 100, e o tamanho populacional mínimo viável a longo prazo é de N_e > 1.000 (FRANKHAM et al., 2014). As populações dos três delfinídeos (*Tursiops truncatus*, *Stenella frontalis* e *S. longirostris*) bem amostrados não sofreram um *bottleneck* genético recente e não estão ameaçadas pela depressão por endogamia (> 100), baseado nas estimativas de N_e contemporâneo para essas populações na Bacia de Santos. No entanto, as estimativas das três espécies estão abaixo do limite atual recomendado de 1.000 indivíduos, considerado necessário para preservar o potencial evolutivo dessas populações.

Existem poucos estudos com estimativas de N_e contemporâneo para cetáceos, sendo a maioria para odontocetos. Alguns estudos apresentaram estimativas de N_e contemporâneo para os golfinhos-nariz-de-garrafa do Arquipélago de Bocas Del Toro, no Panamá; para os golfinhos-chileno (*Cephalorhynchus eutropia*) na costa do Chile; para os golfinhos-burrunan (*Tursiops australis*) na costa sudeste da Austrália; para os golfinhos-de-hector (*Cephalorhynchus hectori hectori*) na Nova Zelândia; para os golfinhos-rotadores em Fernando de Noronha, e para as toninhas na costa do Espírito Santo (FMAIa) (CHARLTON-ROBB et al., 2015; PÉREZ-ALVAREZ et al., 2015;

BARRAGÁN-BARRERA et al., 2017; HAMNER et al., 2017; FARIA et al., 2020; DE OLIVEIRA et al., 2020). Para os misticetos estimativas de N_e contemporâneo foram realizadas para as baleias-jubarte do Oceano Atlântico Sul Ocidental; para as baleias-fin no Golfo da California e para as baleias-de-Bryde no oeste do Oceano Pacífico Norte (CYPRIANO-SOUZA et al., 2018; RIVERA-LEÓN et al., 2019; TAGUCHI et al., 2022).

A população de *T. truncatus* do Panamá apresentou uma baixa diversidade genética e o N_e estimado variou entre 73 (IC95% = 18 - ∞) e 122 (IC95% = 22 - ∞) indivíduos para os p_{crit} 0,05 e 0,02, respectivamente (BARRAGÁN-BARRERA et al., 2017). Da mesma forma, as populações de *T. australis* do sudeste da Austrália, apresentaram baixa diversidade genética, e as estimativas de N_e foram de 81,5 (IC95% = 30 - 290) indivíduos para a população da Baía de Port Phillip e de 65,5 (IC95% = 38 - 144) indivíduos para a população dos Lagos de Gippsland para o p_{crit} de 0,05 (CHARLTON-ROBB et al., 2015). Baixas estimativas de N_e foram também encontradas tanto para os golfinhos-chilenos (N_e = 39 na área norte e N_e = 101 na área sul) quanto para os golfinhos-de-hector (N_e = 191; IC95% = 123 - 362) que possuem uma baixa diversidade genética (PÉREZ-ALVAREZ et al., 2015; HAMNER et al., 2017).

Embora a população de *S. longirostris* de Fernando de Noronha tenha apresentado uma diversidade genética muito baixa, o tamanho efetivo contemporâneo foi estimado em 491 indivíduos (IC95% = 153 - ∞) (FARIA et al., 2020), similar ao estimado (N_e = 495) para a população da espécie na Bacia de Santos, que apresentou uma elevada variabilidade genética. A população de toninhas da FMAIa, na costa do Espírito Santo, apresentou a menor diversidade genética de todas as outras FMAs e o N_e estimado foi de 117 (IC95% = 27 - ∞) indivíduos (DE OLIVEIRA et al., 2020). Apesar de um *bottleneck* genético recente não ter sido detectado para essas populações, elas são pequenas, isoladas, geneticamente distintas e com baixos níveis de diversidade genética, apresentando um risco maior de extinção. Ao contrário, as populações de *T. truncatus*, *S. longirostris* e *S. frontalis* na Bacia de Santos têm uma alta diversidade genética mitocondrial e nuclear e os N_es estimados foram bem acima do requerido para manter a saúde genética populacional a curto prazo.

Neste relatório anual o tamanho efetivo contemporâneo foi estimado pela primeira vez para as baleias-sei que ocorrem na Bacia de Santos. Embora a espécie ainda possua um pequeno tamanho amostral (< 60) para estimativas mais robustas usando o método de LDNe, o N_e estimado (N_e = 4784) está acima do limite atual recomendado de 1.000 indivíduos para o tamanho populacional viável a longo prazo. Essa estimativa está de acordo com os altos níveis de diversidade genética mitocondrial e nuclear encontrados nesta população de baleia-sei. Igualmente, para as populações de baleia-jubarte do Oceano Atlântico Sul Ocidental, e de baleia-de-Bryde do centro-oeste do Oceano Pacífico Norte, que possuem uma variabilidade genética alta, as estimativas de N_e foram de 1.078 e 8.162 indivíduos, respectivamente, e estão acima do limite recomendado para preservar o potencial evolutivo dessas populações (CYPRIANO-SOUZA et al., 2018; TAGUCHI et al., 2022). Por outro lado, a população de baleia-fin do Golfo da California que possui uma baixíssima diversidade genética teve um N_e contemporâneo estimado em 360 (IC95% = 230 - 665) indivíduos (RIVERA-LEÓN et al., 2019), bem abaixo do limite recomendado.

No entanto, o método de estimativa de N_e baseado em desequilíbrio de ligação presume população fechada com gerações discretas (sem sobreposição de gerações), acasalamento aleatório e contribuição igual de indivíduos para a próxima geração, e essas suposições raramente são completamente satisfeitas em populações naturais. Além disso, uma das fontes de potencial viés é o fluxo gênico entre populações adjacentes, sendo que taxas de migração de aproximadamente 10% ou mais podem resultar em uma estimativa de N_e da metapopulação (WAPLES; ENGLAND, 2011). Portanto, a compreensão da estrutura genética populacional e das conexões migratórias dessas espécies na Bacia de Santos é fundamental para estimativas de tamanho efetivo populacional mais robustas.

Considerando que as taxas de N_e/N_c não são conhecidas para essas espécies, impossibilitando estimar a abundância, a comparação das estimativas de N_e com as estimativas de abundância (ver item **V.3.1 Estimativas de densidade e abundância**) para duas dessas espécies não foram corroboradas, sendo que a estimativa de abundância foi maior para *S. frontalis* (entre 16.500 e 22.300 indivíduos) do que para *T. truncatus* (entre 3.000 e 6.000 indivíduos). Além disso, enquanto as estimativas de

abundância são da população atual, naquele período (curto prazo), as estimativas de N_e contemporâneo, baseadas em desequilíbrio de ligação, são da geração parental, portanto, representando o número efetivo dos pais que produziram indivíduos da amostra atual.

Apesar das estimativas do N_e contemporâneo para essas seis espécies que ocorrem na Bacia de Santos serem preliminares, elas são importantes e auxiliarão o monitoramento dessas populações em longo prazo. Para isso, uma recomendação é a obtenção de estimativas de N_e comparáveis a cada geração das espécies, tentando também reduzir as incertezas dos parâmetros chave, como por exemplo, aumentando o número de locos de microssatélites para cada espécie, e o n amostral para *D. delphis*, *S. attenuata* e *B. borealis* da Bacia de Santos.

V.3.3 Diversidade Genética

A diversidade genética é uma medida da biodiversidade, que representa a variação genética de cada espécie e é fundamental para uma população se adaptar às mudanças ambientais, isto é, representa seu potencial evolutivo (FRANKHAM et al., 2010). A redução da diversidade genética em espécies e populações é considerada uma das principais ameaças e pode aumentar o risco de extinção. Portanto, o conhecimento da diversidade genética é importante para avaliar o *status* de conservação e definir estratégias adequadas de proteção e manejo para as espécies de cetáceos que estão atualmente expostas a uma variedade de impactos antropogênicos.

Ao longo dos oito anos do PMC-BS, os níveis de diversidade genética mitocondrial e nuclear foram estimados para cada espécie de cetáceo amostrada na Bacia de Santos, com um número amostral mínimo de cinco indivíduos. Embora com esse tamanho amostral mínimo seja possível ter uma estimativa preliminar da diversidade genética, um tamanho amostral entre 10 e 50 indivíduos é requerido para estimativas mais realísticas (TAKEZAKI; NEI, 1996). Portanto, para as espécies de cetáceos bem-amostradas foi considerado um tamanho amostral de pelo menos 10 indivíduos.

Amostras duplicadas (reamostragem ou recaptura do mesmo indivíduo) não

foram incluídas nas análises seguintes.

V.3.3.1 Diversidade genética mitocondrial

O número de haplótipos e os índices de diversidade genética para a região controle do DNA mitocondrial (DNAmt), como diversidade haplotípica (h) e nucleotídica (π), foram estimados usando o programa DNASP 6.12.1 (ROZAS et al., 2017).

O golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*) é a espécie com o maior número amostral do PMC-BS. Do total de 164 amostras coletadas ao longo dos oito anos, seis foram duplicadas e removidas das análises seguintes. O alinhamento das 158 sequências da região controle do DNAmt (685 pares de base) resultou em 17 haplótipos definidos por 21 sítios polimórficos. A segunda espécie mais amostrada é o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) com 118 amostras coletadas, sendo que 115 forneceram sequências de alta qualidade para a região controle do DNAmt. Após a remoção de quatro amostras duplicadas, o alinhamento de 111 sequências (675 pares de base) resultou em 19 haplótipos definidos por 37 sítios polimórficos (**Tabela V.3-11**).

Para as outras espécies de delfinídeos não houve amostras duplicadas, exceto duas de golfinho-rotador (*S. longirostris*) e uma de golfinho-pintado-pantropical (*S. attenuata*), e o número de haplótipos variou de dois (*Globicephala macrorhynchus*) a 31 (*S. longirostris*). O alinhamento das sequências das 11 amostras de orca (*Orcinus orca*) resultou em apenas um haplótipo (**Tabela V.3-11**).

Durante os oito anos do PMC-BS a baleia-sei (*Balaenoptera borealis*) foi a espécie de misticeto mais amostrada, com um total de 40 amostras coletadas, para as quais foram detectados 23 haplótipos (708 pares de base) definidos por 19 sítios polimórficos. A segunda espécie de baleia mais amostrada é a baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*), com 37 amostras obtidas (incluindo três amostras coletadas na costa norte de Santa Catarina), sendo que 36 forneceram sequências de alta qualidade para a região controle do DNAmt e três duplicadas foram removidas das análises seguintes. Portanto, para as 33 amostras foram detectados 25 haplótipos (690 pares de base) definidos por 41 sítios polimórficos (**Tabela V.3-2**).

Vinte e um haplótipos já haviam sido previamente encontrados nessa população de baleia-jubarte que frequenta o litoral brasileiro, considerada estoque reprodutivo A (CYPRIANO-SOUZA et al., 2018).

O número de haplótipos e as diversidades haplotípicas (h) e nucleotídicas (π) para cada espécie, com um número amostral mínimo de 5 indivíduos, são apresentadas na **Tabela V.3-11**. Dentre os odontocetos bem-amostrados (n > 10 amostras), *S. clymene* foi a espécie que apresentou a maior diversidade haplotípica (h = 0,956) e *S. longirostris* a maior diversidade nucleotídica (π = 1,67%), enquanto *Steno bredanensis* apresentou a menor diversidade haplotípica (h = 0,667) e *D. delphis* a menor diversidade nucleotídica (π = 0,18%). Para as espécies de misticetos bem amostradas (n > 10 amostras), enquanto *M. novaeangliae* e *B. borealis* exibiram uma diversidade genética elevada, *B. brydei* apresentou uma diversidade genética mitocondrial muito baixa (h = 0,257 e π = 0,13%).

Tabela V.3-11: *Diversidade genética do DNA mitocondrial das espécies de cetáceos amostradas na Bacia de Santos pelo PMC-BS. n = número de amostras, Seq. (pb) = sequência em pares de bases, S = sítios polimórficos, H = haplótipos, h = diversidade haplotípica, π = diversidade nucleotídica (%).*

Espécie	n	Seq. (pb)	S	H	h	π %
Eubalaena australis	3	682	18	3	-	-
Balaenoptera musculus	4	698	19	4	-	-
Balaenoptera physalus	7	694	13	6	0,952	0,71
Balaenoptera borealis	40	708	19	23	0,959	0,85
Balaenoptera brydei	15	677	6	3	0,257	0,13
Balaenoptera bonaerensis	8	720	29	8	1,000	1,30
Megaptera novaeangliae	33	690	41	25	0,983	1,37
Physeter macrocephalus	5	731	3	2	0,400	0,16
Orcinus orca	11	668	-	1	-	-
Peponocephala electra	5	700	7	4	0,900	0,48
Globicephala macrorhynchus	19	696	2	2	0,105	0,00
Tursiops truncatus	111	675	37	19	0,874	1,28
Steno bredanensis	18	659	7	6	0,667	0,29
Sotalia guianensis	2	704	-	1	-	-
Stenella frontalis	158	685	21	17	0,812	0,47

Espécie	n	Seq. (pb)	S	H	h	π %
Stenella longirostris	76	686	40	31	0,948	1,67
Stenella attenuata	21	698	14	5	0,714	0,54
Stenella clymene	14	684	22	10	0,956	0,95
Delphinus delphis	33	696	9	10	0,782	0,18

V.3.3.2 Diversidade genética nuclear

O programa MICRO-CHECKER, versão 2.2.3, foi usado para identificar possíveis alelos nulos (alelos não amplificados) e erros de genotipagem para os locos de microssatélites (VAN OOSTERHOUT et al., 2004). Para a análise o programa requer um número amostral mínimo de 10 indivíduos. Então somente as espécies bem-amostradas (n > 10 amostras) foram avaliadas. Nenhuma evidência de erro de genotipagem foi encontrada nos locos analisados para as 12 espécies (nove odontocetos e três misticetos). Embora tenha havido indicação de alelos nulos para alguns locos (D08, TexVet5 e TexVet7) em algumas espécies de delfinídeos, eles não foram excluídos das análises posteriores porque a remoção desses locos não afeta os resultados.

A identidade de genótipos (identificação individual) foi investigada por meio do programa GENECAP (WILBERG; DREHER, 2004), o qual compara cada genótipo com todos os outros para determinar aqueles que são idênticos (recaptura ou repetição). O programa também calcula a probabilidade de identidade ($P_{(ID)}$ e $P_{(ID)sib}$).

Conforme relatado nos Relatórios Anuais anteriores e Consolidado do PMC-BS (PETROBRAS, 2021; 2023a), foram identificados genótipos idênticos para cinco indivíduos de *S. frontalis*; quatro indivíduos de *T. truncatus*; três indivíduos de *M. novaeangliae*; dois indivíduos (um deles foi o único caso de recaptura em diferentes avistagens) de *S. longirostris*; dois indivíduos de *Physeter macrocephalus*; um indivíduo de *S. attenuata*; um de *B. physalus* e um de *B. musculus*. Todos os indivíduos que tiveram genótipos idênticos apresentaram os mesmos haplótipos e sexo, confirmando reamostragem do mesmo indivíduo. Todas as reamostragens foram durante a mesma avistagem (exceto a recaptura de *S. longirostris*).

Para *S. frontalis* além das reamostragens dos cinco indivíduos nos anos

anteriores, um genótipo idêntico foi identificado entre as amostras (G589 e G590) coletadas de um macho na 14ª Campanha de Telemetria, as quais apresentaram o mesmo haplótipo (HSF7) de DNAmt, confirmando reamostragem do indivíduo. Não foram identificados genótipos idênticos entre as amostras das outras espécies, portanto, os genótipos das 612 amostras de cetáceos (incluindo as três baleias-jubarte, GM1 a GM3, amostradas no norte de Santa Catarina) coletadas na Bacia de Santos correspondem a 589 indivíduos diferentes.

A diversidade genética nuclear foi estimada como número de alelos por loco (K), número médio de alelos por loco (A), heterozigozidade observada (H_O) e esperada (H_E), supondo equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada um dos locos, usando o programa CERVUS, versão 3.0 (KALINOWSKI et al., 2007), para as espécies com um número amostral mínimo de cinco indivíduos, e cada amostra contendo pelo menos seis locos de microssatélites.

O **Anexo V-4** (**Volume II**) exibe o número de alelos por loco (K) para cada espécie. Todas as espécies apresentaram todos ou a maioria dos locos polimórficos. A **Tabela V.3-3** apresenta o número médio de alelos por loco (A), a heterozigozidade observada (H_O) e a esperada (H_E) para as 16 espécies com um número amostral mínimo de cinco indivíduos.

Para os três misticetos bem amostrados (n > 10 amostras), o número de alelos por loco (exceto o loco EV37 de *B. brydei* que foi monomórfico) variou de 2 (EV94) em *B. brydei* a 19 (EV37) em *B. borealis* (**Volume II: Anexo V-4**). Conforme demonstrado nos anos anteriores, *B. borealis* é a espécie de misticeto com maior diversidade genética nuclear (A = 12,88 e H_O = 0,795), enquanto *B. brydei* apresenta a menor diversidade (A = 4,00 e H_O = 0,447) (Tabela V.3-3).

Dentre as nove espécies de odontocetos bem-amostradas (n > 10 amostras), o número de alelos por loco (exceto os locos MK6 de *S. bredanensis* e D08 de *O. orca* que foram monomórficos) variou de 2 (TexVet7) em *S. bredanensis* a 24 (EV1) em *S. frontalis* (**Volume II: Anexo V-4**). Enquanto *S. bredanensis* apresenta a menor diversidade genética nuclear (A = 4,66 e H_O = 0,439), *S. frontalis* e *G. macrorhynchus* apresentam o maior número médio de alelos por loco (A = 13,20) e a maior heterozigozidade média observada (H_O = 0,782), respectivamente (**Tabela V.3-12**).

***Tabela V.3-12**: Diversidade genética dos locos de microssatélites dos cetáceos amostrados na Bacia de Santos pelo PMC-BS. n = número de amostras, N = número de locos, A = número médio de alelos por loco, H_O = heterozigozidade observada, H_E = heterozigozidade esperada, $P_{(ID)}$ e $P_{(ID)sib}$ = probabilidades de identidade.*

Espécie	n	N	A	H_O	H_E	$P_{(ID)}$	$P_{(ID)sib}$
Balaenoptera physalus	7	9	7,88	0,787	0,880	$7,38 \times 10^{-13}$	$7,53 \times 10^{-5}$
Balaenoptera borealis	40	9	12,88	0,795	0,825	$7,14 \times 10^{-14}$	$7,39 \times 10^{-5}$
Balaenoptera brydei	14	9	4,00	0,447	0,523	$6,73 \times 10^{-6}$	$5,18 \times 10^{-3}$
Balaenoptera bonaerensis	8	9	8,33	0,873	0,881	$2,90 \times 10^{-13}$	$6,38 \times 10^{-5}$
Megaptera novaeangliae	33	9	10,55	0,708	0,798	$1,30 \times 10^{-12}$	$1,21 \times 10^{-4}$
Physeter macrocephalus	5	10	3,40	0,645	0,654	$2,19 \times 10^{-7}$	$1,19 \times 10^{-3}$
Orcinus orca	11	10	4,90	0,501	0,592	$8,73 \times 10^{-8}$	$1,23 \times 10^{-3}$
Peponocephala electra	5	9	4,22	0,688	0,676	$1,43 \times 10^{-7}$	$1,47 \times 10^{-3}$
Globicephala macrorhynchus	19	8	8,38	0,782	0,813	$2,39 \times 10^{-10}$	$3,73 \times 10^{-4}$
Tursiops truncatus	113	8	12,75	0,721	0,815	$3,24 \times 10^{-11}$	$2,61 \times 10^{-4}$
Steno bredanensis	18	9	4,66	0,439	0,477	$3,35 \times 10^{-6}$	$6,82 \times 10^{-3}$
Stenella frontalis	158	10	13,20	0,742	0,824	$7,32 \times 10^{-14}$	$2,88 \times 10^{-5}$
Stenella longirostris	76	9	13,11	0,707	0,800	$2,79 \times 10^{-13}$	$1,00 \times 10^{-4}$
Stenella attenuata	21	10	11,30	0,776	0,841	$1,77 \times 10^{-14}$	$2,76 \times 10^{-5}$
Stenella clymene	14	10	11,30	0,766	0,877	$3,25 \times 10^{-15}$	$1,90 \times 10^{-5}$
Delphinus delphis	33	8	8,87	0,678	0,767	$9,28 \times 10^{-10}$	$5,42 \times 10^{-4}$

V.3.3.3 Discussão sobre diversidade Genética

Ambos os marcadores, mitocondrial (exceto para *G. macrorhynchus*) e nuclear, revelaram moderados a altos níveis de diversidade genética para sete (*T. truncatus*, *S. frontalis*, *S. longirostris*, *S. attenuata*, *S. clymene*, *D. delphis* e *G. macrorhynchus*) das nove espécies de odontocetos bem amostradas na Bacia de Santos, similares aos níveis encontrados em outras populações dessas espécies (OREMUS et al., 2007; 2009; QUÉROUIL et al., 2007; MIRIMIN et al., 2009; CABALLERO et al., 2013; COURBIS et al., 2014; LOUIS et al., 2014; LOWTHER-THIELEKING et al., 2015; VIRICEL; ROSEL, 2014). Altos valores de diversidade genética são típicos de grandes populações panmíticas, que apresentam altos níveis de mobilidade em seu habitat.

Stenella frontalis é a espécie mais amostrada no PMC-BS e está atualmente

classificada como "Baixo Risco" (LC) pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) (BRAULIK; JEFFERSON, 2018), mas no Plano de Ação Nacional para Conservação do Mamíferos Aquáticos a espécie é citada como "Deficiente em Dados" (DD) (ICMBio, 2011). Essa carência de informações sobre a espécie e a ausência de estimativas confiáveis do tamanho populacional podem afetar a conservação da espécie que está exposta a uma variedade de impactos antropogênicos. Os indivíduos de *S. frontalis* amostrados na Bacia de Santos apresentaram uma moderada diversidade genética, não corroborando as baixas diversidades haplotípica e nucleotídica do DNAmt encontradas na população que ocorre no sul-sudeste do Brasil de um estudo recente (DO AMARAL et al., 2021). Por outro lado, os níveis de diversidade genética são similares àqueles encontrados nas populações do leste e oeste do Golfo do México e na população que ocorre na plataforma continental no oeste do Oceano Atlântico Norte (VIRICEL; ROSEL, 2014).

No Oceano Atlântico Sul Ocidental os ecótipos oceânico e costeiro de *T. truncatus* são diferenciados geneticamente e morfologicamente, e recentemente foram validados como duas subespécies (*T. truncatus truncatus* e *T. truncatus gephyreus*) diferentes (FRUET et al., 2017; IWC, 2018; COSTA et al., 2021) ou mesmo espécies diferentes (WICKERT et al., 2016). Os indivíduos de *T. truncatus* amostrados na Bacia de Santos apresentaram uma morfologia característica do ecótipo oceânico ou subespécie *T. truncatus truncatus* (conforme SIMÕES-LOPES et al., 2019). Além disso, o compartilhamento dos haplótipos encontrados nos indivíduos da Bacia de Santos com aqueles encontrados na subespécie *T. truncatus truncatus* (PETROBRAS, 2023a) e a alta variabilidade genética encontrada nesses indivíduos, similar àquela encontrada no ecótipo oceânico, principalmente no grupo amostrado nas Bacias de Campos e Santos (OLIVEIRA et al., 2019; COSTA et al., 2021), confirmam que os golfinhos-nariz-de-garrafa amostrados tanto na plataforma continental mais próximos a costa quanto na área oceânica do Talude da Bacia de Santos pertencem à subespécie *T. truncatus truncatus*.

Os indivíduos de *S. longirostris* amostrados na Bacia de Santos apresentaram os mais altos níveis de diversidade genética de todas as espécies de odontocetos, e similares àqueles das populações da espécie no Arquipélago da Sociedade (Polinésia Francesa), nas Ilhas Mariana, nas Ilhas Samoa e no Arquipélago de Maiote,

característico de uma população maior panmítica (OREMUS et al., 2007; ANDREWS et al., 2013; MARTIEN et al., 2014; VIRICEL et al., 2016). Em contrapartida, um estudo genético recente revelou que a população de *S. longirostris* do Arquipélago de Fernando de Noronha, Oceano Atlântico Sul Ocidental, tem a mais baixa diversidade genética mitocondrial de todas as populações da espécie no mundo, e que essa população tem um maior isolamento genético do que as outras populações de ilhas de diferentes bacias oceânicas (FARIA et al., 2020).

Stenella attenuata apresentou uma diversidade genética mitocondrial menor do que a das outras espécies de *Stenella*, mas ainda sim maior do que a encontrada para a espécie nas ilhas do Havaí (COURBIS et al., 2014). Esses dados são importantes para o conhecimento do status da espécie, considerada no Plano de Ação Nacional para Conservação de Mamíferos Aquáticos como "Deficiente em Dados" (DD) no Brasil (ICMBio, 2011).

Enquanto *D. delphis* está classificado como "Baixo Risco” na Lista Vermelha da IUCN (BRAULIK et al., 2021), no Brasil, a espécie está classificada no Plano de Ação Nacional para Conservação de Mamíferos Aquáticos como "Deficientes em Dados" (DD) (ICMBio, 2011). Os indivíduos de *D. delphis* da Bacia de Santos apresentaram uma diversidade haplotípica moderada ($h = 0,782$), mas a diversidade nucleotídica foi a mais baixa dos delfinídeos ($\pi = 0,18\%$) e a diversidade genética nuclear foi a segunda mais baixa dos delfinídeos bem amostrados ($n > 10$). Além disso, essa população apresentou uma diversidade genética menor quando comparada àquela das populações da espécie tanto no oeste quanto no leste do Oceano Atlântico Norte (MIRIMIN et al., 2009).

Conforme discutido nos Relatórios Anuais anteriores do PMC-BS (PETROBRAS, 2023a), *S. bredanensis* foi a espécie de delfinídeo bem amostrada com a menor diversidade genética mitocondrial (exceto para *G. macrorhynchus*) e nuclear, e similar ao que foi encontrado para as populações das Ilhas da Sociedade para a região controle do DNAmt, e das Ilhas Samoa para microssatélites (ALBERTSON et al., 2017). A espécie está classificada como "Baixo Risco" (LC) na Lista Vermelha da IUCN (KISZKA et al., 2019) e no Brasil como "Deficiente em Dados" (DD) (ICMBio, 2011). Seus hábitos costeiros no Atlântico Sul Ocidental fazem a espécie mais suscetível a ameaças antrópicas, tais como degradação de habitat, poluição química

e sonora, e emalhamento em redes de pesca.

Conforme relatado, das 19 amostras de *G. macrorhynchus* 18 apresentaram o mesmo haplótipo de DNAmt, que foi compartilhado com o haplótipo A (FJ513328) encontrado principalmente nas baleias-piloto-de-peitorais-curtas do Oceano Pacífico Sul, e nos indivíduos do Arquipélago dos Açores, no Oceano Atlântico Norte (OREMUS et al., 2009). De fato, estudos genéticos têm encontrado níveis extremamente baixos de diversidade genética na região controle do DNAmt para as espécies de *Globicephala* por causa de uma divergência recente das populações dessas espécies.

O conhecimento da variabilidade genética para as três espécies de misticetos bem-amostradas é importante, principalmente para a baleia-de-Bryde (*B. brydei*) e a baleia-sei (*B. borealis*), considerando a escassez ou ausência, respectivamente, de dados genéticos para suas populações no Oceano Atlântico Sul Ocidental.

Conforme apresentado nos Relatórios anteriores (PETROBRAS, 2023a), as baleias-de-Bryde (*B. brydei*) da Bacia de Santos apresentaram os níveis de diversidade genética mitocondrial e nuclear mais baixos comparados àqueles das outras espécies de misticeto e das outras populações de *B. brydei* nos Oceanos Pacífico e Índico (KANDA et al., 2007), corroborando também recentes estudos genéticos que encontraram somente dois e três haplótipos de DNAmt em oito e 17 indivíduos, respectivamente, na população de *B. brydei* do Brasil (PASTENE et al., 2015; MILMANN, 2020). Esse baixo nível de diversidade genética pode ser explicado por vários fatores, como um evento histórico natural, persistência por longo prazo em um tamanho populacional pequeno ou um evento de impacto antropogênico recente como a caça. Milmann (2020) sugere que essa baixa diversidade genética encontrada na população brasileira se deve a uma colonização relativamente recente (efeito fundador) ao invés de um *bottleneck* causado por atividades antrópicas. Independentemente da causa, essa baixíssima diversidade genética demanda uma prioridade no monitoramento dessa população e reforça a necessidade de ações efetivas de conservação da espécie.

Por outro lado, as baleias-sei que ocorrem na Bacia de Santos, Oceano Atlântico Sul Ocidental, apresentaram altos níveis de diversidade genética mitocondrial e nuclear, os quais foram muito maiores do que aqueles das populações do Oceano

Atlântico Norte e do Pacífico Norte (HUIJSER et al., 2018). Este resultado indica que a população de *B. borealis* do Atlântico Sul manteve uma alta variabilidade genética mesmo sendo mais explorada pela caça comercial. No Oceano Atlântico Sul, as capturas de baleias-sei ocorreram desde a Península Antártica até o norte do Brasil, sendo as maiores capturas feitas por frotas pelágicas antárticas que mataram cerca de 130.000 baleias nas águas ao sul de 40° S (HORWOOD, 1987).

As baleias-jubarte amostradas na Bacia de Santos fazem parte do estoque reprodutivo A e também apresentaram uma alta diversidade genética mitocondrial e nuclear, similar às outras populações de *M. novaeangliae* do Hemisfério Sul. Cypriano-Souza et al. (2017) sugerem que, embora a caça comercial tenha reduzido essas populações durante o século XX, a ausência de perda da diversidade genética nessas populações deve-se à curta duração do *bottleneck* (~ três gerações), à longevidade da espécie (provavelmente mais que 70 anos (GABRIELLE et al., 2010) e ao tamanho populacional mínimo absoluto alcançado (N_{min} = 500 em 1950, de acordo com ZERBINI et al., 2011).

V.3.4 Proporção Sexual

A estimativa da proporção sexual em populações de mamíferos é um parâmetro muito importante para a compreensão do comportamento reprodutivo, da dinâmica populacional, incluindo diferença na tendência à dispersão entre os sexos, e da densidade demográfica (BROWN et al., 1991). Embora assuma-se que a proporção sexual esperada seja de 1:1 (mesmo número de fêmeas e machos) em populações naturais, em cetáceos essa proporção desvia da taxa esperada de 1:1 para muitas populações (CASTILHO et al., 2015; GREEN et al., 2011; KELLAR et al., 2013).

Como a maioria das espécies de cetáceos não apresenta um dimorfismo sexual evidente, e está limitado ao tamanho, ao peso e a localização das regiões genital e anal, o sexo de um indivíduo pode ser determinado a partir de amostras de biópsia coletadas dos indivíduos através da análise de regiões sexo-específicas no DNA.

O DNA das amostras de biópsia foi amplificado para os genes Sry (macho específico) e ZFX/ZFY (fêmea e macho) seguindo o protocolo de Gilson et al. (1998). O produto amplificado foi verificado em gel de agarose (1,5%) e o sexo dos indivíduos

amostrados foi identificado como macho (duas bandas) ou fêmea (uma banda).

Durante os oito anos do PMC-BS, um total de 603 amostras das 612 (incluindo as três baleias-jubarte (**GM1 a GM3**) amostradas no norte de Santa Catarina), coletadas nas Campanhas de Telemetria e de Avistagem Embarcada e MAP, tiveram o sexo determinado geneticamente, resultando na identificação de 327 fêmeas e 276 machos.

Após a identificação das 21 espécies de cetáceos e a identificação individual para cada amostra (ver item **V.3.3 Diversidade Genética**), 20 amostras identificadas como reamostragem (cinco fêmeas e 14 machos) ou recaptura do mesmo indivíduo (uma fêmea de *S. longirostris*) foram removidas, resultando em 583 indivíduos sexados (321 fêmeas e 262 machos). A **Tabela V.3-13** e a **Figura V.3-6** apresentam o número de machos e fêmeas para cada espécie amostrada. A proporção sexual foi estimada para cada espécie bem-amostrada (número amostral maior que 10 indivíduos) e comparada à proporção esperada de 1:1 usando um Teste Binomial Exato.

Tabela V.3-13: *Número de machos e fêmeas identificados geneticamente e proporção sexual (F:M = fêmeas para machos) para cada espécie amostrada nas campanhas de Telemetria e de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS. *Inclui 2 amostras (1 macho e 1 fêmea) coletadas no norte do estado de Santa Catarina.*

Espécie	Macho	Fêmea	Total	Proporção (F:M)	Valor de p
Eubalaena australis	2	1	3	-	-
Balaenoptera musculus	1	3	4	-	-
Balaenoptera physalus	4	3	7	-	-
Balaenoptera borealis	20	20	40	1:1	1,000
Balaenoptera brydei	5	9	14	1,80:1	0,424
Balaenoptera acutorostrata	0	1	1	-	-
Balaenoptera bonaerensis	4	4	8	-	-
*Megaptera novaeangliae**	21	10	31	1:2,10	0,071
Physeter macrocephalus	0	5	5	-	-
Orcinus orca	10	1	11	1:10	**0,012**
Pseudorca crassidens	0	1	1	-	-
Peponocechala electra	1	3	4	-	-
Globicephala macrorhynchus	11	8	19	1:1,37	0,648
Tursiops truncatus	49	64	113	1,30:1	0,188

Espécie	Macho	Fêmea	Total	Proporção (F:M)	Valor de p
Steno bredanensis	6	12	18	2:1	0,238
Sotalia guianensis	1	1	2	-	-
Stenella frontalis	74	84	158	1,13:1	0,474
Stenella longirostris	25	51	76	2,04:1	**0,003**
Stenella attenuata	8	13	21	1,62:1	0,383
Stenella clymene	5	9	14	1,80:1	0,424
Delphinus delphis	15	18	33	1,20:1	0,728
Total	**262**	**321**	**583**	-	-

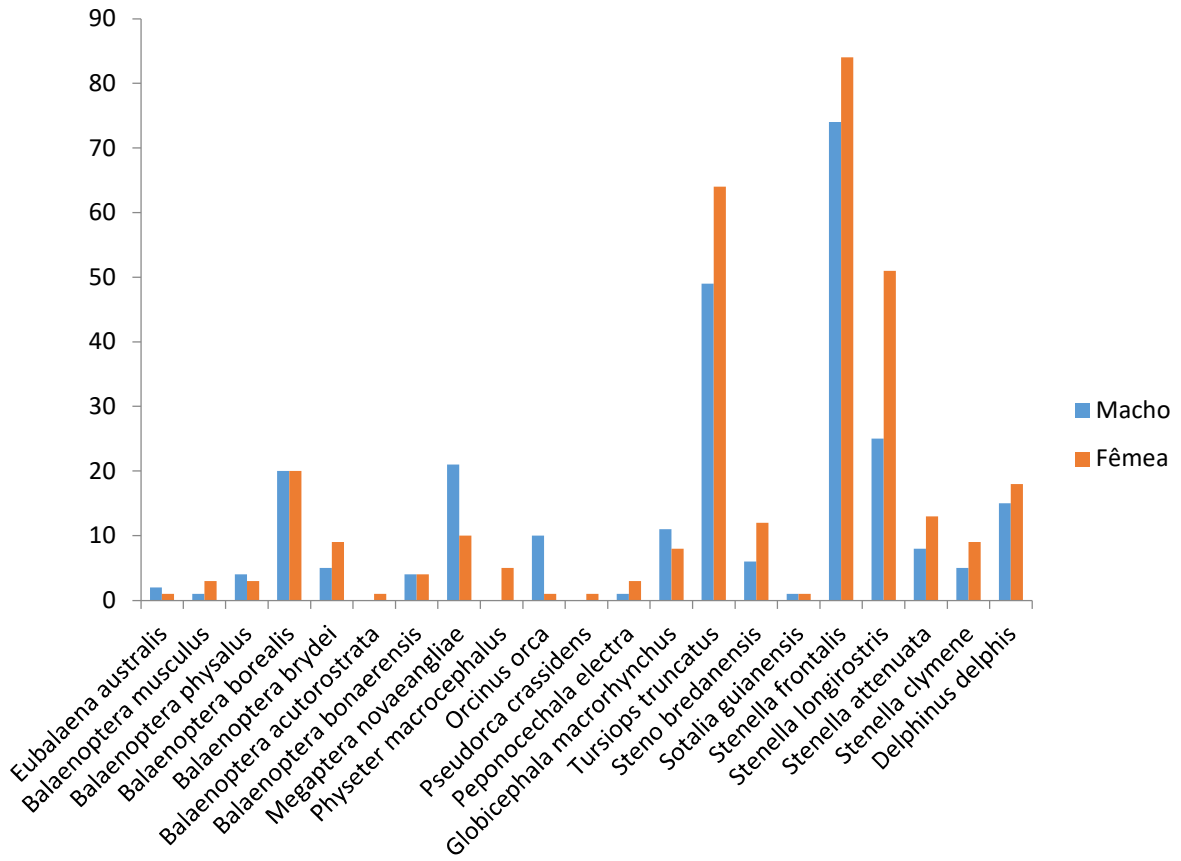


Figura V.3-6: *Frequência de machos e fêmeas identificados geneticamente para cada espécie de cetáceo amostrada nas campanhas de Telemetria e de Avistagem Embarcada e MAP durante os oito anos do PMC-BS.*

A maioria das espécies bem amostradas (n > 10 indivíduos) apresentou um número maior de fêmeas, principalmente todos os delfinídeos do gênero *Stenella*, *T.*

truncatus, *S. bredanensis* e *D. delphis*, além de um misticeto bem amostrado (*B. brydei*) (**Figura V.3-2**). No entanto, somente em *S. longirostris* a proporção sexual foi significativamente enviesada para fêmeas (2,04:1; p = 0,003), diferindo da taxa esperada de 1:1. A proporção sexual foi significativamente enviesada para machos (10:1; p = 0,012) em *O. orca*, mas o número amostral ainda é pequeno.

V.3.4.1 Discussão - Proporção sexual

Diferentes proporções sexuais têm sido encontradas para as mesmas espécies de delfinídeos. Por exemplo, para *D. delphis* foi encontrada uma proporção sexual enviesada para fêmeas tanto na população oceânica quanto na população costeira da Nova Zelândia (2:1), e na população da Califórnia (1,8:1) (KELLAR et al., 2013; STOCKIN et al., 2014). Por outro lado, o mesmo número de fêmeas e de machos de *D. delphis* foi encontrado na costa leste do Oceano Atlântico Norte, corroborando a proporção sexual esperada de 1:1 (AMARAL et al., 2007).

Uma razão sexual ligeiramente maior para fêmeas de *S. frontalis* foi também encontrada no oeste do Atlântico Norte e no Golfo do México (1,2:1), e na Ilha de Grande Bahamas (1,4:1) (GREEN et al., 2011; VIRICEL; ROSEL, 2014). Apesar dos golfinhos-pintados-do-Atlântico da Bacia de Santos apresentarem um número maior de fêmeas (1,13:1) até o momento, a diferença além de ser pequena na proporção sexual, não diferiu significantemente da taxa esperada de 1:1.

Da mesma forma, para *T. truncatus* não foram encontrados desvios significativos da proporção sexual de 1:1 para os ecótipos costeiro (1,43:1 para machos) e oceânico (1,17:1 para fêmeas) da costa da California e para o ecótipo oceânico (subespécie *T. truncatus truncatus*) no sul do Brasil (1,25:1 para machos) (FRUET et al., 2017; LOWTHER-THIELEKING et al., 2015). Os golfinhos-nariz-de-garrafa amostrados na Bacia de Santos embora tenham um número ligeiramente maior de fêmeas (1,30:1) não apresentaram diferença significativa da taxa de 1:1.

Ao contrário dessa tendência em relação às fêmeas encontrada para as espécies de delfinídeos amostradas na Bacia de Santos, a razão sexual foi maior para machos em *D. delphis* na Ilha da Madeira (9:1) e no Arquipélago dos Açores (1,22:1); nas populações oceânicas de *T. truncatus* no Arquipélago de São Pedro e São Paulo

(1,8:1) e no Arquipélago dos Açores (2,8:1); em *S. frontalis* na Ilha da Madeira (3,3:1) e no Arquipélago dos Açores (1,3:1); em *S. attenuata* nas ilhas do Havaí (1,3:1); em *S. longirostris* no Arquipélago da Sociedade, Polinésia Francesa (1,7:1), e no Arquipélago de Fernando de Noronha (1,6:1) (OREMUS et al., 2007; QUÉROUIL et al., 2007; 2010a; COURBIS et al., 2014; CASTILHO et al., 2015; FARIA et al., 2020). Alguns autores sugeriram que uma tendência na amostragem pode explicar essa diferença, já que as fêmeas com filhote evitaram se aproximar do barco (QUÉROUIL et al., 2007; 2010b; CASTILHO et al., 2015). No entanto, nas campanhas do PMC-BS, as fêmeas com filhote das espécies do gênero *Stenella* e de *T. truncatus* se aproximaram da embarcação e, assim como os machos, apresentaram o comportamento de nadar na proa do barco (*bow-riding*).

Kellar et al. (2013) também sugeriram que as diferenças na proporção sexual observadas para a mesma espécie de diferentes populações, ou espécies semelhantes em morfologia e comportamento, podem estar relacionadas com alguma tendência na amostragem (evitar biopsiar fêmeas com filhotes, e/ou biopsiar somente animais em comportamento de *bow-riding*) ou outros fatores como localização geográfica e tamanho do grupo. Embora esses estudo não tenha encontrado evidências definitivas de que a amostragem por biópsias pode ser tendenciosa na estimativa da proporção sexual, os autores descobriram que esse parâmetro varia em relação às espécies, plataformas e localização geográfica, e sugerem que outros parâmetros, como maturidade sexual e estrutura etária devam também ser investigados em relação a esses fatores.

Conforme discutido nos Relatórios Anuais anteriores do PMC-BS (PETROBRAS, 2023a), *G. macrorhynchus* e *M. novaeangliae* apresentaram um número maior de machos (**Figura V.3-2**), mas a proporção sexual não diferiu significantemente da taxa esperada de 1:1 para essas espécies (**Tabela V.3-3**). Embora tenha sido relatado uma proporção maior de machos de baleia-jubarte nas áreas de reprodução e uma proporção maior de fêmeas ou uma taxa de 1:1 nas áreas de alimentação (OLAVARRÍA et al., 2007; CARVALHO et al., 2014; SCHMITT et al., 2014), a população de baleias-jubarte que frequenta o litoral do Brasil, considerada estoque reprodutivo A, essa taxa não diferiu da taxa esperada de 1:1 (CYPRIANO-SOUZA et al., 2017).

Similar a um estudo genético com as orcas na Nova Zelândia realizado com um número amostral pequeno de 11 indivíduos, sendo nove machos e duas fêmeas (OLAVARRÍA et al., 2013), as orcas amostradas (n = 11) na Bacia de Santos foram predominantemente machos, com somente uma fêmea amostrada. No entanto, durante as avistagens os grupos de orcas têm um número maior de fêmeas. Portanto, esse número elevado de machos deve ser devido a tendência na amostragem, evitando biopsiar fêmeas com filhotes, ou pelo simples fato do macho ser mais acessível no momento da amostragem.

V.3.5 Tamanho corporal por fotogrametria

Até o momento, foram realizadas medições de tamanho via fotogrametria de 96 indivíduos de oito espécies. Os dados compreendem espécies de médio e grande porte, como sumarizado na **Figura V.3-7**.

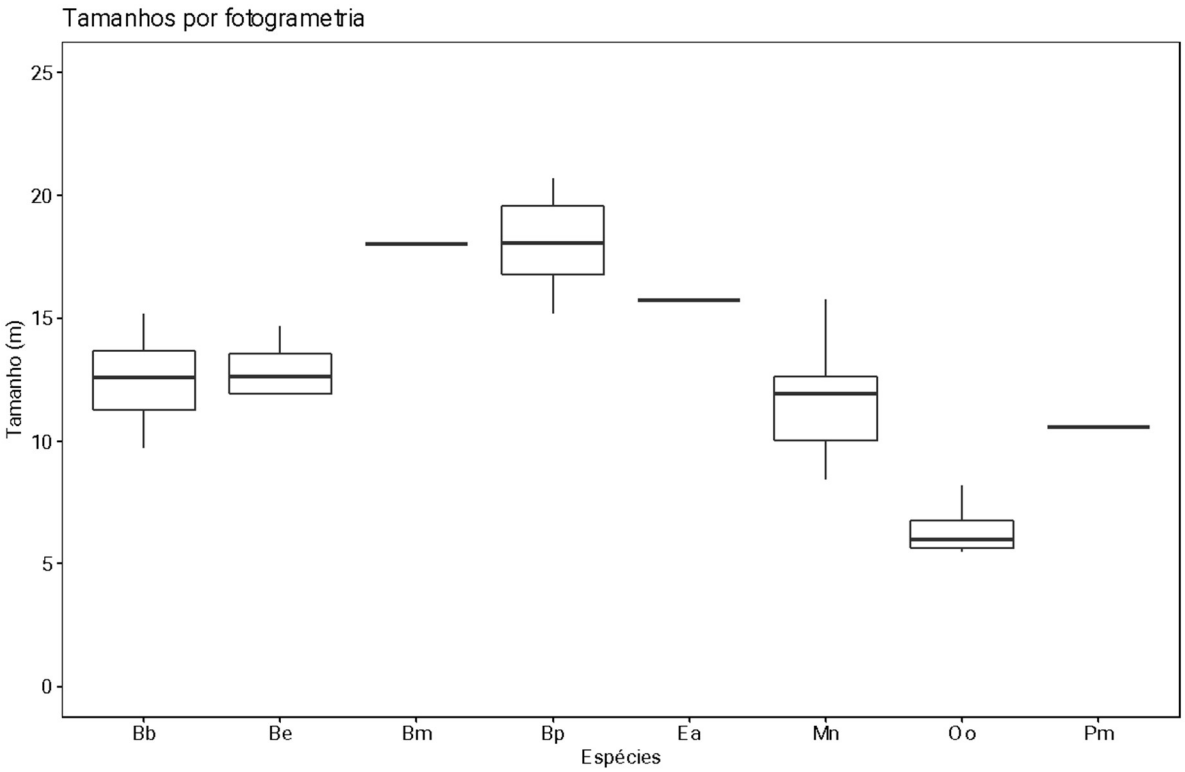


Figura V.3-7: *Distribuição dos tamanhos corporais mensurados para cada espécie por fotogrametria durante as campanhas do PMC-BS. Abreviação das espécies:*

Balaenoptera borealis *(Bb),* ***B. brydei*** *(Be),* ***B. musculus*** *(Bm),* ***B. physalus*** *(Bp),* ***Eubalaena australis*** *(Ea),* ***Megaptera novaeangliae*** *(Mn),* ***Orcinus orca*** *(Oo) e* ***Physeter macrocephalus*** *(Pm).*

A **Figura V.3-8** apresenta histogramas de distribuição de tamanho corporal para as espécies com maior volume de dados. *Balaenoptera borealis* é a terceira maior baleia em comprimento. Teve o segundo maior número de indivíduos medidos pelo PMC-BS, com tamanhos variando de 9,71 a 15,17 m (média = 12,44±1,50). As baleias sei do Hemisfério Sul tem o potencial de chegar a tamanhos maiores do que as do Hemisfério Norte, com o registro confiável de uma fêmea atingindo 19,5 m de comprimento (HORWOOD, 1987). Contudo, esses animais maiores fazem parte de registros históricos do período da caça a baleia. O tamanho dos indivíduos atualmente variam de acordo com o sexo: as fêmeas, quando adultas, atingem entre 15,2 e 15,8 m e os machos entre 14,5 e 15 m, uma variação de 0,5 a 0,6 metros entre os sexos (HORWOOD, 1987). A maturidade sexual dos machos caçados na estação baleeira de Donkergat, África do Sul, era atingida em média aos 7,5 e 8,6 anos, com o animal medindo entre 13,4 e 13,8 m (BEST; LOCKYER, 2002; LOCKYER, 1974). Seguindo a literatura, dos 24 indivíduos amostrados pelo PMC-BS, oito indivíduos foram classificados como adultos e dezesseis como juvenis (**Figura V.3-8**).

Balaenoptera physalus é a segunda maior espécie de baleia que existe. Há uma breve distinção entre tamanhos dos animais do Hemisfério Sul para o Hemisfério Norte, sendo que os animais do Hemisfério Sul podem atingir até 26 m de comprimento. Machos costumam atingir 23 - 25 m, enquanto as fêmeas, 24-26 m (CARWARDINE, 2019). Filhotes nascem em média com 6,5 m (CARWARDINE, 2019). A maturidade sexual é atingida aos 19 metros em machos e 20 em fêmeas, aos aproximados 6-7 anos e 7-8 anos respectivamente (LOCKYER, 1972). A baleia fin foi a terceira espécie mais amostrada por fotogrametria pelo PMC-BS, totalizando 17 animais mensurados, com variações de tamanho entre 15,16 m e 20,7 m de comprimento (média=18,17±1,70), 12 juvenis e 7 adultos (**Figura V.3-8**).

Balaenoptera brydei é uma espécie de grande porte e pode atingir o comprimento máximo de 16,5 m (JEFFERSON et al., 2015). Os filhotes nascem com 4 metros e o tamanho médio quando adulto é de 15 metros de comprimento. As fêmeas costumam

ser ligeiramente maiores do que os machos, que atingem o tamanho máximo de 14,5 metros de comprimento (CARWARDINE, 2019). A maturidade sexual ocorre aproximadamente aos sete anos de idade, machos com aproximadamente 11 - 11,4 metros e fêmeas 11,6 - 11,8 m (BEST, 1977). No PMC-BS, foram mensuradas nove baleias de bryde. Os tamanhos variaram de 8,71 m a 14,66 m (média =12,25± 2). De acordo com a composição de um grupo amostrado, foi possível identificar o tamanho de uma fêmea (12,11 m) e um escorte (13,46 m) que estavam acompanhados de um filhote de 8,71 m e representou o tamanho mínimo encontrado para a espécie no PMC-BS (**Figura V.3-8**).

Orcinus orca são animais de médio porte e variam de tamanho de acordo com seu ecótipo. Na costa do Brasil, acredita-se que o ecótipo A seja o mais comum, embora haja registros de migração do ecótipo B da Antártica para o sul do Brasil (DURBAN; PITMAN, 2012). O tipo A é conhecido por ser morfologicamente maior, com fêmeas atingindo 6,4 m e os machos podendo atingir 9 m de comprimento (CARWARDINE, 2019). No PMC-BS, foram mensurados quatro indivíduos, sendo um macho de 8,23 m, e três fêmeas (**Figura V.3-8**).

O único indivíduo de *Balaenoptera musculus* mediu 18,04 metros, o que também sugere ser um juvenil, já que a maturidade sexual ocorre com aproximadamente 23 metros (MIZROCH et al., 1984a). Estudos genéticos sugerem que a subespécie que ocorre na Bacia de Santos seja a baleia azul Antártica (*B. m. intermedia*), a maior das subespécies, podendo atingir 29 m de comprimento, com registro de tamanho máximo de 33,58 m (CARWARDINE, 2019). Também foi realizado um único registro para *Eubalaena australis*, uma espécie também classificada de grande porte. Fêmeas da espécie podem atingir até 17 m, contudo o tamanho médio é de 16,5 m de comprimento (CARWARDINE, 2019), atingindo a maturidade sexual a partir do nono ano de vida (PAYNE et. al., 1990). Os machos atingem 16 m (CARWARDINE, 2019). O único registro do PMC-BS foi uma fêmea adulta de 15,71 m de comprimento. O sexo foi identificado através de análise genética. *Physeter macrocephalus* é o maior animal da subordem Odontoceti, com com fêmeas atingindo o tamanho máximo de 11 metros e os machos podendo atingir 18 metros de comprimento (BEST, 1979). Até o presente momento, uma cachalote foi mensurada pelo PMC-BS, com 10,59 m e sexo não identificado (a maturidade física é atingida em fêmeas aos 10,6 m, e nos

machos, ao atingirem os 14 m; BEST et al., 1984; RICE, 1989).

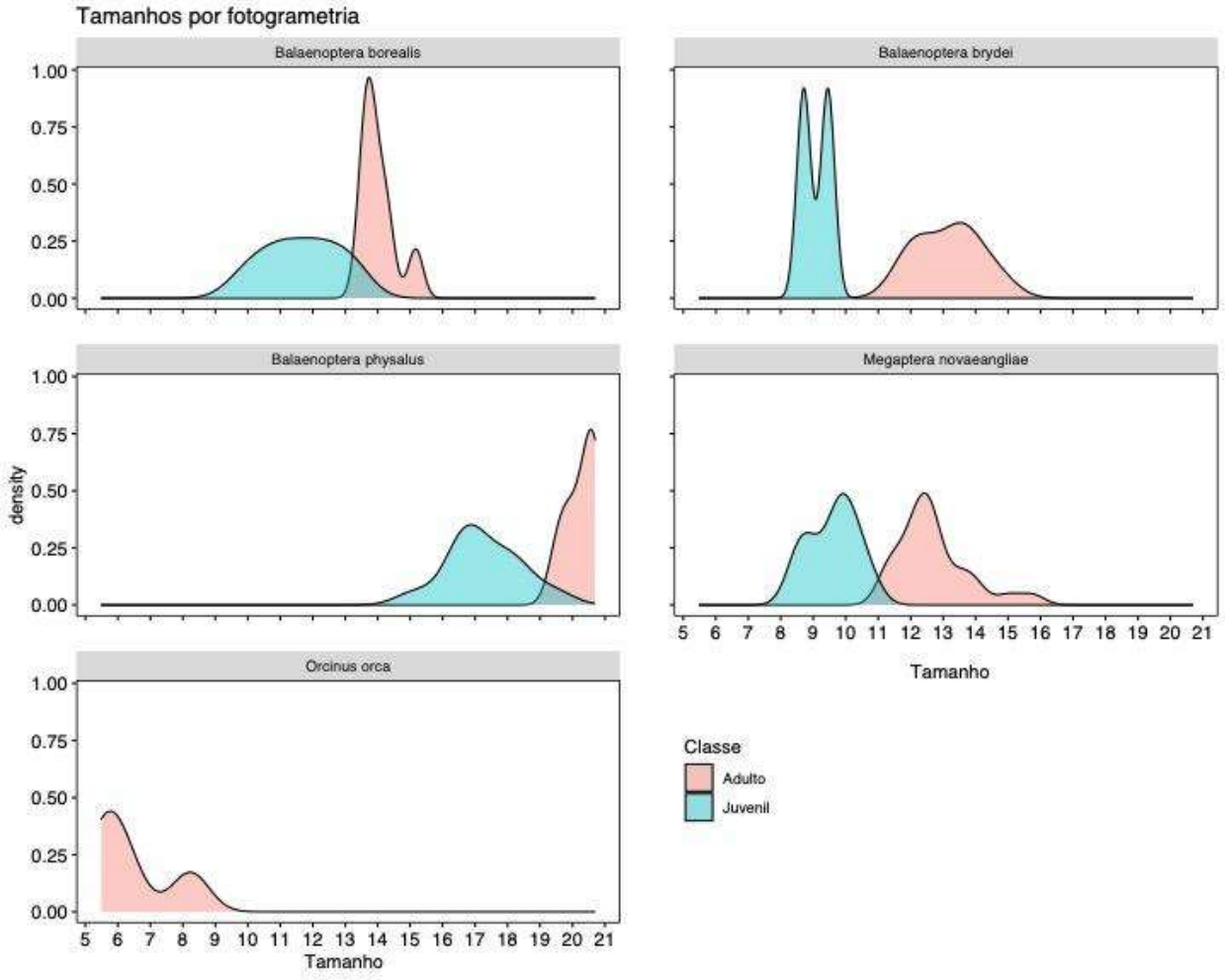


Figura V.3-8: *Distribuição dos tamanhos corporais mensurados por fotogrametria durante o Ciclo de Médio Prazo PMC-BS até o momento para cada espécie com maior volume de dados, separados por classe de idade (juvenil ou adulto), segundo a literatura.*

V.4 Padrões comportamentais

V.4.1 Comportamento de mergulho

O mergulho e o uso vertical dos habitats marinhos são características importantes do comportamento dos cetáceos. Todos os cetáceos utilizam a superfície marinha quando respiram, mas diversas espécies utilizam também estratos mais profundos dos mares. A forma como as espécies utilizam a coluna d'água está fortemente relacionada com a sua ecologia, como a localização de suas presas e as suas adaptações para suportar a pressão e a apneia. Assim, o comportamento de mergulho de cada espécie, ou mesmo de cada população, é fortemente influenciado por uma variedade de fatores, incluindo aspectos do ambiente e da fisiologia das espécies.

O tamanho do indivíduo, sua idade e seu sexo são fatores que influenciam sua capacidade de mergulho, enquanto variações nictemerais, sazonais ou interanuais no ambiente marinho influenciam a abundância e a distribuição espaço-temporal de suas presas na coluna d'água. A combinação destes fatores é que definirá como os indivíduos utilizarão a coluna d'água (BAIRD et al., 2002; 2005). Mergulhos mais longos, seja para alimentação ou durante a migração, no caso das espécies migratórias de misticetos, tendem a ser seguidos por uma série de curtos intervalos respiratórios antes do início de outro mergulho prolongado (BERTA; SUMICH, 1999). Isso se deve principalmente a questões fisiológicas, relativas às trocas gasosas.

Foram obtidas informações sobre o comportamento de mergulho de 11 espécies, sendo sete delas misticetos (*Eubalaena australis*, *Balaenoptera musculus*, *B. physalus, B. brydei, B. borealis, B. bonaerensis* e *Megaptera novaeangliae*) e cinco delas, odontocetos, incluindo o cachalote (*Physeter macrocephalus*) e quatro delfinídeos (*Tursiops truncatus, Orcinus orca, Globicephala macrorhynchus* e *Grampus griseus*) (**Tabela V.4-1**).

Não houve transmissão de informações de mergulho para *Peponocephala electra* e *Steno bredanensis*, embora tenham sido transmitidas informações de posição geográfica dos indivíduos marcados. Este fato pode estar associado ao curto período de permanência do transmissor nestes indivíduos e à posição do transmissor no corpo

do animal, fatores que podem reduzir a janela de tempo disponível na superfície para o envio de dados. Vale destacar que os dados de posição são sempre priorizados no envio. Para alguns indivíduos, de diferentes espécies, que se movimentaram muito próximo à costa, os mergulhos considerados inconsistentes (profundidade de mergulho maior do que a profundidade local) foram retirados das análises. Para alguns indivíduos não houve a transmissão das planilhas que armazenam os dados de mergulho (*Behavior),* fazendo com que o tamanho amostral na análise dos mergulhos de algumas espécies tenha sido menor do que na análise de movimentos.

Neste 8º Relatório Anual são apresentadas informações mais detalhadas sobre comportamento de mergulho apenas para aquelas espécies que tiveram novos indivíduos marcados no último ano (2022). Para as demais espécies, é indicado consultar o 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023a).

Tabela V.4-1: *Características dos mergulhos das espécies marcadas com transmissores satelitais ao longo de oito anos de PMC-BS. Os valores mínimos entre parênteses indicam qual a profundidade mínima definida na análise para considerar uma imersão como sendo um mergulho.*

Espécie	Nº *tags* analisados	Nº mergulhos	Duração (minutos) (média ± desvio padrão) máxima	Profundidade (metros) (média ± desvio padrão) máxima
Família Balaenidae				
Eubalaena australis (mínimo = 10 metros)	1	3.065	6,1 ± 2,8 20,4	46,2 ± 27,8 125,2
Família Balaenopteridae				
Balaenoptera musculus (mínimo = 10 metros)	2	2.259	6,7 ± 4,4 23,9	42,1 ± 44,3 387,5
Balaenoptera physalus (mínimo = 10 metros)	2	307	7,9 ± 5,1 27,4	25,9 ± 23,6 209,5
Balaenoptera borealis (mínimo = 10 metros)	22	5.043	4,1 ± 3,1 20,9	16,0 ± 11,2 193,5
Balaenoptera brydei (mínimo = 10 metros)	4	254	4,7 ± 3,2 24,8	41,5 ± 36,4 165,5
Balaenoptera bonaerensis (mínimo = 5 metros)	4	1.447	4,3 ± 3,9 24,3	19,6 ± 17,9 181,5
Megaptera novaeangliae	7	5.828	3,3 ± 2,8	39,2 ± 38,1

Espécie	Nº *tags* analisados	Nº mergulhos	Duração (minutos) (média ± desvio padrão) máxima	Profundidade (metros) (média ± desvio padrão) máxima
(mínimo = 10 metros)			26,8	355,5
Família Physeteridae				
Physeter macrocephalus (mínimo = 10 metros)	3	653	18,1 ± 19,6 65,8	283,5 ± 364,7 1.447,5
Família Delphinidae				
Orcinus orca (mínimo = 5 metros)	10	8.131	3,8 ± 2 17,5	26,2 ± 37,5 403,5
Globicephala macrorhynchus (mínimo = 5 metros)	7	3.759	5,2 ± 5,0 24,6	63,6 ± 117,5 959,5
Grampus griseus (mínimo = 5 metros)	1	95	1,9 ± 1,9 8,6	32,7 ± 48,1 185,5
Tursiops truncatus (mínimo = 1,5 metros)	11	4.345	1,0 ± 0,9 8,1	9,9 ± 15,7 114,5
TOTAL	**74**	**35.186**	**--**	**--**

V.4.1.1 Comportamento de mergulho por espécie

Baleia-franca, ***Eubalaena australis***

Foram obtidas informações para uma fêmea em 2022, com um total de 3.065 mergulhos registrados. Os mergulhos mais profundos atingiram 125,2 m (mergulho em *Square* e U), e o mais longo chegou a 20,4 min (mergulho *Square*) (**Figura V.4-1**).

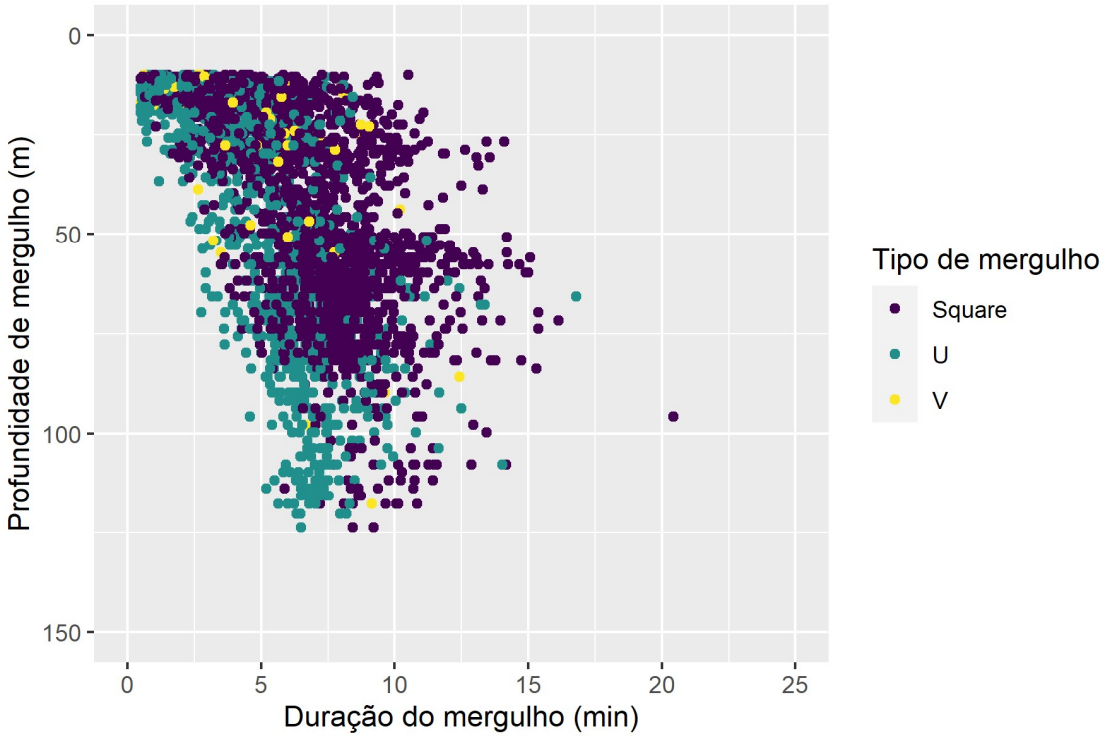


Figura V.4-1: *Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para um indivíduo de* ***Eubalaena australis*** *marcado com transmissor satelital pelo PMC-BS.*

Considerando todos os tipos de mergulho, os mergulhos diurnos foram mais profundos do que os noturnos (Kruskal-Wallis, W = 1083981; $p < 0,05$).

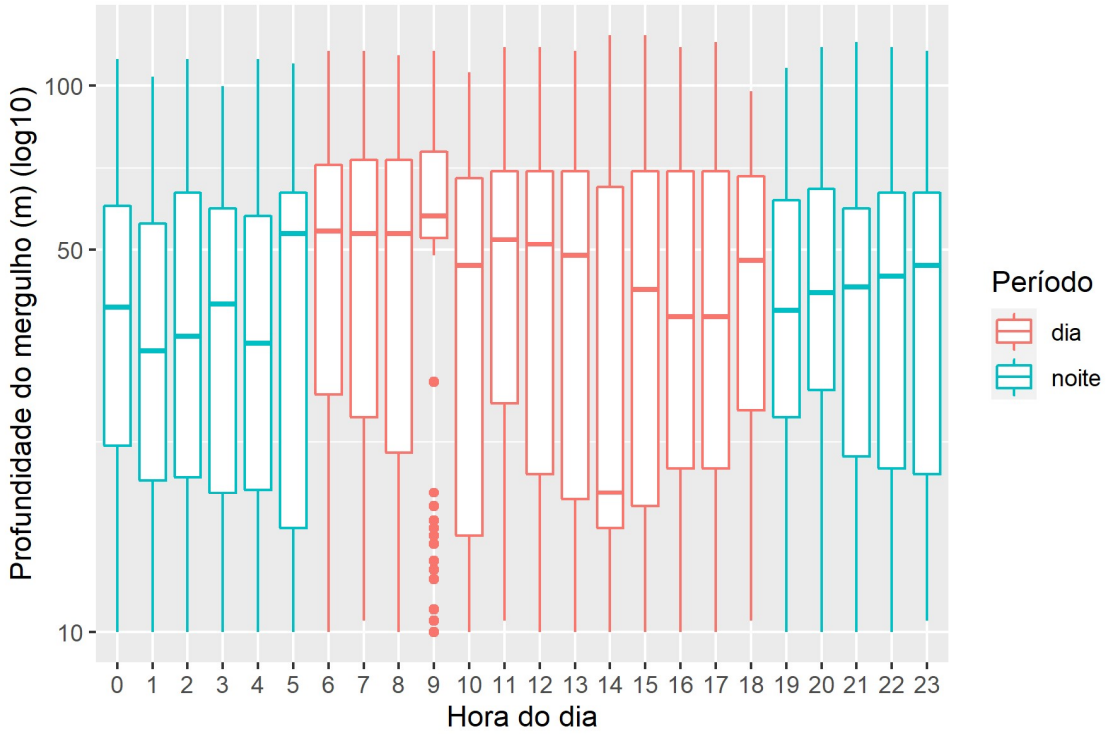


Figura V.4-2: *Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para dois indivíduos de* ***Eubalaena australis*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana.*

Os mergulhos com mais de 100 m de profundidade corresponderam a cerca de 4,1 % do total de mergulhos registrados, e se concentraram no período em que a fêmea estava em deslocamento, do Rio de Janeiro a Santa Catarina (**Figura V.4-2**). À medida que foi se aproximando de Santa Catarina, a profundidade de mergulho foi reduzindo, e no período em que permaneceu nessa região os mergulhos foram muito rasos, em sua grande maioria chegando a menos de 30 m de profundidade, o que sugere que ela estivesse acompanhada de um filhote neste período.

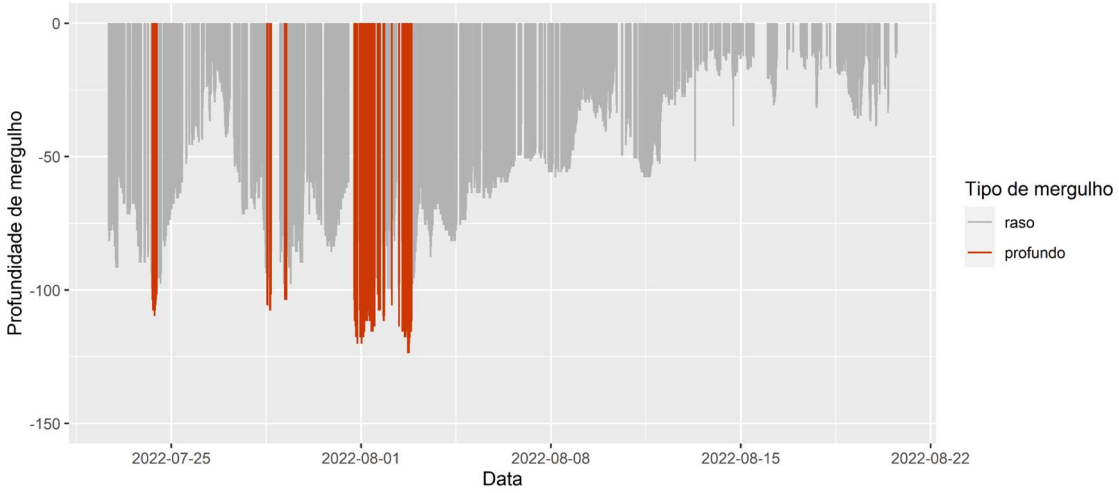


Figura V.4-3: *Perfil de mergulho de uma fêmea de* ***Eubalaena australis*** *marcada com transmissor satelital pelo PMC-BS. Tipo de mergulho: raso < 100 m; profundo ≥ 100 m.*

Em área reprodutiva no Atlântico Norte não houve diferença na profundidade de mergulho entre o período noturno e diurno (DOMBROSKI et al., 2021), diferente do observado na Bacia de Santos. Contudo, cabe salientar que nem todos os registros aqui analisados corresponderam ao comportamento da fêmea na área reprodutiva, o que pode ter influenciado o resultado.

O comportamento de mergulho da fêmea no litoral de Santa Catarina segue o esperado para a espécie em áreas reprodutivas, com a realização de mergulhos rasos. Considerando ainda seus movimentos restritos nesta região, é provável que esta fêmea estivesse com um filhote neste período (RENAULT-BRAGA et al., 2022; RENAULT-BRAGA et al., 2023). No Atlântico Norte, a baleia-franca permanece mais de 80% do tempo a menos de 3,5 m de profundidade durante o período de amamentação (DOMBROSKI et al., 2021). Por outro lado, durante sua permanência no litoral do Rio de Janeiro, e especialmente durante o movimento até Santa Catarina, a fêmea apresentou um comportamento de mergulho bem distinto, chegando muitas vezes a mais de 50 m de profundidade. É possível que estes mergulhos profundos realizados ao longo do deslocamento sejam mergulhos exploratórios, possivelmente relacionados à orientação, conforme já proposto para outros misticetos (GARRIGUE et al., 2015; OWEN et al., 2016). A profundidade máxima

registrada neste estudo, de 125,2 m, foi a maior já documentada para a espécie. Em áreas de alimentação a espécie é conhecida por permanecer muito próximo à superfície (mais de 80% do tempo a menos de 2,5 m de profundidade) devido a sua estratégia para a captura de presas, que ocorre na superfície, aumentando o risco de colisão (PARKS et al., 2012).

Baleia-fin, ***Balaenoptera physalus***

Foram obtidas informações para dois indivíduos da espécie, permitindo o registro de 307 mergulhos. A profundidade máxima chegou a 209,5 metros (mergulho em "U") e a duração foi de 27,4 minutos (mergulho em *Square*) (**Figura V.4-4**).

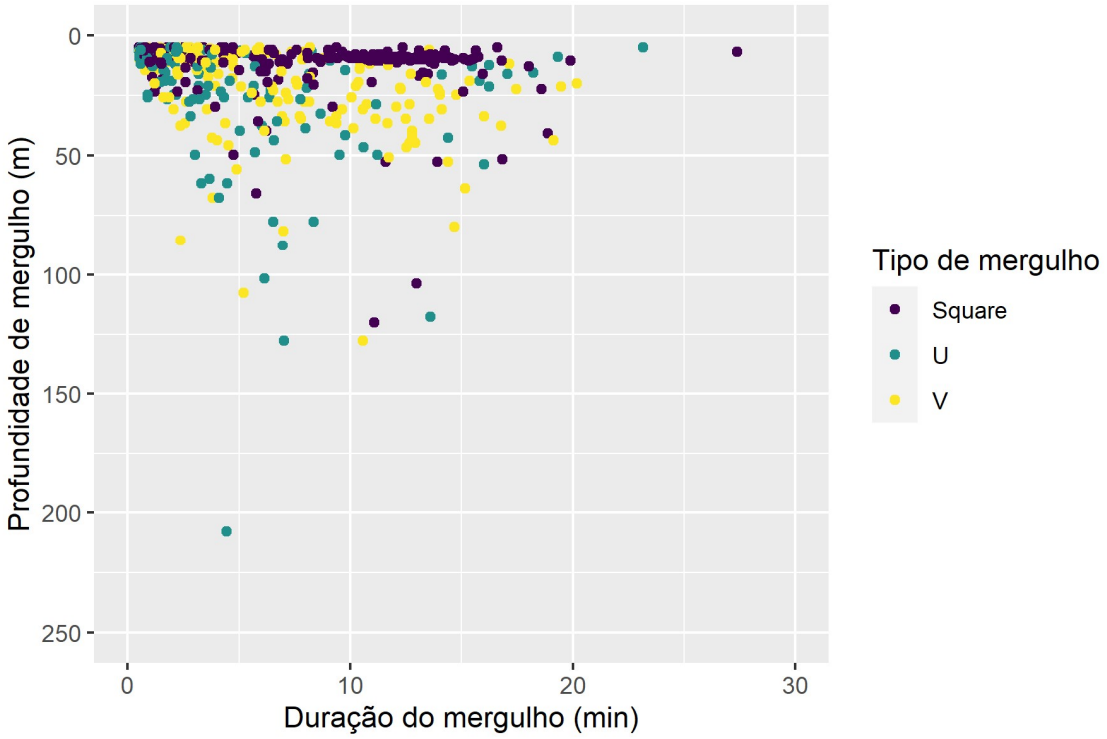


Figura V.4-4: *Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para dois indivíduos de* ***Balaenoptera physalus*** *marcados com transmissor satelital pelo PMC-BS.*

Considerando todos os tipos de mergulho, não houve diferença na profundidade entre mergulhos diurnos e noturnos (Kruskal-Wallis, W = 40034; p > 0,05).

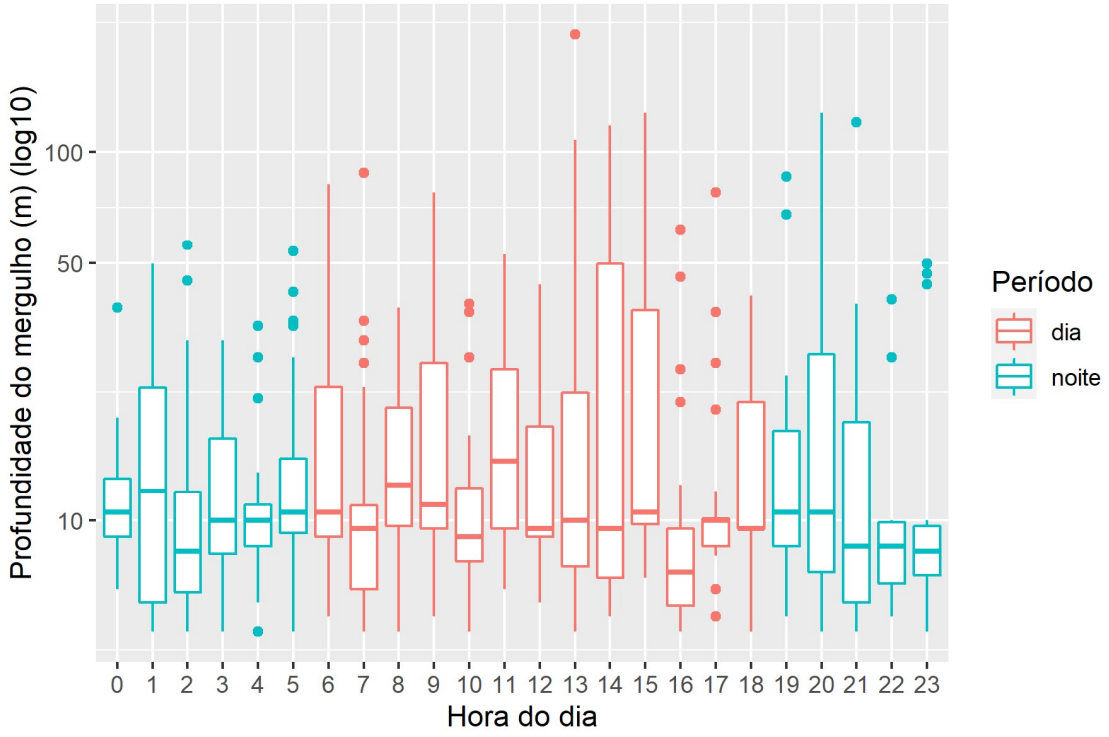


Figura V.4-5: *Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para dois indivíduos de* ***Balaenoptera physalus*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana.*

Na costa do México e Estados Unidos, os mergulhos de alimentação da baleia-fin atingiram em média 97,9 (± 32,59) m e 6,3 (± 1,53) min, e sem alimentação chegaram em média a 59,3 (± 29,67) m de profundidade e 4,2 (± 1,67) min de duração (CROLL et al., 2001). Não foi possível fazer inferências sobre o comportamento da espécie com base em dados de telemetria satelital, mas a profundidade média registrada pelo PMC-BS foi de 25,9 m com duração média de 7,9 min. Dentre os mergulhos com mais de 10 m, apenas 2,6% atingiram mais de 100 m de profundidade. A profundidade máxima de 209,5 m é a maior já documentada para a espécie.

Baleia-sei, ***Balaenoptera borealis***

Vinte e dois indivíduos de *B. borealis* forneceram dados de mergulho, totalizando 5.045 registros. A profundidade máxima de mergulho foi de 193,5 metros (mergulho em "U") e a duração máxima de 20,9 minutos (mergulho em "U"), considerando como critério as imersões com mais de 10 metros de profundidade (**Figura V.4-6**). A grande maioria dos mergulhos (99,7%) não passou de 100 metros de profundidade. Os mergulhos do tipo *Square* foram geralmente mais rasos, embora mais longos, enquanto os mergulhos em "U" foram os mais profundos.

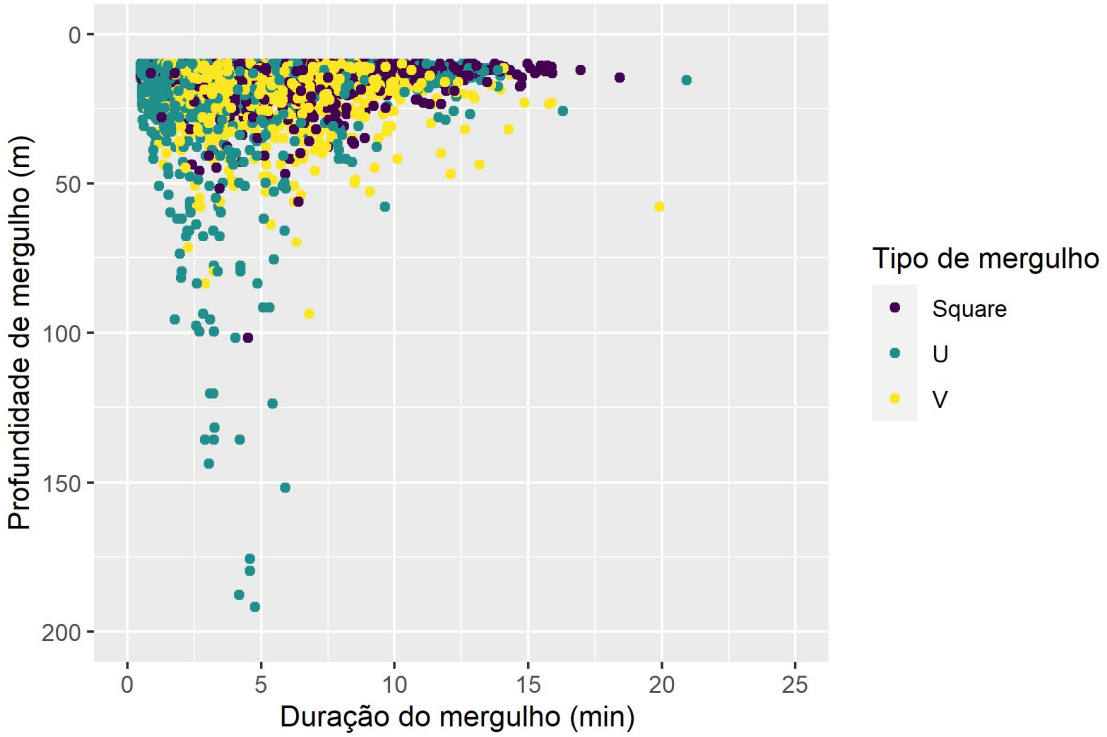


Figura V.4-6: *Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para vinte e dois indivíduos de* ***Balaenoptera borealis*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS.*

Os mergulhos registrados para as baleias-sei ocorreram entre a região oceânica e a plataforma continental, com maior permanência dos indivíduos na região do talude continental. Considerando todos os tipos de mergulho, os

diurnos foram mais profundos do que os noturnos (Kruskal-Wallis, W = 2061958; p < 0,05) (**Figura V.4-7**). Contudo, cabe considerar que, em função do grande número de registros, esta diferença está associada a uma pequena variação de profundidade, que possivelmente seja pouco representativa para uma baleia.

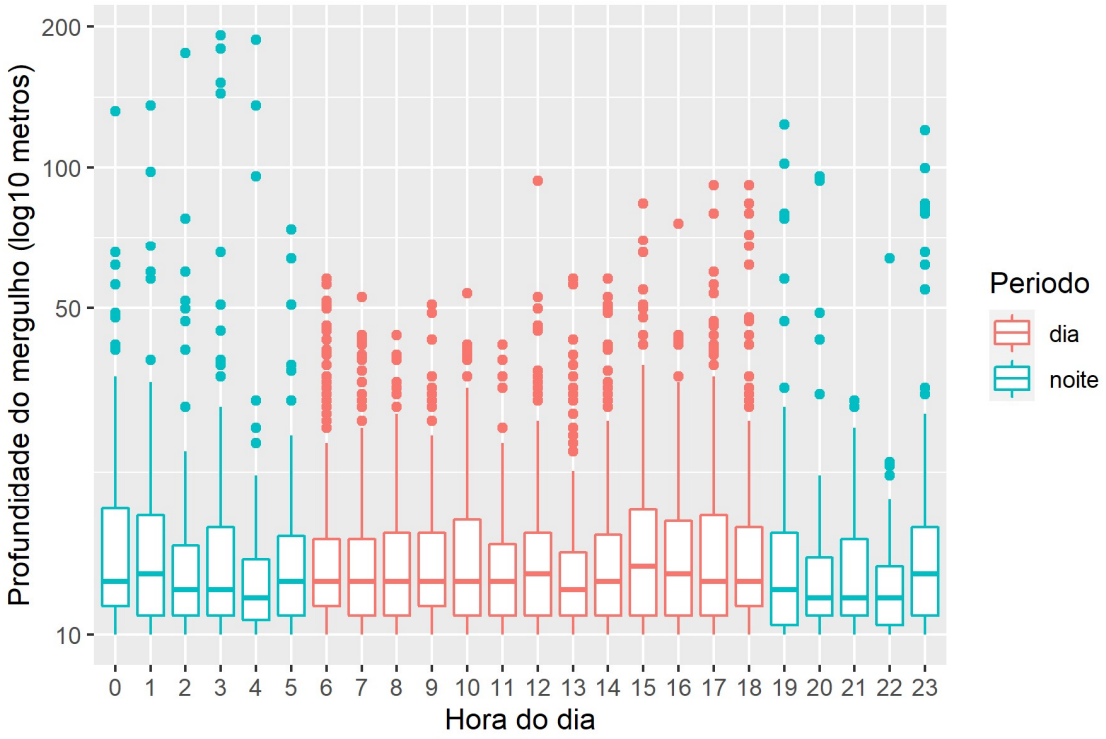


Figura V.4-7: *Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para vinte e dois indivíduos de* ***Balaenoptera borealis*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana.*

Os indivíduos permaneceram longos períodos realizando mergulhos considerados rasos. É o caso do PTT 58005, um macho, monitorado durante 59 dias, período no qual a maior parte dos mergulhos ocorreu a menos de 20 metros de profundidade; e do PTT 192630, monitorado durante 38 dias, período no qual permaneceu a maior parte do tempo realizando mergulhos a menos de 20 metros. Por outro lado, o PTT 179339, monitorado durante 42 dias, realizou alguns mergulhos profundos durante sua permanência na Bacia de Santos (**Figura V.4-8**).

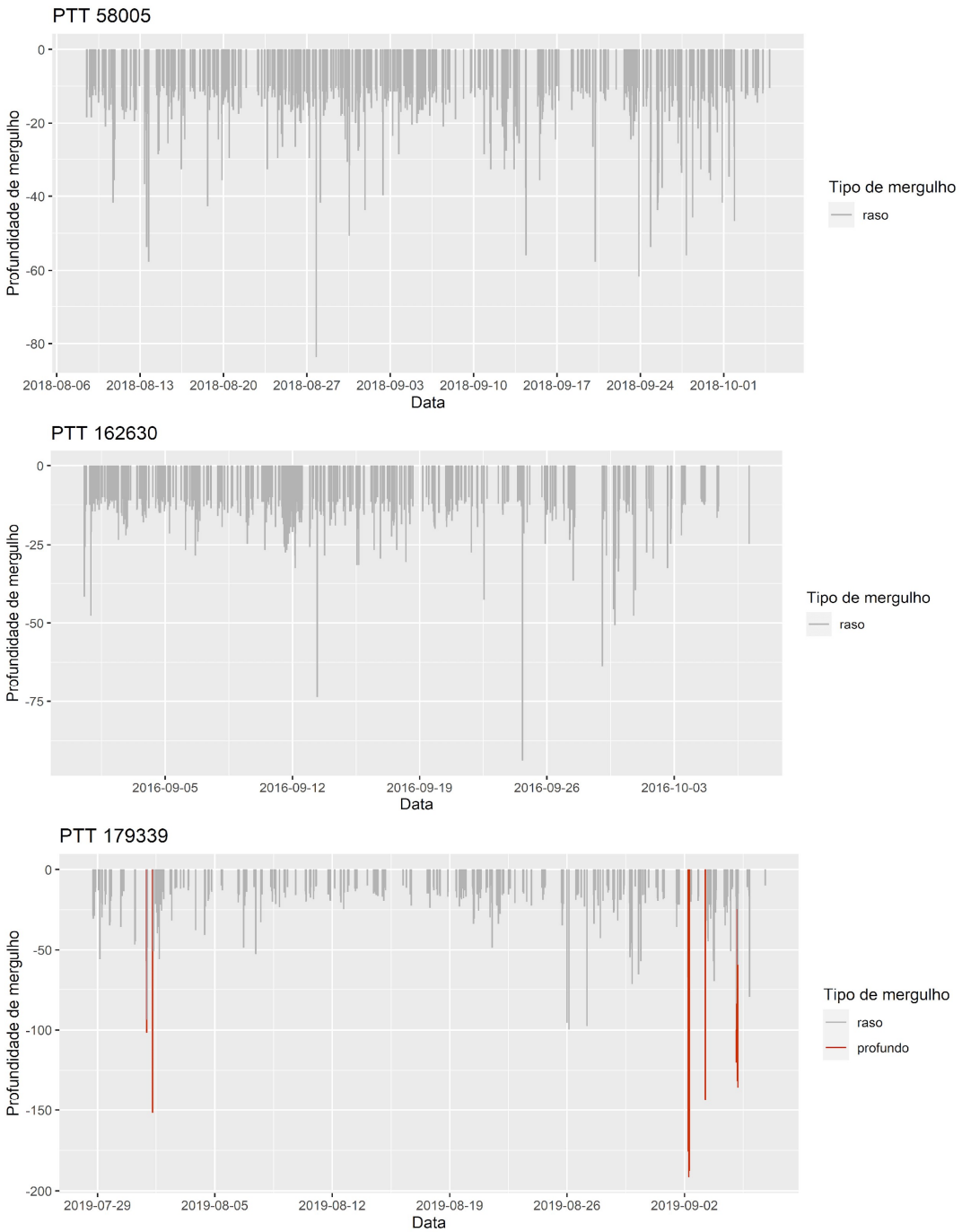


Figura V.4-8: *Perfil de mergulho de três indivíduos de* ***Balaenoptera borealis****, marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. Tipo de mergulho: raso < 100 m; profundo ≥ 100 m.*

Não há registros na literatura sobre o comportamento de mergulho da baleia-sei, o que não permite fazer comparações. A espécie se alimenta de uma grande

variedade de presas (KAWAMURA, 1980), embora seja mais conhecida por se alimentar de copépodes, em regiões de grande produtividade em altas latitudes (OLSEN et al., 2009). Contudo, é possível que essa espécie inclusive se alimente nas águas oceânicas do Sudeste/Sul do Brasil durante o inverno, mais produtivas nesta estação do ano (CAMPOS et al., 1995; ODEBRECHT; CASTELLO, 2001). Embora a grande maioria dos mergulhos da espécie tenham sido rasos, e provavelmente relacionados à permanência ou ao deslocamento próximo da superfície (JEFFERSON et al., 2015), mergulhos mais profundos, observados na região do talude da Bacia de Santos, sugerem que a espécie também possa se alimentar ocasionalmente na Bacia de Santos. Este padrão é corroborado por dados cinemáticos e de comportamento de mergulho dos DTAGs. Assim, a espécie estaria se aproveitando oportunisticamente de recursos mesopelágicos da região produtiva do talude, mas há necessidade de uma investigação mais aprofundada na medida em que as coletas de novos dados ocorram com o auxílio de *tags* satelitais e digitais (DTAGs e Cats). Por outro lado, cabe considerar que a espécie ocupe a região durante o período reprodutivo e a permanência mais próximo à superfície esteja relacionada ao cuidado parental, como já descrito para outras espécies (DOMBROSKI et al., 2021).

Orca, ***Orcinus orca***

Foram registrados 8.131 mergulhos para dez indivíduos de *O. orca.* Não foram obtidos dados de mergulho para o indivíduo marcado em 2020. O mergulho mais profundo chegou a 399,7 metros (tipo “V”) e o mais longo durou 17,5 minutos (tipo *Square*). De maneira geral, os mergulhos *Square* foram os mais frequentes, principalmente no agrupamento de mergulhos observado até o máximo de 100 metros de profundidade e 10 minutos de duração (**Figura V.4-9**). Apenas 4,1% dos mergulhos ultrapassaram o limite de 100 metros de profundidade.

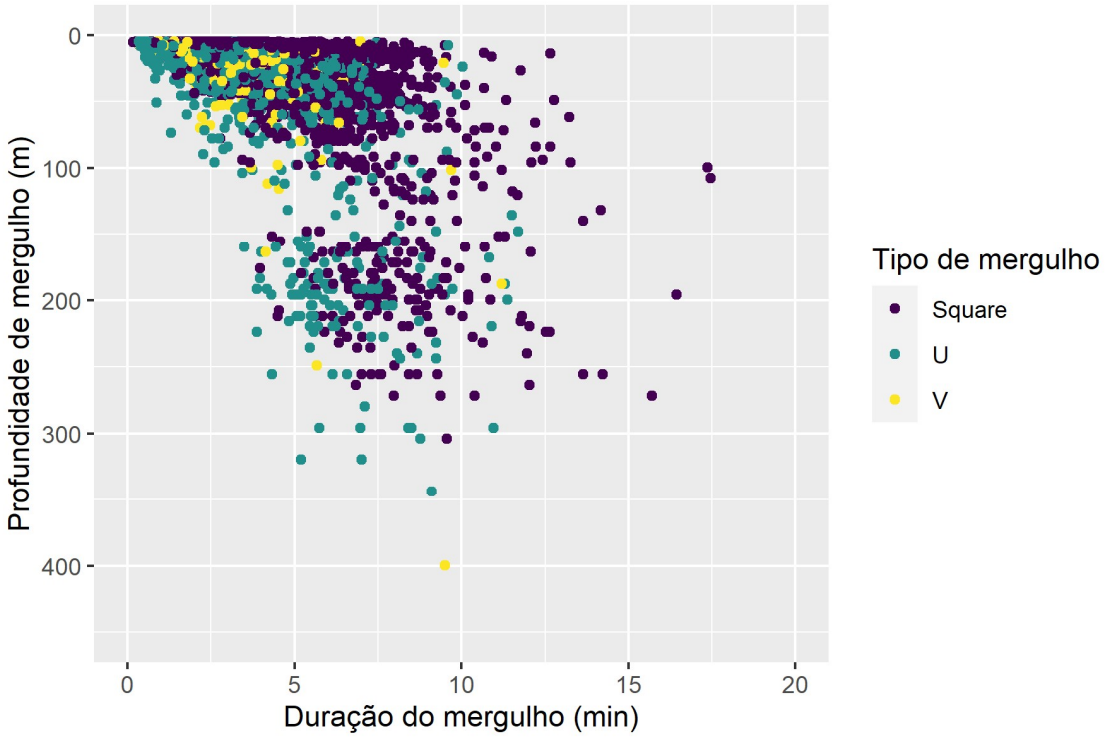


Figura V.4-9: *Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para dez indivíduos de* ***Orcinus orca*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS.*

Dentre os indivíduos marcados, seis permaneceram na região do talude, dois realizaram um movimento em direção ao sul e dois permaneceram no litoral do Rio de Janeiro. Podem-se observar diferenças marcantes na profundidade de mergulho entre indivíduos em função do habitat, sugerindo um comportamento muito variável, adaptado às características do habitat, utilizando a coluna d'água quando próximo da costa, diferente da região do talude.

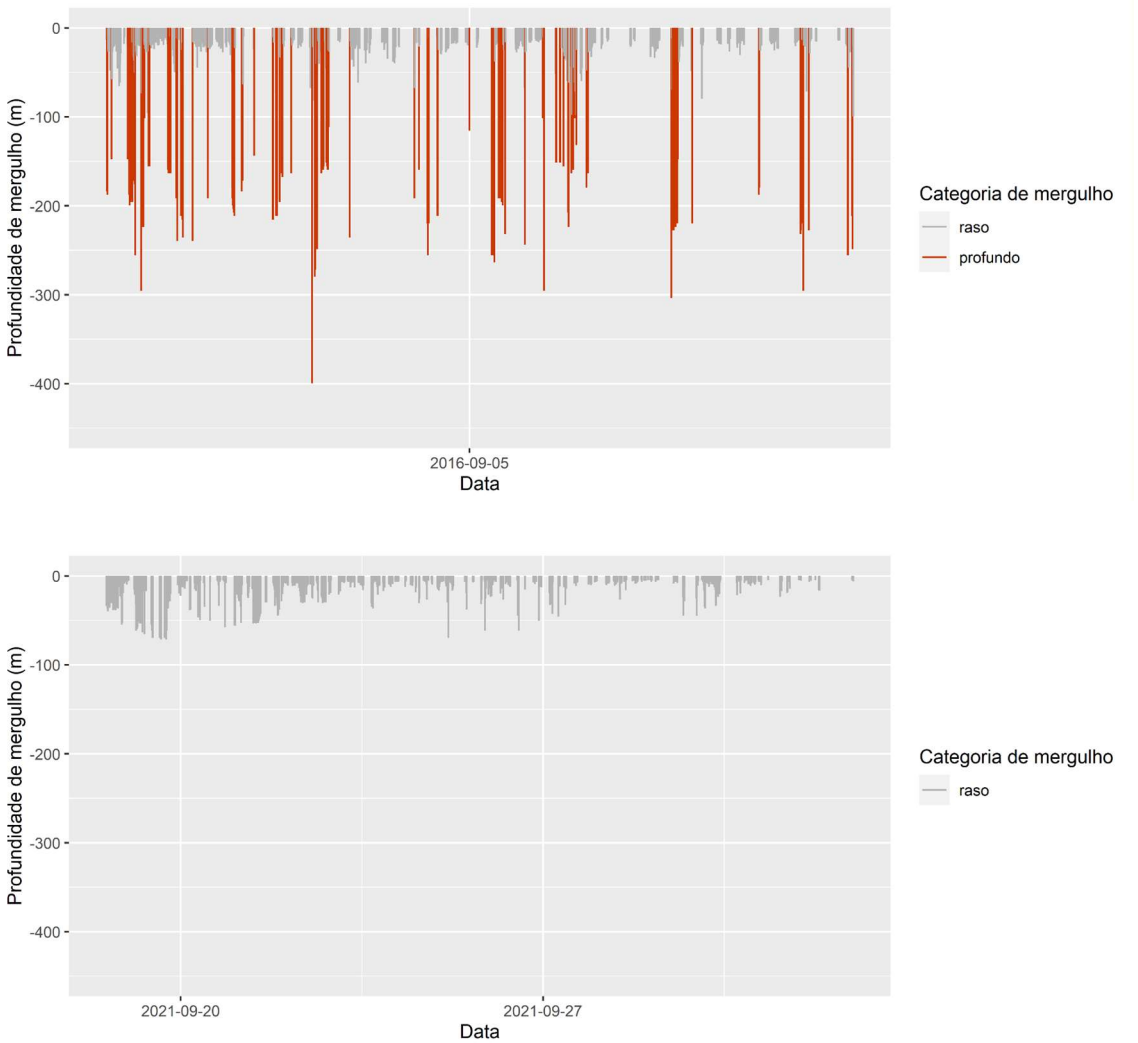


Figura V.4-10: *Perfil de mergulho de dois indivíduos de* ***Orcinus orca*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. Tipo de mergulho: raso < 100 m; profundo ≥ 100 m. A esquerda o PTT 162628, que permaneceu na região do talude; a direita o PTT 224115, que permaneceu no litoral sul do Rio de Janeiro.*

Não houve diferença na profundidade dos mergulhos entre o período noturno e diurno, considerando todos os tipos de mergulho em conjunto (Kruskal-Wallis, W = 7038125; p > 0,05) (**Figura V.4-11**).

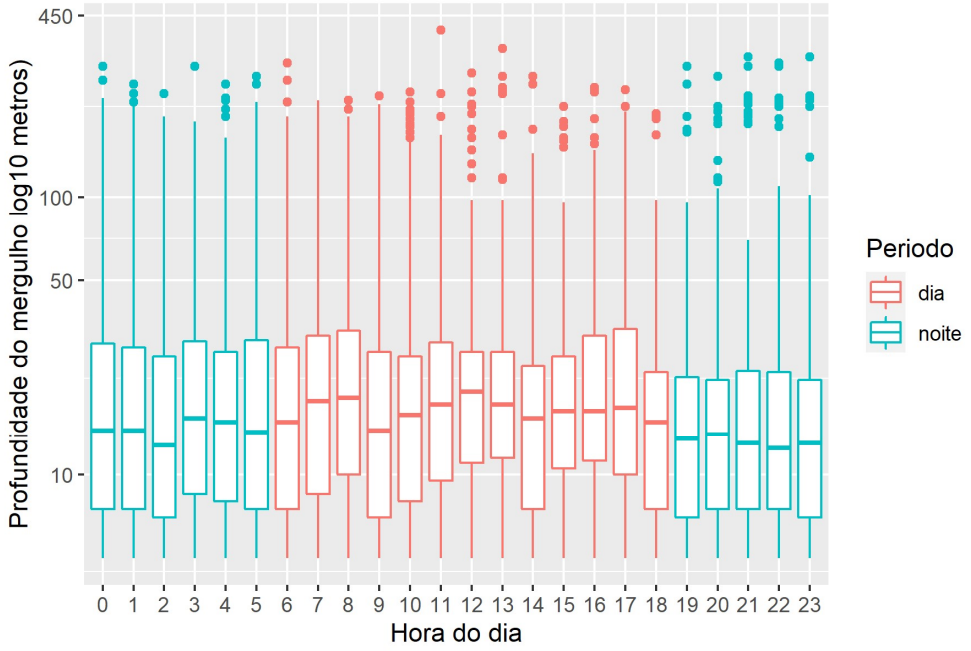


Figura V.4-11: *Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para dez indivíduos de* ***Orcinus orca*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana.*

Não há registros do comportamento de mergulho de *O. orca* no Atlântico Sul, com a maior parte das informações restritas ao Hemisfério Norte. A variação nictemeral no comportamento de mergulho de orcas já foi registrada para outras regiões. Na Colúmbia Britânica, machos e fêmeas de orcas predadoras de peixes têm uma atividade de mergulho mais intensa de dia, quando realizam os mergulhos mais profundos (BAIRD et al., 2005), da mesma forma que orcas transientes no Pacífico Norte (MILLER et al., 2010). Na Bacia de Santos, foi observado um padrão contrário, com os mergulhos mais profundos sendo realizados à noite. Contudo, considerando a grande diversidade de habitats registrados na região, cabe uma análise mais detalhada do comportamento da espécie em diferentes ambientes.

Wright et al. (2017), também no Atlântico Norte, utilizaram DTAGs e concluíram que os mergulhos de caça ocorreram a mais de 100 metros de profundidade. Esses mergulhos foram classificados, em sua maioria, como mergulhos em formato “V”. O presente trabalho registrou que apenas 4,1% dos

mergulhos ultrapassaram os 100 metros de profundidade e, portanto, podem estar associados à alimentação, embora caiba considerar que uma grande parte dos mergulhos analisados foi de um indivíduo que se movimentou ao longo da costa no sentido sul; neste caso, os mergulhos *Square* foram os mais rasos e mais longos. Para o indivíduo que permaneceu na região costeira, os mergulhos *Square* foram os mais profundos e mais longos.

Em geral, a espécie realiza mergulhos a menos de 300 metros de profundidade, com duração de até 4 minutos (WRIGHT et al., 2017), mas tem capacidade de permanecer até 16 minutos e atingir profundidade de 767 metros (REISINGER et al., 2015). A identificação de profundidade máxima durante o esforço amostral deste estudo registrou mergulhos de 403,5 metros. Apenas quatro mergulhos ultrapassaram a profundidade de 300 metros. Na região das ilhas Geórgia do Sul, 76% dos mergulhos de forrageamento foram a menos de 100 metros de profundidade e 17% a mais de 200 metros (TOWERS et al., 2018).

Baleia-piloto-de-peitorais-curtas, ***Globicephala macrorhynchus***

Foram obtidos dados de mergulho para sete indivíduos de *G. macrorhynchus*, totalizando 3.759 mergulhos. O mergulho mais profundo chegou a 959,5 metros (tipo “U”) e o mais longo durou 24,6 minutos (tipo *Square*) (**Figura V.4-12**). Cerca de 10% dos mergulhos foram considerados profundos, com mais de 200 metros.

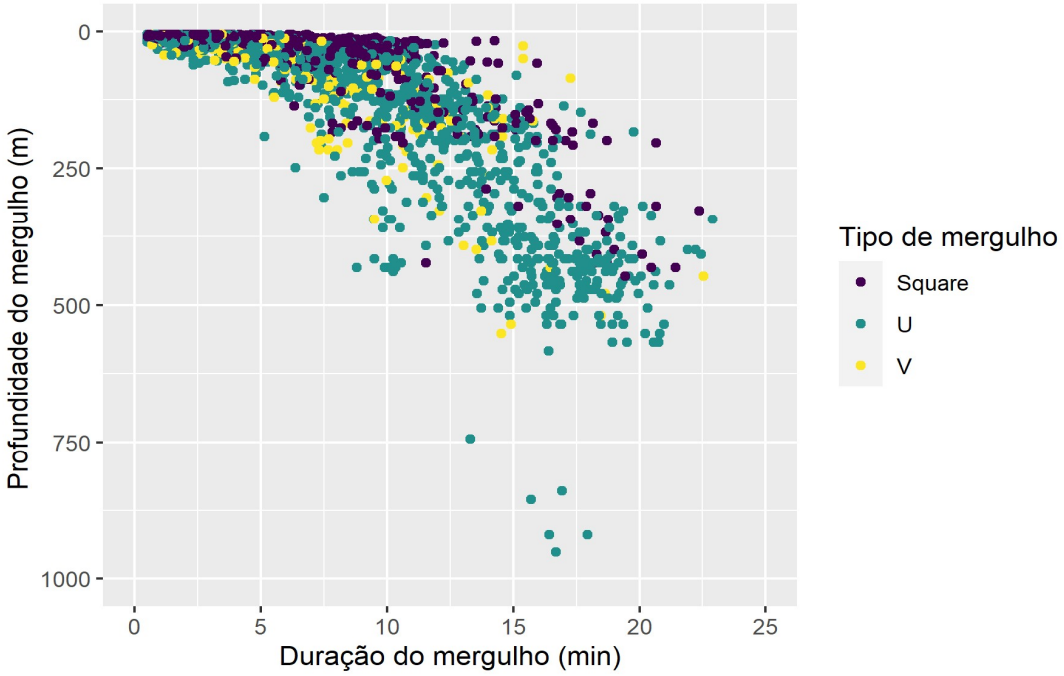


Figura V.4-12: *Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para sete indivíduos de* ***Globicephala macrorhynchus*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS.*

Os mergulhos noturnos foram mais profundos em comparação aos diurnos, considerando todos os tipos de submersão em conjunto (Kruskal-Wallis, W = 2274613; $p < 0,05$) (**Figura V.4-13**). Analisando os diferentes tipos de mergulho separadamente, é possível observar que tal padrão é marcante para os mergulhos tipo *Square* e "U", enquanto os mergulhos tipo "V" apresentaram grande variabilidade na profundidade.

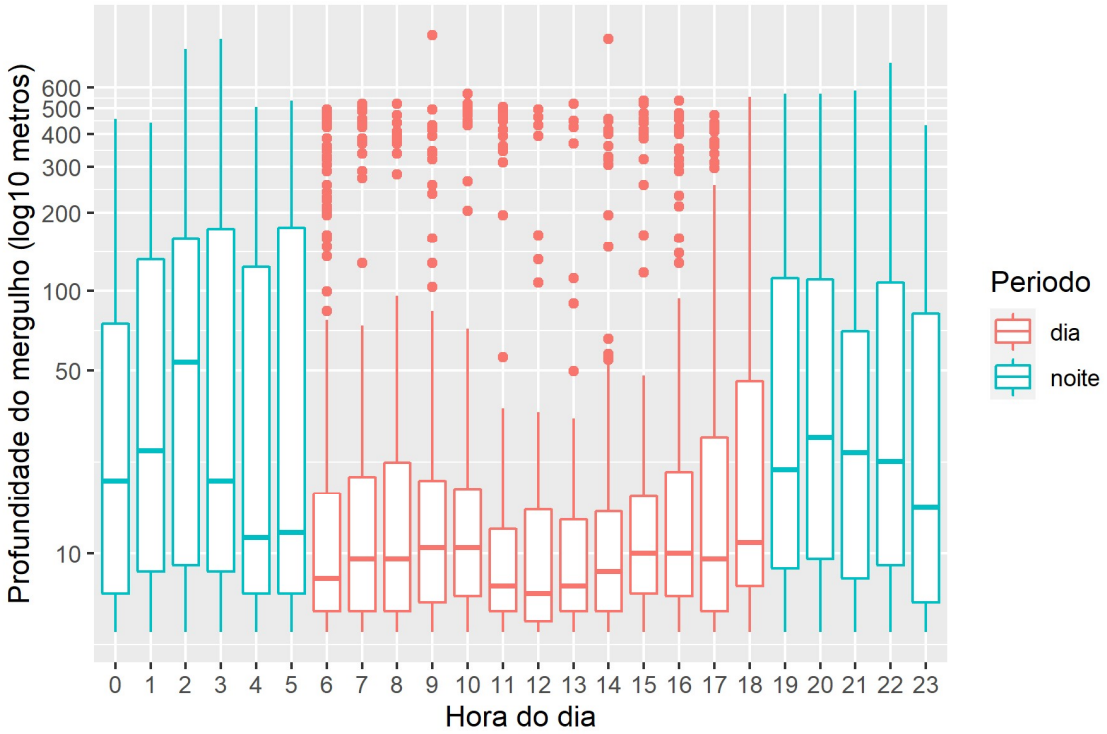


Figura V.4-13: *Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para sete indivíduos de* ***Globicephala macrorhynchus*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana.*

Baleias-piloto-de-peitorais-curtas são conhecidas por sua aptidão para mergulhos de grande profundidade, embora existam poucos estudos que abordem dados específicos sobre o tema, e costumam forragear a mais de 800 metros de profundidade (BAIRD et al., 2002; QUICK et al., 2017). Dois indivíduos juvenis de *Globicephala melas*, marcados e soltos após um período de reabilitação no nordeste do Atlântico, realizaram a maior parte dos mergulhos a uma profundidade menor que 15 metros, com duração de 2 minutos, embora tenham registrado uma profundidade máxima de até 500 metros e 14 minutos de duração (NAWOJCHIK et al., 2003).

No Mar da Ligúria, indivíduos de *G. melas,* marcados com transmissores arquivais, exibiram comportamento de mergulho distinto durante o dia, com os mergulhos mais profundos e longos realizados no entardecer (máximo de 648

metros e 12,7 minutos) (BAIRD et al., 2002). Utilizando o mesmo tipo de equipamento, Alves et al. (2013) constataram que *G. macrorhynchus* permanece 94,1% do tempo a menos de 100 metros de profundidade, em mergulhos com duração inferior a 5 minutos nas imediações da Ilha Madeira, no Atlântico Norte. A profundidade máxima registrada foi de 988 metros e 16,08 minutos de duração (ALVES et al., 2013). Quick et al. (2017) concluíram que o comportamento de subsuperfície de *G. macrorhynchus* é bastante complexo e identificaram quatro tipos de mergulho, ou estados de mergulho, sendo que os indivíduos tendem a mergulhar em *clusters* de mergulhos de padrão semelhante.

Golfinho-nariz-de-garrafa, ***Tursiops truncatus***

Foram obtidos dados de mergulho para 11 indivíduos de *T. truncatus*, totalizando 4.345 mergulhos do ecótipo ou subespécie oceânica (*T. t. truncatus*), considerando como parâmetro uma imersão de no mínimo 1,5 metros para a definição de mergulho. A profundidade máxima foi de 113,7 metros (tipo *U*) e o mergulho mais longo chegou a 8,1 minutos (tipo *Square*). A grande maioria dos mergulhos (86,5%) não passou de 20 metros de profundidade (**Figura V.4-14)**.

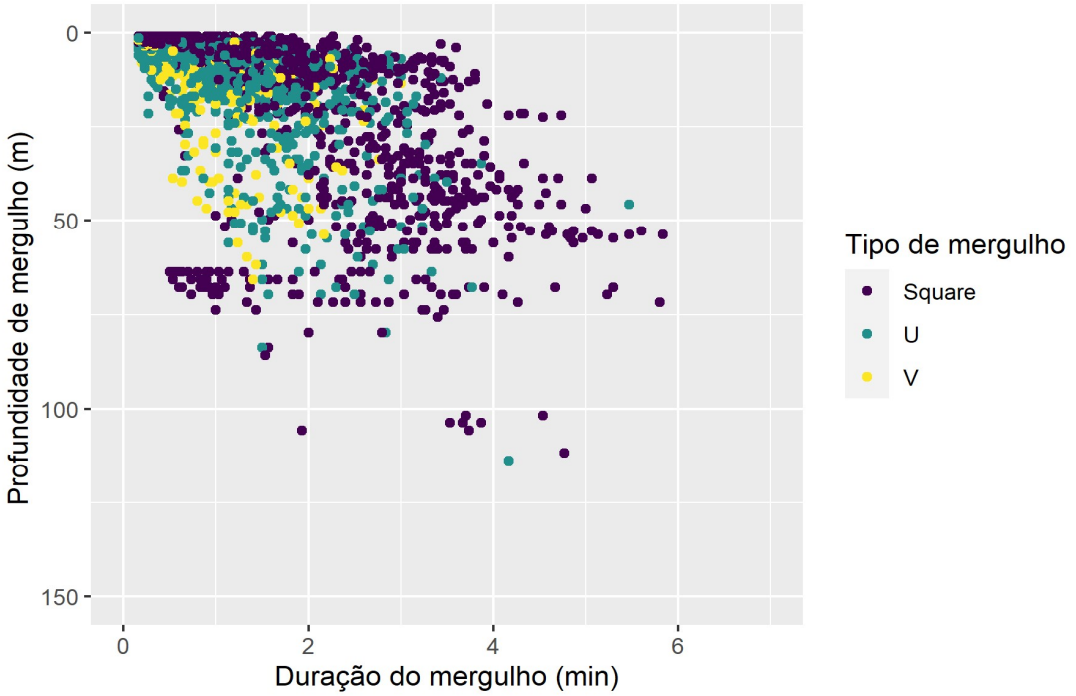


Figura V.4-14: *Profundidade e duração dos diferentes tipos de mergulho registrados para onze indivíduos de* ***Tursiops truncatus*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS.*

Os mergulhos noturnos foram mais profundos que os diurnos, considerando todos os tipos de mergulho em conjunto (Kruskal-Wallis, W = 339725; $p < 0,05$) (**Figura V.4-15**).

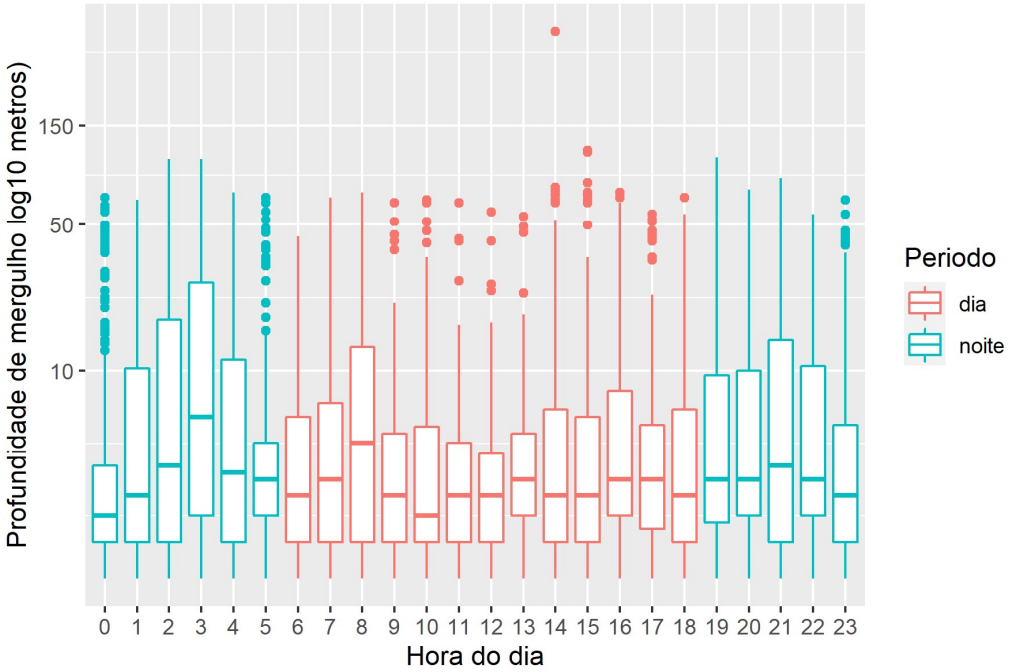


Figura V.4-15: *Profundidade de mergulho (log_{10} metros) registrada ao longo do dia para onze indivíduos de* ***Tursiops truncatus*** *marcados com transmissores satelitais pelo PMC-BS. A caixa representa o primeiro e o terceiro quartis, e a linha mais escura horizontal indica a mediana.*

Os dois ecótipos descritos para *T. truncatus* no litoral brasileiro ocorrem na Bacia de Santos (COSTA et al., 2016). Os dados de genética e de padrão de coloração indicam que todos os animais marcados durante o PMC-BS pertencem ao chamado ecótipo oceânico. Nas Bermudas, Klatsky et al. (2007) registraram a maior parte dos mergulhos mais profundos chegando a 250 m, com o limite máximo excedendo 500 m de profundidade. Contudo, dados recentes para esta mesma região registraram uma profundidade máxima de 1.000 m, com a maior parte dos mergulhos sendo realizada até 200 m de profundidade (FAHLMAN et al., 2023). Esta profundidade é muito superior à registrada no presente trabalho, de 113,7 metros, embora caiba considerar que os indivíduos analisados na Bacia de Santos permaneceram todo o período de monitoramento muito próximo da costa, o que explica o grande percentual de mergulhos rasos e de curta duração. Os dois indivíduos marcados na região oceânica não transmitiram dados de comportamento de mergulho. Hastie et al.

(2006), utilizando transmissores arquivais, registraram mergulhos de até 58,5 m de profundidade, o que coincidiu com o fundo marinho numa região costeira do Atlântico Norte, na Escócia. Analisando a atividade acústica dos animais, conclui-se que a maior parte do comportamento de pesca ocorreu até uma profundidade de 10 m.

A profundidade dos mergulhos foi maior à noite, em comparação ao período diurno, da mesma forma que registrado por Fahlman et al. (2023) na região das Bermudas, e também já observado por Klatsky et al. (2007). Este padrão já foi descrito para várias outras espécies de delfinídeos, e provavelmente esteja relacionado a uma estratégia de otimizar o forrageamento, aproveitando o comportamento de presas mesopelágicas que se tornam mais acessíveis à noite.

V.4.2 Repertório acústico

Os cetáceos produzem uma grande variedade de sinais acústicos e dependem do som para se comunicar, navegar e localizar presas, de modo que variações nos padrões de emissão acústica podem fornecer pistas do comportamento e da ecologia das espécies, bem como auxiliar na identificação de impactos (TYACK; CLARK, 2000). A análise dos sinais acústicos a partir do monitoramento acústico passivo também funciona como uma ferramenta complementar na detecção e identificação dos cetáceos, especialmente aquelas de comportamento críptico que dificilmente são avistadas (HODGE *et al*., 2018; DALPAZ et al., 2021). Os esforços do PMC-BS até o presente foram direcionados para a criação de um banco de dados robusto das vocalizações a partir de dados de acústica coletados juntamente com a observação visual, que confirmam a identificação das vocalizações das diferentes espécies. A partir deste banco de dados é possível descrever o repertório acústico das espécies e desenvolver classificadores que futuramente permitirão um melhor aproveitamento dos dados de MAP, sem que os dados de acústica sejam necessariamente acompanhados de observações visuais. A identificação

acústica das espécies e o conhecimento do seu repertório e comportamento acústico podem então se tornar importantes ferramentas auxiliares na avaliação de impactos antropogênicos.

Embora alguns táxons possam ser reconhecidos facilmente com base em padrões do seu repertório acústico, para a maioria dos táxons essa classificação não é tão evidente e, nesses casos, a distinção taxonômica pode ser feita a partir de classificadores automatizados (OSWALD *et al.*, 2007). Algumas destas espécies, no entanto, possuem um alto nível de sobreposição dos parâmetros acústicos do repertório, como os delfinídeos, o que demanda um amplo esforço prévio de análise descritiva de repertório para o desenvolvimento de classificadores automatizados competentes (OSWALD et al., 2003; USMAN et al., 2020).

Nesse sentido, os principais focos das análises bioacústicas do PMC-BS têm sido: (1) a caracterização do repertório acústico das espécies e a formação de um banco de dados acústicos (uma sonoteca) das espécies registradas pelo PMC-BS; (2) o desenvolvimento de classificadores automatizados das espécies, com ênfase nos delfinídeos, que são as espécies mais numerosas e, algumas destas, com as mais elevadas abundâncias registradas pelo PMC-BS, apresentando, em função disso, um potencial importante para a análise de impactos; e (3) neste período também foi realizada uma análise preliminar da ecologia acústica das espécies, com ênfase nos delfinídeos, em uma perspectiva de contribuir para o desenvolvimento de análises de impacto.

V.4.2.1 Banco de Dados Acústicos do PMC-BS – Sonoteca

Após o término de cada campanha, os dados de MAP são triados e validados para confirmar a presença de vocalizações de cetáceos e a identificação até o nível taxonômico mais preciso possível, conforme descrito no Procedimento Operacional 06 (**Volume II: Anexo III-2**). Os arquivos com os registros sonoros das espécies seguem para processamento e análise dos parâmetros acústicos das vocalizações.

O banco de dados acústicos do PMC-BS é composto por amostras de vocalizações de cetáceos registrados ao longo das Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP. Os dados coletados foram na sua grande maioria de espécies de odontocetos, devido ao ruído da embarcação de pesquisa, que impossibilita o registro de sons de baixa frequência (<1 kHz), onde se concentram as vocalizações da maioria dos misticetos. A única espécie de misticeto que foi possível detectar nessas campanhas foi a baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*). A baleia-jubarte é uma exceção entre os misticetos presentes na bacia de Santos, pois ainda que a maior parte das suas vocalizações também esteja em frequências baixas, o rico e variado repertório da espécie inclui sons que frequente atingem frequências acima de 1 kHz, principalmente os sons que incluem harmônicos. Para complementar a amostragem de sons de outras baleias o PMC-BS tem direcionado esforços para o processamento de dados disponibilizados pelo Projeto de Monitoramento da Paisagem Acústica Submarina na Baia de Santos – PMPAS-BS (ver detalhamento no item **V.4.3 Processamento dos dados do PMPAS-BS**).

V.4.2.1.1 Tipos de vocalizações

Os cetáceos formam o grupo de animais que produzem vocalizações que abrange o maior espectro de frequências. As vocalizações vão desde as frequências baixas (< 1 kHz) ou mesmo infrassônicas < 20 Hz), como no caso dos cetáceos do grupo dos misticetos (baleias com barbatanas bucais) até as frequências médias, altas e ultrassônicas (de 5 kHz a mais de 150 kHz), como os sons dos cetáceos do grupo dos odontocetos (golfinhos e baleia com dentes) (TYACK, 1986). Entre os misticetos, o repertório de vocalizações inclui sons tonais e pulsados utilizados na comunicação entre indivíduos, denominados de sons sociais (CLARK et al., 1982; DUNLOP et al., 2008). Os sons estereotipados que certas espécies de baleia produzem é denominado de canto (PAYNE; MCVAY, 1971; CROLL et al., 2002). O canto é produzido pelos machos e está associado ao comportamento reprodutivo, conforme observado para a baleia-

jubarte (*Megaptera novaeangliae*) durante o período reprodutivo (DARLING et al., 2006).

Entre os odontocetos, os cliques de ecolocalização são produzidos por todas as espécies que se tem conhecimento. Os cliques são o produto do biosonar desenvolvido ao longo da evolução desse grupo, utilizado primariamente na orientação e forrageio. São sons de banda larga (5 - 150 kHz), produzidos em sequências ou cadeias de pulsos, variando em relação à amplitude e ao intervalo entre os pulsos, conforme o animal investiga o ambiente ao redor (AU, 1993) (**Figura V.4-16**). Algumas espécies, gêneros e famílias de odontocetos possuem características distintas entre seus cliques que permitem a classificação taxonômica, como os cachalotes (*Physeter macrocephalus* e *Kogia* sp.), a toninha (*Pontoporia blainvillei*) e as baleias-bicudas (Família Ziphiiddae).

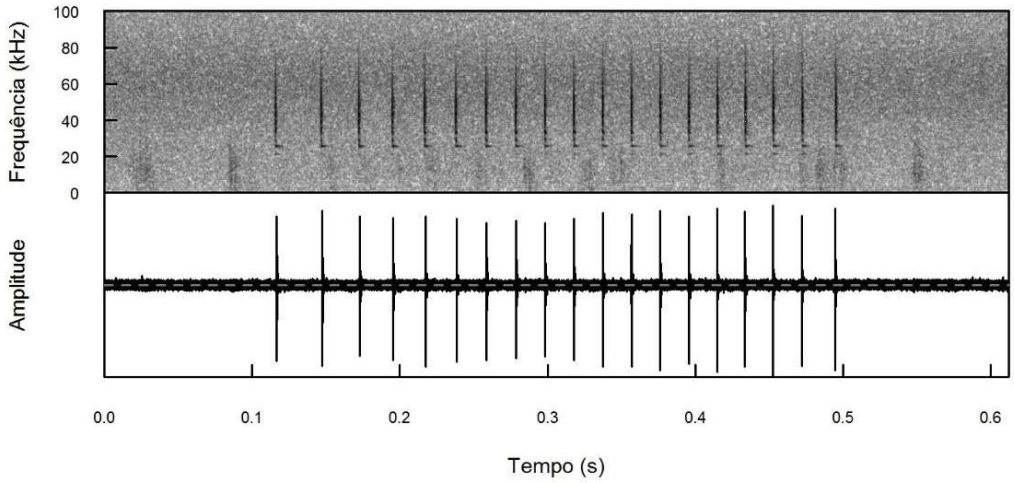


Figura V.4-16: *Exemplo de cliques de ecolocalização de* ***Grampus griseus*** *registrado pelo PMC-BS. Acima o espectrograma e abaixo o oscilograma.*

Outro tipo de sinal acústico são os assovios (**Figura V.4-17**), produzidos principalmente pelos membros da família Delphinidae (MAY-COLLADO et al., 2007). Esses sons estão associados à comunicação, desempenhando funções importantes para manutenção das relações sociais (TYACK; CLARK, 2000; THOMSEN et al., 2002; KING et al., 2013). A família Delphinidae é a mais diversa

entre os cetáceos e as características dos assovios de suas espécies podem ser úteis para auxiliar na classificação taxonômica.

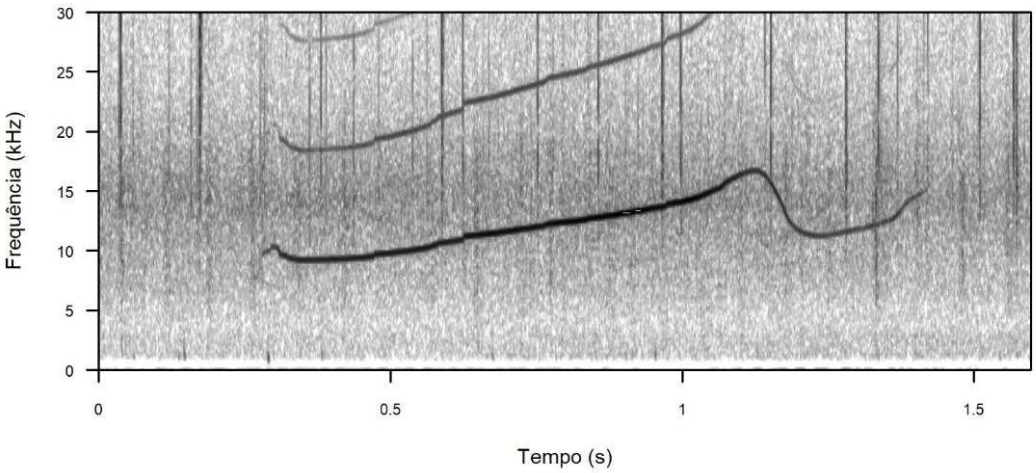


Figura V.4-17: *Exemplo de um assovio de* ***Stenella longirostris*** *registrado pelo PMC-BS.*

Por isso os assovios têm sido o principal foco das análises realizadas pelo PMC-BS, buscando subsidiar o desenvolvimento de classificadores que auxiliem na distinção taxonômica das detecções de delfinídeos, entre outras análises exploratórias que vem sendo desenvolvidas.

V.4.2.1.2 Processamento e análise de assovios

A sonoteca (o banco de dados acústicos) do PMC-BS acumula vocalizações de todas as espécies de cetáceos registradas pelo Projeto até o presente. Os dados referentes aos assovios dos delfinídeos vem sendo utilizados para análise do repertório acústico e desenvolvimento de classificadores para as espécies dessa família. Do total de 15 espécies de delfinídeos atualmente registradas até o oitavo ano de execução do PMC-BS, sete delas apresentam um número amostral de assovios suficiente para aplicação no treinamento e teste de classificadores: golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*), golfinho-rotador (*S. longirostris*), golfinho-de-clymene (*S. clymene*), golfinho-pintado-pantropical (*S. attenuata*), golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*),

golfinho-comum-de-bico-curto (*Delphinus delphis*) e golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*). Para as espécies que não foram incluídas (n = 8), não foi possível obter dados de assovios suficientes para alimentar um classificador. Os motivos variaram, desde espécies com distribuição muito costeira onde a baixa profundidade (< 20 m) impediu o reboque do arranjo de hidrofones de forma segura, como o boto-cinza (*Sotalia guianensis*), espécies que foram raras ou pouco frequentes (*Peponocephala electra*, *Feresa attenuata, Lagenodelphiss hosei e Pseudorca crassidens*), ou espécies que foram mais frequentes, mas não produziram muitos assovios durante as deteções registradas (*Orcinus orca*, *Grampus griseus* e *Globicephala* sp.).

Neste ano foi realizado um grande esforço de revisão e reestruturação do banco de dados acústicos do PMC-BS, para conferir a consistência dos dados e avaliar a necessidade de melhorias no processamento dos assovios, buscando aprimorar o desenvolvimento de classificadores acústicos. No caso dos assovios, critérios que podem interferir nos resultados referem-se a regras para definição do que considerar um assovio e como extrair suas características. Isto vale tanto no aspecto do conteúdo espectral de frequências quanto no domínio do tempo. Quanto ao conteúdo espectral, é comum que os assovios possuam harmônicos, sendo que as regras estabelecidas definiram que apenas a fundamental (também chamado de primeiro harmônico) deve ser considerado para a análise. No domínio do tempo, é comum que os assovios possuam quebras (descontinuidades na produção do sinal). Foi definido um intervalo máximo de tempo na qual se considera que um assovio possua uma quebra, sendo que intervalos maiores são considerados como dois assovios distintos. Na avaliação dos dados de assovios analisados foram observadas inconsistências nestes critérios. Ainda que válidas as análises realizadas do ponto de vista de descrição de repertórios acústicos das espécies, estas variações nos dados podem enfraquecer a performance e robustez dos classificadores automatizados e, portanto, necessitam de um refinamento.

Outra questão importante que se deve levar em conta na seleção de assovios que compõem o conjunto utilizado no desenvolvimento de classificadores e análises do repertório das espécies é a presença de assovios

estereotipados, ou seja, a repetição acentuada de assovios com um mesmo contorno espectral. A presença exacerbada de assovios com contorno estereotipado pode gerar um viés nas análises, uma vez que introduz réplicas do mesmo tipo de assovio, associado a um único indivíduo da espécie. Conforme apresentado no 7º Relatório Anual do PMC-BS (PETROBRAS, 2023a), para *T. truncatus*, por exemplo, a proporção dos assovios estereotipados variou de 23% a 98% do total de assovios registrados nas detecções acústicas.

A partir dos resultados do esforço de revisão e reestruturação da sonoteca do PMC-BS, foi decidido reanalisar os dados das campanhas do Ciclo de Curto Prazo do PMC-BS, com ênfase para as sete espécies incluídas no desenvolvimento de classificadores. Isto porque, ao se aplicar dados em algoritmos de aprendizado de máquina para treinar um modelo de classificação, é fundamental que haja uma grande rigidez nos critérios de processamento dos objetos a serem classificados. No reprocessamento dos assovios a presença dos assovios estereotipados foi avaliada cuidadosamente e, quando presentes, foram evitados na etapa de seleção dos assovios, eliminando esse viés metodológico.

A análise dos assovios foi realizada a partir do uso de amostras retiradas da sonoteca do PMC-BS. O número de assovios foi limitado a um máximo de 50 por detecção acústica, com o objetivo de manter a maior representatividade da diversidade dos parâmetros analisados, evitando vieses relacionados ao contexto comportamental e ambiental que pode estar associado a um registro com um número exorbitante de assovios.

O processamento dos assovios para extração dos parâmetros acústicos foi feito utilizando o módulo ROCCA (*Real-time Odontocete Call Classification Algorithm*) do programa PAMGUARD, desenvolvida para a análise de classificação de assovios de delfinídeos (OSWALD et al., 2013). Foi gerado um espectrograma dos assovios no ROCCA e os parâmetros acústicos foram extraídos a partir do contorno de cada assovio. O contorno foi obtido manualmente através de múltiplos pontos conectados (**Figura V.4-18**). Foram calculados cerca de 50 parâmetros acústicos que descrevem cada assovio. Para fins de caracterização de repertório, foram selecionados os parâmetros mais

comumente utilizados na literatura para esse fim, que são basicamente: frequência média, frequência mínima, frequência máxima, frequência inicial, frequência final, delta de frequência (diferença entre a frequência máxima e a frequência mínima) e duração.

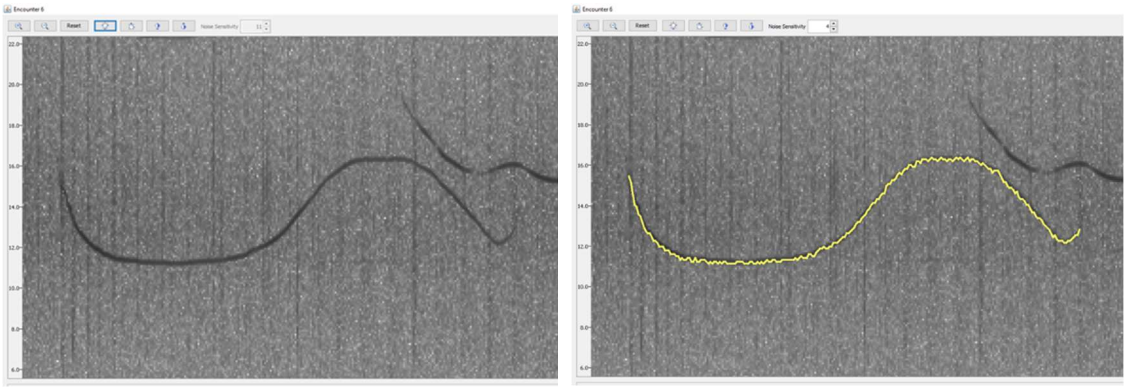


Figura V.4-18: *Exemplo de um assovio processado no módulo ROCCA do programa PAMGUARD. Os parâmetros são extraídos manualmente pelo contorno do assovio (em amarelo no espectrograma da direita).*

V.4.2.1.3 Resultados – processamento de assovios

Considerando todos os critérios estabelecidos e padronizados para a seleção e processamento de assovios, o processamento dos assovios das sete espécies mais representativas que serão incluídas nos classificadores foi realizado, obtendo-se até o momento um total de 8.678 assovios, dos quais 4.248 foram processados para extração dos parâmetros acústicos, atingindo 100% da meta mínima de 30 assovios processados por detecção, enquanto 1.114 ainda estão pendentes de processamento, considerando a meta máxima de 50 assovios processados por detecção. Os quantitativos do processamento de assovios por espécie podem ser observados na **Tabela V.4-2.**

Tabela V.4-2: *Quantitativo de assobios selecionados e analisados para extração de parâmetros acústicos, para as sete espécies mais representativas registradas pelo PMC-BS, bem como número de assovios ainda a serem analisados (considerando máximo de 50 assovios por detecção).*

Espécie	Detecções acústicas	Assovios selecionados	Assovios analisados	Assovios a serem analisados
Stenella frontalis	121	3.703	2.125	415
Stenella longirostris	23	2.374	614	444
Stenella attenuata	11	387	234	0
Stenella clymene	13	608	303	105
Delphinus delphis	9	338	201	36
Steno bredanensis	6	139	139	0
Tursiops truncatus	35	1.129	632	144
Total	**218**	**8.678**	**4.248**	**1.144**

V.4.2.2 Desenvolvimento de classificadores de delfinídeos

A identificação taxonômica dos sons biológicos são importantes contribuições para a pesquisa, monitoramento e conservação. Permite, por exemplo, investigar desde a ocorrência e distribuição das populações até a abundância e avaliação de impactos (FLEISHMAN et al., 2023). Além disso, a classificação dos grupos taxonômicos pode ser útil em identificar variações geográficas e contribuir nos estudos de conectividade entre diferentes populações (CASTELLOTE et al., 2012). O desenvolvimento de um classificador acústico para identificar os sons produzidos pelas diferentes espécies de cetáceos é um passo fundamental para o melhor aproveitamento dos dados coletados pelo MAP no PMC-BS.

Os estudos e técnicas para detectar e classificar as vocalizações de cetáceos tem evoluído bastante. Os odontocetos em particular tem sido o alvo de muitos estudos, como é o caso de sons como os assovios, clique e pulsados explosivos (RANKIN et al., 2017). Os assovios são os sons mais comumente investigados, comumente produzidos pela maioria das espécies de delfinídeos

(MORISAKA, 2012). Existe uma grande variabilidade nos assovios, tanto no nível intraespecífico como interespecífico, o que torna a tarefa de classificação um desafio. Além disso, cabe ressaltar que os classificadores precisam ter um caráter regional, uma vez que a mesma espécie em regiões ou populações diferentes pode apresentar uma variabilidade geográfica expressiva (LIMA et al., 2020).

Os esforços para descrever e comparar os assovios iniciaram-se a partir da década de oitenta. STEINER (1981) comparou assovios de cinco espécies de diferentes regiões do Atlântico Norte Ocidental. Foram utilizados milhares de assovios de alguns poucos grupos e uma análise discriminante obteve taxa de acerto que chegou a 70%. O treinamento de modelos de classificação de assovios de delfinídeos avançou bastante a partir dos estudos de Oswald et al. (2003), que utilizou análise discriminante e árvores de decisão para classificar nove espécies de delfinídeos no Pacífico Oriental Tropical, incluindo cerca de 900 assovios e um número maior de grupos (de dois até 10 por espécie para um total de 62 grupos). O resultado do modelo da árvore de decisão foi de 51%. Oswald et al. (2007) utilizaram os mesmos métodos, mas num volume maior de dados provenientes da mesma região do Pacífico (2.606 assovios e 176 grupos de sete espécies e um gênero). Os assovios de cada grupo foram limitados a 35 para evitar o enviesamento e sobreajuste dos modelos no reconhecimento de assovios específicos de determinados grupos, em contrapartida dos padrões gerais característicos das espécies. O conjunto de assovios de cada grupo foi utilizado como unidade para treinamento e teste. A classificação dos grupos testados foi com base na espécie classificada com a maioria dos assovios. Neste trabalho a acurácia para identificação de grupos atingiu 46%. Este algoritmo, inicialmente desenvolvido em MATLAB, foi denominando de ROCCA (*Real-time Odontocete Call Classification Algorithm*) e apresentou ferramentas para extrair os parâmetros acústicos dos assovios de forma automatizada, agrupar os resultados em sessões de gravação (grupos) e classificar a espécie.

O potencial do uso de diferentes vocalizações e os modelos de classificação de floresta aleatória foi demonstrado no estudo de Rankin et al. (2016). O estudo fez uso de um banco de dados de sons de cinco espécies de delfinídeos do

Pacífico Norte, na região da corrente da Califórnia. O modelo denominado de BANTER (Bio-Acoustic evenNT classifiER) primeiramente gera classificadores para cada tipo de vocalização (assovios, cliques e pulsados explosivos) para então combiná-los num único modelo de classificação (classificação do evento). A classificação dos denominados eventos são os sons de diferentes tipos de um determinado grupo ou sessão de gravação. Ao contrário dos estudos mencionados anteriormente, em que os parâmetros acústicos dos assovios foram mensurados manualmente, o algoritmo fez uso de milhares de vocalizações que foram extraídas a partir de detectores automáticos do programa PamGuard (sem a tentativa de eliminar falsos positivos). Os parâmetros foram automaticamente extraídos do ROCCA, como parte de um módulo incorporado ao PamGuard. Foram 153 grupos das diferentes espécies utilizados no treinamento e teste do modelo. Os resultados obtidos chegaram a uma taxa de acerto de 84% para classificação dos grupos (denominados eventos). O estudo de Mccullough et al. (2021) utilizou o algoritmo BANTER a partir de dados acústicos e de avistagem coletados de um cruzeiro no Havaí. Foram 230 detecções com grupos de cetáceos de 10 espécies diferentes. O objetivo do trabalho foi avaliar a acurácia na classificação de uma única espécie (falsa-orca ou *Pseudorca crassidens*) contra todas as outras nove (classificação binária). O resultado deste modelo atingiu uma taxa de acerto de 99% para a espécie. A evolução das técnicas e estudos demonstram que é possível desenvolver classificadores robustos que atingem altos índices de acerto.

Um dos objetivos para o uso dos dados de acústica do PMC-BS é o desenvolvimento de um classificador acústico robusto para as espécies de delfinídeos da Bacia de Santos. O esforço está focado na classificação dos assovios das espécies de delfinídeos mais comuns na região.

V.4.2.2.1 Metodologia - Classificador de assovios

Dentre as sete espécies melhor representadas no banco de dados bioacústicos do PMC-BS, o número de detecções e assovios por espécie é bem

variável, o que no geral reflete a frequência com que estas espécies são registradas nas Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS. Foram 218 detecções acústicas de delfinídeos com registros de assovios validados e associados às espécies visualmente identificadas pela equipe de observadores. A grande maioria são provenientes de Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP, ainda que algumas detecções gravadas oportunisticamente em Campanhas de Telemetria ou durante testes de equipamentos realizados previamente às campanhas também tenham sido incluídas. Do total de detecções acústicas, 55% (n = 121) são do golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*).

O total de assovios considerado para cada grupo foi limitado em 30 amostras (com meta futura de ampliação desse número para o máximo de 50), na tentativa de evitar o enviesamento de determinados grupos ou indivíduos no treinamento do classificador. Nos casos de detecções com menos de 30, todos os assovios foram incluídos. O número médio de assovios por detecção foi de cerca de 20, com um total atingido de assovios analisados de 4.248. O treinamento e teste do classificador foi feito entre grupos independentes, ou seja, os assovios de um determinado grupo utilizado no treinamento não foram utilizados no teste do classificador e vice-versa.

Devido à alta discrepância nas frequências das espécies para a amostra total, os dados separados para treinamento do classificador foram balanceados, para que todas as espécies estejam representadas com o mesmo número de assovios. A falta de balanceamento nos dados pode gerar resultados enviesados para a espécie majoritária. Na **Tabela V.4-3** estão representados os conjuntos de dados não balanceados (número variável por espécie, total de 2.329 assovios) e balanceados (105 amostras por espécie, total de 735 assovios), com número de detecções e assovios utilizados para treinamento do classificador.

Tabela V.4-3: *Conjuntos de dados balanceados e não balanceados utilizado para treinamento do classificador automatizado de assovios de delfinídeos da Bacia de Santos pelo PMC-BS.*

Espécie	Dados não balanceados			Dados balanceados		
	N detecções	Proporção	N assovios	N detecções	Proporção	N assovios
Stenella frontalis	91	75%	1083	52	50%	105
Tursiops truncatus	25	21%	309	24	15%	105
Stenella longirostris	13	11%	313	13	14%	105
Stenella clymene	10	8%	201	10	7%	105
Stenella attenuata	10	8%	196	10	6%	105
Delphinus delphis	7	6%	122	7	5%	105
Steno bredanensis	5	4%	105	5	3%	105
Total	**121**	**100%**	**2.329**	**121**	**100%**	**735**

Os dados de teste foram de grupos diferentes daqueles utilizados no treinamento. Os testes foram feitos para classificar tanto os assovios individuas como também o conjunto de assovios de cada encontro. Na classificação do encontro, foi calculado a proporção de votos para cada espécie e a classificação com base na maior proporção. Foi selecionado aleatoriamente as detecções para testes, mas os dados foram primeiramente filtrados (detecções com 30 ou mais assovios). Isto para que cada encontro pudesse ter um número razoável de assovios a serem testados. A **Tabela V.4-4** sumariza o número de assovios e detecções utilizados para os testes.

Tabela V.4-4: *Dados de teste do classificador automatizado de assovios de delfinídeos da Bacia de Santos em desenvolvimento pelo PMC-BS.*

Espécie	N detecções	Proporção	N assovios
Stenella frontalis	30	53%	1041
Tursiops truncatus	10	17%	323
Stenella longirostris	10	17%	301
Stenella clymene	3	5%	102
Stenella attenuata	1	2%	38
Delphinus delphis	2	4%	80
Steno bredanensis	1	2%	34
Total	**57**	**100%**	**1919**

Após os dados serem separados em treinamento e teste foi feito o treinamento do classificador a partir de modelos de floresta aleatória (BREIMAN, 2001). Todas as análises foram realizadas em ambiente Python de programação utilizando o pacote *sci-kit learn* (PEDREGOSA et al., 2011).

Foram utilizadas três diferentes abordagens de treinamento dos modelos: (1) dados balanceados; (2) dados não balanceados com pesos de acordo com a representatividade da espécie (frequência das classes); e (3) treinamento de múltiplos classificadores, cada um com uma subamostra balanceada diferente retirada dos dados não-balanceados. Neste caso, o resultado foi somente para a classificação do encontro, a partir da proporção de votos do total de árvores de cada um dos multiclassificadores testados. De forma exploratória, modelos similares também foram gerados para os mesmos dados, mas desta vez adicionando a profundidade do local de detecção como uma nova variável descritora. Foi feita uma procura por grid de diferentes parâmetros do modelo (número de árvores, o número máximo de variáveis por árvores etc.) a partir da validação cruzada dos dados de treinamento. Foi encontrado valores ótimos para os dados com e sem a variável profundidade.

V.4.2.2.2 Resultados dos modelos de classificação

Modelo de classificação de dados balanceados

O modelo com dados balanceados foi treinado com os parâmetros ótimos encontrados (total de 1000 árvores, máximo de 10 variáveis descritoras e profundidade máxima da árvore em 10). A acurácia do modelo para os dados de teste foi de 52% (999 acertos de 1919 testados). A matriz de confusão da **Figura V.4-19** mostra os resultados da proporção de assovios classificados em cada espécie (espécie predita). A diagonal da matriz representa as porcentagens de acerto (espécie real).

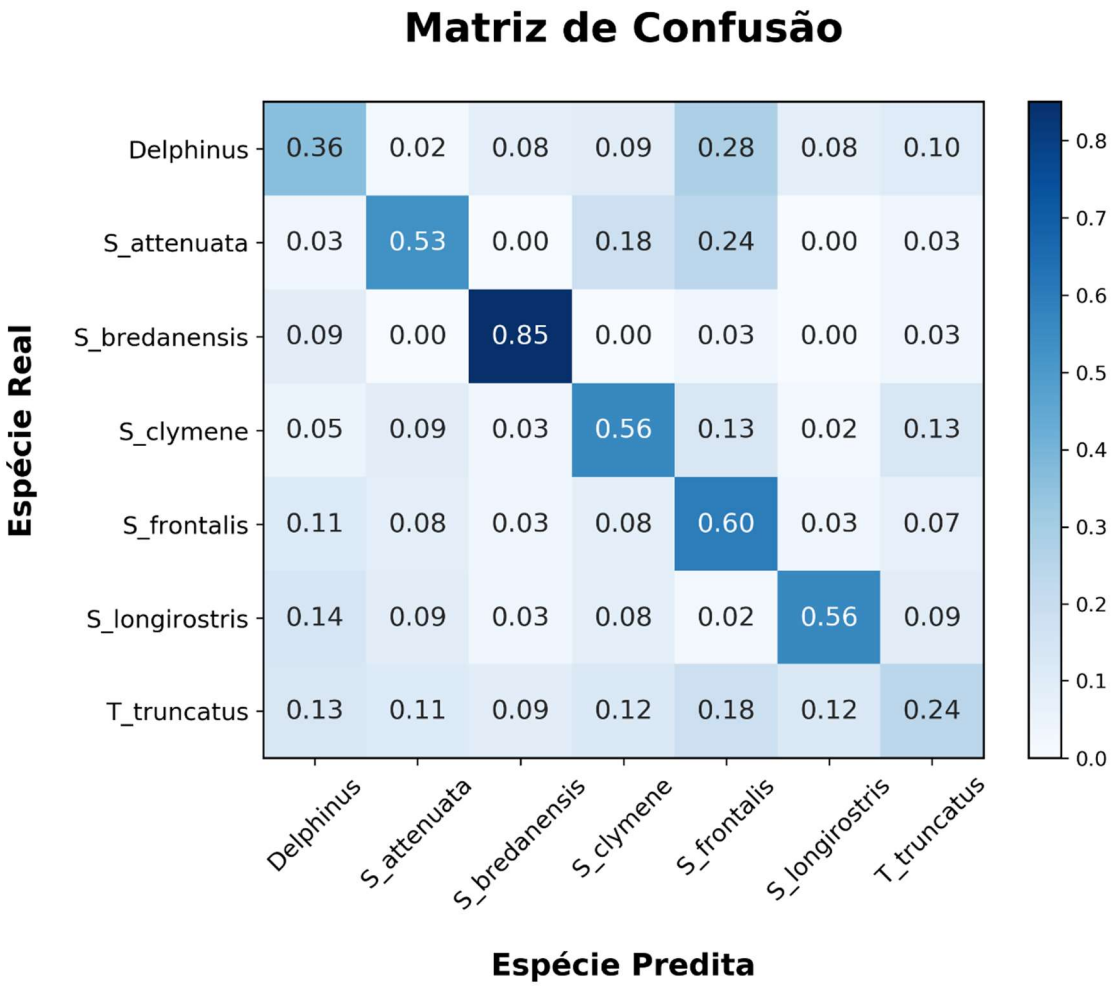


Figura V.4-19: *Matriz de confusão com os resultados do classificador acústico de assovios do PMC-BS utilizando o modelo de floresta aleatória para os dados balanceados de sete espécies de delfinídeos. Os resultados mostram a proporção de assovios classificados em cada espécie (espécie predita). As classificações corretas estão representadas na diagonal da matriz (espécie real).*

A taxa de acerto entre as espécies variou bastante. A maior taxa foi de *S. bredanensis* (85% de acerto), enquanto *T. truncatus* foi a menor (24%). As outras espécies ficaram com taxas mais similares (entre 53% e 60%). As espécies foram comumente confundidas com *S. frontalis*, tal como foi com *D. delphis* (28% das vezes), *S. attenuata* (24% das vezes) e *T. truncatus* (18% das vezes). No caso de *T. truncatus*, além de ser confundida como *S. frontalis* (18%), foi confundida com todas as outras (distribuído em cerca de 10% para cada espécie).

Classificação do encontro acústico

Os resultados foram separados por encontro acústico para avaliar a capacidade do classificador em predizer a espécie com base num conjunto de assovios pertencentes a uma sessão de gravação (grupo de animais denominados de encontro acústico). Foram no total 57 detecções acústicas testadas (**Tabela V.4-20**). Cada encontro teve no mínimo 30 e no máximo 52 assovios.

Para calcular a proporção de assovios classificados entre as espécies, foi feita a contagem do número de votos das árvores para todos os assovios do encontro. A decisão da classificação foi feita pelos votos da maioria das árvores do conjunto de assovios (pontuação baseada na proporção de votos das árvores). De acordo com este método, a classificação das detecções atingiu uma taxa de acerto de 84% (48 das 57 detecções testados). A matriz de confusão mostra os resultados da classificação das detecções (**Figura V.4-20**).

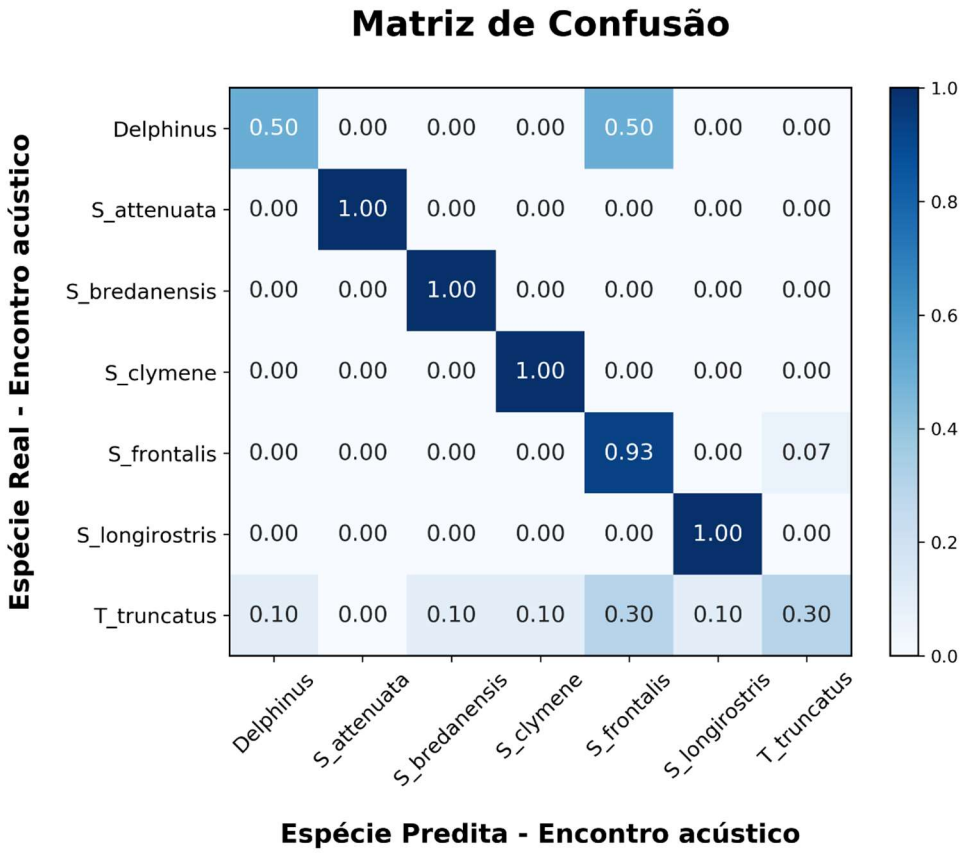


Figura V.4-20: *Matriz de confusão com os resultados do classificador acústico de assovios do PMC-BS utilizando o modelo de floresta aleatória para os dados balanceados de sete espécies de delfinídeos para classificar as detecções acústicas. A classificação de cada detecção acústica foi feita com base na espécie com maior número de assovios apontada pelo classificador. Foram testadas somente detecções que possuíam um conjunto de 30 ou mais assovios. Os resultados estão apresentados em termos da proporção de detecções classificados em cada espécie (espécie predita). As classificações corretas estão representadas na diagonal da matriz (espécie real).*

Os resultados mostraram que espécies como *S. frontalis*, *S. longirostris*, *S. clymene* e *S. bredanensis* tiveram acerto de 100% ou próximo disso. Já para *D. delphis*, e principalmente *T. truncatus,* as taxas foram mais baixas. É preciso ressaltar que para muitas espécies (S*. bredanensis*, *S. attenuata*, *D. delphis* e *S. clymene*) o número de detecções testadas foi muito reduzido (de 1 a 3 detecções), dificultando avaliar a robustez deste resultado e prever a taxa de

acerto numa situação em que mais detecções fossem testadas. No caso de *T. truncatus* foi diferente, pois foram 10 detecções testadas e somente 30% de acerto (e grau de confusão com diversas outras espécies), indicando que o classificador teve dificuldade em identificar esta espécie.

Ainda com relação a classificação das detecções, pode ser estabelecido um limiar para rejeição de classificação, caso uma determinada pontuação não seja atingida (proporção mínima do total de votos das árvores do modelo). No caso de o encontro não atingir a pontuação, o resultado não é considerado confiável o suficiente e, portanto, descartado (tratado como ambíguo quanto a classificação da espécie). Este limiar pode ser obtido empiricamente, de acordo com os melhores resultados obtidos nos dados, estabelecendo-se um balanço entre altas taxas de acerto, mas também um número baixo de erros. O limiar depende da tolerância que se deseja ter em relação aos erros do classificador (ao custo de descartar mais classificações corretas).

Foram comparados diferentes limiares, sendo que o limiar de 0,25 foi o que obteve o melhor resultado para a proporção de árvores (ou seja, do total de árvores somadas de todos os assovios do encontro, a espécie com maior proporção deve ter no mínimo 25% dos votos para ser considerada uma classificação correta). Quando consideramos esse critério (limiar de classificação de 25% das árvores), os resultados foram: 86% (49) das detecções classificadas corretamente e 14% (08) detecções classificadas como ambíguo.

Para o total de detecções consideradas como corretas (os 86% acima do limiar), a taxa de acerto foi de 90%, sendo que os outros 10% (5 detecções) foram classificações erradas, mas assumidas como corretas. As classificações consideradas ambíguas (8) (os 14% abaixo do limiar de 0,25) ficaram divididas entre 50% (4) que foram classificações corretas e 50% (4) que foram erradas, mas ambas rejeitadas por estarem abaixo do limiar estabelecido.

Modelo de classificação de dados não balanceados

Foi treinado um modelo que utiliza todo o conjunto de dados de treinamento, sem que seja previamente balanceado. Neste modelo são calculados diferentes pesos de acordo com a frequência em que as espécies estão representadas na

amostra. Este método tem o objetivo de dar maior importância para as espécies que são menos frequentes nos dados durante o treinamento do modelo. Em teoria, isto evita que o modelo fique enviesado para a espécie majoritária em termos de representatividade nos dados.

A acurácia deste modelo utilizando os dados de teste foi de 62% (1190 acertos de 1919 testados). A matriz de confusão da **Figura V.4-21** mostra os resultados do classificador com a proporção de assovios e suas respectivas espécies preditas. A diagonal da matriz representa as proporções de acerto de cada espécie (espécie real). Este modelo resultou em maior acurácia geral em relação ao modelo com dados balanceados. No entanto, os resultados de acurácia entre as espécies indicaram um enviesamento para a espécie majoritária (no caso *S. frontalis*). Enquanto no modelo balanceado o total de acerto de assovios de *S. frontalis* foi 60%, no modelo com pesos entre as classes aumentou para 77%. No entanto, outras espécies tiveram uma diminuição na taxa de acerto. No geral, as espécies melhor representadas tiveram os melhores resultados, ao custo de que a minoritárias diminuíram seu desempenho. Já na classificação das detecções acústicas, o desempenho geral foi um pouco mais baixo comparado ao modelo de dados balanceados (82% das detecções corretas).

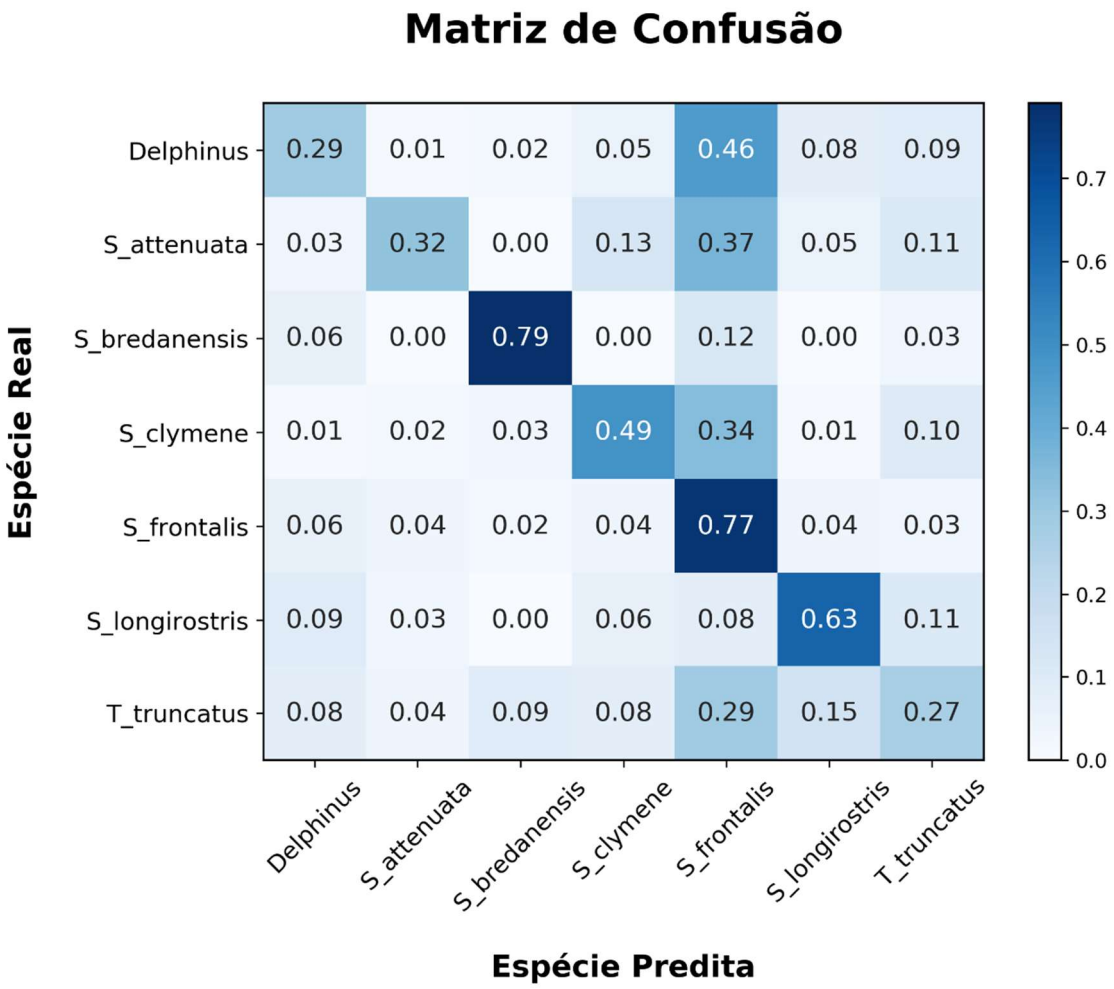


Figura V.4-21: *Matriz de confusão com os resultados do classificador acústico de assovios do PMC-BS utilizando o modelo de floresta aleatória para os dados não balanceados com pesos de acordo com a frequência das classes para sete diferentes espécies de delfinídeos. Os resultados mostram a proporção de assovios classificados em cada espécie (espécie predita). As classificações corretas estão representadas na diagonal da matriz (espécie real).*

Treinamento de múltiplos classificadores

Na tentativa de continuar a trabalhar com os dados balanceados, mas também fazer proveito de todo o banco de dados de treinamento (dados não-balanceados), foi feita a abordagem de multiclassificador. Foram 150 subsequentes rodadas de subamostras aleatórias (com reposição) dos dados, de forma a obter uma amostra balanceada a cada rodada para treinamento.

Cada subamostra (classificador) é, portanto, um pouco diferente umas das outras. Os dados de teste são então testados por todos os modelos treinados, de forma a se obter os resultados múltiplas vezes para o mesmo dado de teste. No total foram 1919 assovios testados, sendo que cada um foi testado 150 vezes pelos multiclassificadores. A acurácia geral é calculada a partir da média da acurácia de todos os modelos.

A taxa de acerto média dos 150 classificadores para os dados de teste foi de 51% (desvio padrão de 0.014). O desvio padrão baixo indica que não houve grande variação entre os diferentes modelos. A taxa de acerto média é similar ao modelo de um único classificador de dados balanceados, mas já a classificação das detecções houve uma leve melhora (86% das detecções) comparado ao único classificador (84%).

Quando aplicados diferentes limiares de confiança para aceitar ou rejeitar as classificações das detecções, os resultados do multiclassificador foram sensíveis às alterações. O limiar com proporção mínima de 0,27 dos votos classificou 77% das detecções acima do limiar (assumidos como correto), sendo os outros 23% (abaixo do limiar) rejeitados como ambíguos. No entanto, dentre estes 77% classificados como corretos (44 detecções) 95% foram realmente corretos. Ou seja, ainda que tenha sido rejeitado um maior número de detecções (incluindo detecções que estavam corretos), aqueles com a classificação errada acima do limiar de confiança foram apenas 5% (2 detecções).

Modelo de classificador incluindo a profundidade como variável preditiva

Foram testados os mesmos modelos, no entanto incluindo a variável de profundidade dos registros como uma variável preditora. Os parâmetros ótimos do modelo foram definidos em 1000 árvores, máximo de 50 parâmetros descritores por árvore e sem limite para a profundidade máxima das árvores. A acurácia do modelo para os dados de teste foi de 65% dos assovios corretamente classificados (1.247 acertos de 1.919 testados). Os modelos de dados balanceados, não-balanceados com pesos entre as espécies e o multiclassifcador, todos geraram valores de acurácia um pouco mais baixo (62%

a 64%). A matriz de confusão da **Figura V.4-22** mostra os resultados do classificador com a proporção de assovios e suas respectivas classificações (espécies preditas). A diagonal da matriz representa as proporções de acerto de cada espécie (espécie real).

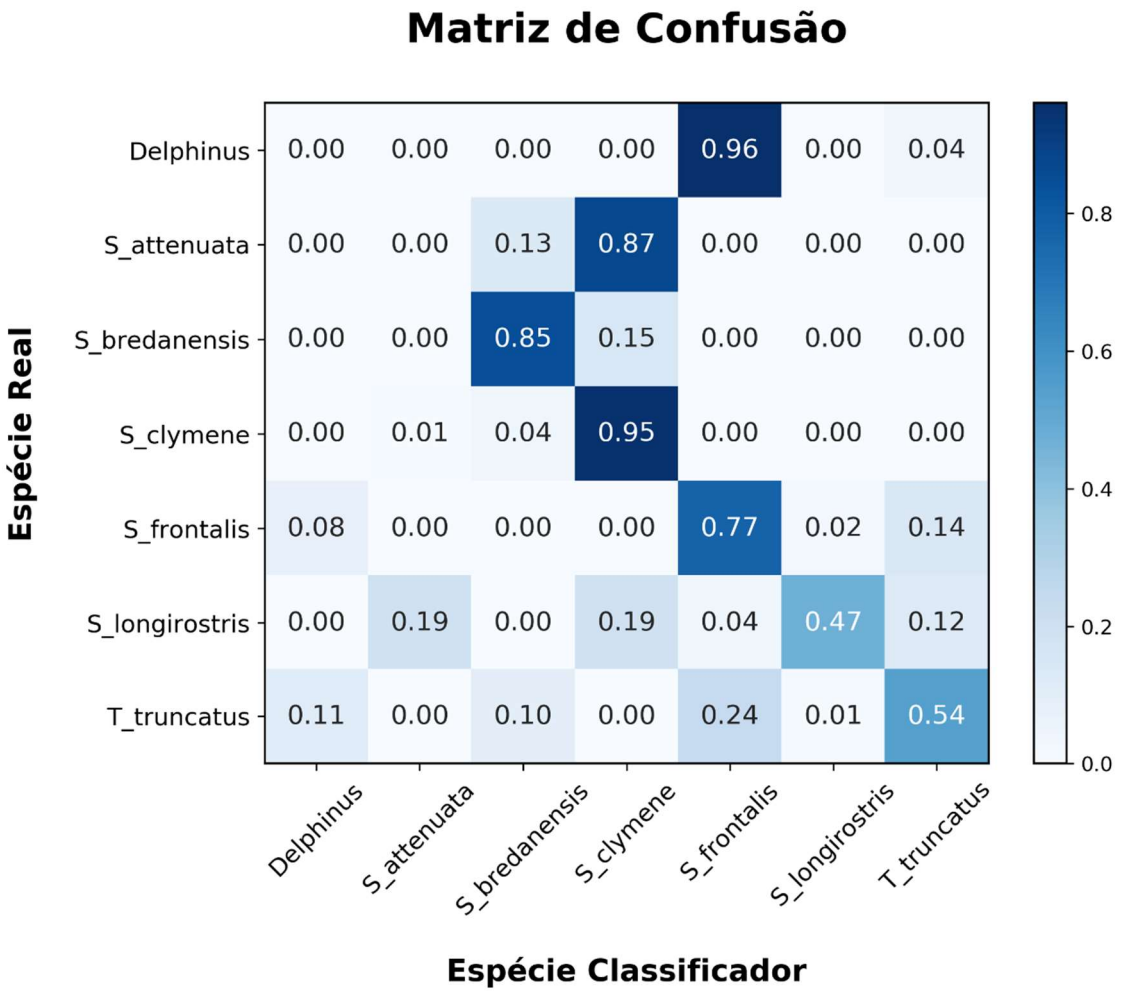


Figura V.4-22: *Matriz de confusão com os resultados do classificador acústico de assovios do PMC-BS utilizando o modelo de floresta aleatória para os dados balanceados incluindo a profundidade como variável preditora de sete espécies de delfinídeos. Os resultados mostram a proporção de assovios classificados em cada espécie (espécie predita). As classificações corretas estão representadas na diagonal da matriz (espécie real).*

Apesar da acurácia do modelo ter atingido um valor mais alto, quando

comparado ao modelo que não computa a profundidade, foi notável que o modelo ficou enviesado para algumas espécies (particularmente *S. frontalis* e *S. clymene*), enquanto outras não tiveram nenhum de seus assovios corretamente classificados (como foi o caso de *D. delphis* e *S. attenuata*). Também foi notável a melhor capacidade deste modelo em distinguir os assovios de *Tursiops truncatus* comparado aos modelos que não incluem a profundidade. *S. bredanensis*, independente do modelo utilizado, se manteve com taxa de acerto dos assovios sempre alta.

V.4.2.2.3 Discussão - Classificadores de assovios

A **Tabela V.4-5** faz um sumário dos resultados, indicando a acurácia da classificação de assovios e detecções acústicas para cada um dos modelos testados, com e sem a variável profundidade incluída.

Tabela V.4-5: *Acurácia dos classificadores automatizados de assovios de delfinídeos em desenvolvimento pelo PMC-BS para as diferentes abordagens de treinamento e teste de florestas aleatórias empregadas. Resultados para classificação de assovios individuais e das detecções acústicas e modelos com e sem a variável profundidade incluída.*

Modelo	Classificação de assovios sem variável profundidade	Classificação de detecções sem variável profundidade	Classificação de assovios com variável profundidade	Classificação de detecções com variável profundidade
Floresta aleatória (dados balanceado)	52%	84%	65%	67%
Floresta aleatória (não balanceado com pesos)	62%	82%	65%	67%
Floresta aleatória (multiclassificador)	51%	86%	63%	74%

Os classificadores acústicos para espécies de cetáceos, particularmente os

odontocetos avançou bastante nas últimas décadas. O algoritmo ROCCA (OSWALD et al., 2007), por exemplo, atualmente integra um módulo do programa PamGuard. O ROCCA possui ferramentas para analisar os assovios (extrair os parâmetros) e rodar os dados em modelos de floresta aleatória para classificação de assovios e detecções acústicos, inclusive fornecendo modelos que combinam diferentes tipos de vocalizações. Os modelos de classificação de regiões específicas dos oceanos (como o Atlântico Norte, Pacífico Tropical Oriental, ilhas do Havaí e Mediterrâneo) estão disponíveis no site do programa PamGuard para serem utilizados no ROCCA[6]. No modelo de classificador de assovios desenvolvido para Bacia de Santos foi aplicado métodos similares, inclusive os 50 descritores extraídos dos assovios para alimentar os classificadores foram processados utilizando o ROCCA. Os modelos de floresta aleatória e regras para treinamento/teste para evitar o enviesamento dos resultados também seguiram métodos similares.

Ainda que exista peculiaridades entre diferentes estudos, os resultados do classificador do PMC-BS alcançaram margem de acerto similar a outros estudos considerando a classificação de assovios. Alguns estudos compararam espécies entre diferentes partes do mundo e chegaram a taxas de 55% a 65% através da análise discriminante (WANG et al., 1995; RENDELL et al., 1999). No entanto, a comparação de espécies de diferentes regiões ou oceanos dificulta o controle sobre a extensão das diferenças devido às variações geográficas e as diferenças entre as espécies propriamente ditas. O estudo de Gannier et al. (2010) incluiu cerca de 700 assovios de 43 grupos representativos de cinco espécies da região do Mar Mediterrâneo e os resultados para modelo de árvores de classificação alcançou 63% de acerto. Da mesma forma, Azzolin et al. (2014) desenvolveu um classificador para as quatro espécies mais comum de delfinídeos do Mediterrâneo. No estudo foram 47 grupos incluídos para um total de 683 assovios, utilizando o número máximo de 35 assovios por grupo. A taxa de acerto foi de 58%. Em ambos os estudos não foi feita a tentativa de classificação por detecções acústicos. Oswald et al. (2007), a partir de 176 detecções de 7 espécies e um gênero no Pacífico Oriental Tropical atingiu uma taxa de acerto

[6] https://www.pamguard.org/

geral de 46% para a classificação das detecções, mas com algumas espécies atingindo até 80% de acerto nas detecções. Rankin et al. (2017) utilizou combinação de diferentes vocalizações (assovios, cliques e pulsados explosivos) para cinco espécies e 153 grupos na California para atingir 84% de acerto nas detecções. Considerado o classificador somente de assovios, a taxa foi de 43%. No Atlântico Sul Ocidental, incluindo a região da Bacia de Santos, Amorim et al. (2019) utilizou dados de oito espécies e 15 grupos (máximo de 100 assovios por grupo) para testar classificadores tanto de assovios, cliques, como uma combinação destes. Não foi feita a tentativa de classificar os grupos. O modelo com melhor desempenho na classificação de assovios foi uma análise discriminante, com taxas de acerto de 66% e o modelo combinando de assovios e cliques alcançou 94% de acerto.

O classificador atual de assovios do PMC-BS inclui sete espécies e obteve uma taxa de acerto de 52%, enquanto a classificação das detecções alcançou uma taxa de 84% de acerto. Os dados de treinamento utilizados foram de 121 grupos e um total de 735 assovios por espécie (balanceados com um total de 105 para cada uma). A espécie com a maior taxa de acerto foi *S. bredanensis* com 85% (34 assovios testados). Entre as espécies do gênero *Stenella*, os resultados foram satisfatórios com taxas entre 53% (*S. attenuata*) até 60% (*S. frontalis*). Duas espécies apresentaram taxas de acerto mais baixo, entre elas D. delphis (36%) e *T. truncatus* (24%). Os erros mais comuns foram os assovios de *D. delphis*, *S. attenuata* e *T. truncatus* serem confundidos como de *S. frontalis*. *T. truncatus* em particular apesentou porcentagem de erros bem distribuídos entre todas outras espécies. Ainda assim, todas espécies tiveram taxa de acerto maior do que por acaso (probabilidade de acerto por acaso de 14% para um classificador com sete espécies).

Já o resultado das detecções, que obteve taxa de acerto de 86% para os 57 testados, algumas espécies tiveram 100% de acerto. No entanto é preciso ter cautela, pois apenas três espécies tiveram 10 ou mais detecções testadas que pode ser considerado um teste mais robusto em relação a real performance do classificador. Das espécies com mais de 10 detecções, destacou-se *S. longirostris*, que foi classificada corretamente 100% das detecções (10 testados).

S. frontalis também mostrou alto desempenho (93% de 30 detecções), ao contrário de *T. truncatus* (30% de 10 detecções). As outras quatro espécies foram apenas um a três detecções testados, e fica mais difícil avaliar o real desempenho. *S. clymene* e *S. bredanensis* foram resultados promissores com 100% de acerto cada, enquanto *D. delphis* foram 2 detecções e apenas um classificado corretamente (50%).

A definição de um limiar na classificação das detecções pode ser útil para estabelecer um limite de confiança para determinar as classificações assumidas como corretas e aquelas que são ambíguas e pouco confiáveis. Do total de votos das árvores, a proporção de 25% dos votos pareceu um bom custo-benefício, que rejeitou cinco de nove detecções classificados erroneamente. Em contrapartida, outras quatro detecções corretos foram rejeitados por estarem abaixo do limiar.

O método de incluir pesos para as espécies do classificador não foi suficiente para lidar com o alto grau de desbalanceamento na frequência das espécies. Os resultados são típicos de dados não-balanceados. A melhora na acurácia geral do modelo não resultou em um classificador que melhorou o desempenho para todas as espécies, neste caso a acurácia maior não refletiu numa melhoria na classificação das espécies, a não ser para aquelas bem representadas nos dados e piora no desempenho para as outras. A classificação de detecções (82%) ficou um pouco abaixo do que os dados balanceados (84%).

Para o método de multiclassificador, a acurácia média (51%) não foi muito diferente do que o teste com um único modelo (52%). Na classificação das detecções a taxa de acerto foi similar ao modelo único, com uma leve melhora (84% para 86%). Nos testes com diferentes limiares de confiança para classificação das detecções, os resultados também foram um pouco diferentes. O limiar de 0,27 (27% votos das árvores) filtrou como confiáveis 77% das detecções. Do total destas detecções (n = 44) apenas dois estavam errados (cerca de 5%). Além de manter um nível de tolerância alto para falsas classificações, este tipo de resultado é interessante para observar quais são as classificações de falsos acima do limiar de confiança. As duas detecções falsas foram de *T. truncatus*, um confundido com *S. bredanensis* e outro com *S.*

longirostris. Isto é uma indicação que a espécie parece ter um repertório de assovios, mais plástico, podendo dividir características com diferentes espécies. Quanto a classificação de detecções acústicos, os resultados do modelo com profundidade tiveram acurácia total mais baixa do que os modelos sem a profundidade. O total de detecções com classificação correta foi no máximo 74%. A inclusão da variável profundidade alterou bastante o comportamento do classificador. Apesar da acurácia ter sido maior (65%), algumas espécies chegaram a ter 0% de classificações, enquanto outras tiveram taxas de acerto muito alta. O desempenho de *T. truncatus*, melhorou substancialmente e 60% das detecções foram corretamente classificados (contra 30% do modelo sem a profundidade). *T. truncatus* pode ser encontrada num grande gradiente de profundidade, mas é mais comum na plataforma continental e a inclusão da profundidade parece ter sido informativo para o classificador identificar a espécie. Por outro lado, espécies oceânicas como S. *attenuata* e *S. longirostris* tiveram desempenho pior do que o modelo sem profundidade.

O modelo de maior acurácia na classificação dos assovios foi com a variável profundidade (65%), que conforme discutido não necessariamente significou uma melhora na acurácia das espécies, inclusive reduzindo drasticamente a taxa de acerto para algumas e um desempenho inferior na classificação de detecções. O mesmo pode ser dito para o modelo de dados não balanceados. Portanto, o melhor modelo foi de dados balanceados sem a variável profundidade (taxa de acerto de 52% para assovios e de 86% para as detecções acústicas). O multiclassificador teve uma leve melhora na classificação das detecções acústicas e foi capaz de produzir um limiar com o menor nível de tolerância de classificação erradas (77% das deteções sendo que destas mais de 95% corretas).

Para algumas espécies como *T. truncatus* é necessário analisar melhor os erros do classificador para buscar melhorias. Enquanto *S. frontalis* e *S. longirostris* foram consistentes nas taxas de acerto. Já para espécies como *D. delphis*, *S. attenuatta*, *S. bredanensis* e *S. clymene* foram poucos assovios e detecções testados. Neste caso são necessárias mais rodadas de teste e treinamento para avaliação do real desempenho destas espécies. Novas

abordagens para testes dos dados podem ser feitas, intercambiando dados de teste e treinamento de forma a testar o maior número de detecções possível. Nesta abordagem, também é possível avaliar a quantidade de assovios necessários para se obter bons índices de acurácia na classificação das detecções. Outras análises para o aprimoramento do classificador que podem ser exploradas no futuro incluem o treinamento de modelos de conjuntos de árvores alternativos (e.g., *gradient boosting*, AdaBoost), assim como a combinação de outras vocalizações (cliques) na classificação das detecções, com expectativas de melhora nas taxas de acerto e inclusão de novas espécies.

V.4.2.3 Análise preliminar de ecologia acústica de delfinídeos

Considerando que a ecologia é o campo da ciência que estuda as relações dos seres vivos com o meio biótico e abiótico em que vivem, a ecologia acústica busca compreender essas relações a partir da bioacústica e análise do ambiente acústico das espécies (FARINA, 2014). Assim, são áreas de interesse da ecologia acústica de cetáceos, desde compreender o contexto social e cultural dos sons produzidos pelas espécies e populações, até determinar a influência de fatores ambientais, espaciais e temporais, nas vocalizações (LALAND; JANIK, 2006). Na perspectiva da ecologia acústica, para entendermos a fundo como se determinam os parâmetros acústicos da vocalização de uma espécie, ou sua relação com sons de outros animais emitidos no ambiente, é imprescindível que a análise seja feita de forma agregada e contextualizada com informações da paisagem acústica e do habitat (PIJANOWSKI et al., 2011).

A presente sessão deste 8º Relatório Anual busca realizar uma análise preliminar e exploratória da ecologia acústica de delfinídeos na bacia de Santos, utilizando técnicas de modelagem estatística para identificar possíveis relações entre parâmetros das vocalizações e fatores ambientais.

V.4.2.2.4 Modelagem da ecologia acústica de delfinídeos

A análise estatística entre variáveis ambientais e parâmetros acústicos dos assovios de delfinídeos foi realizada através de modelos lineares generalizados mistos (GLMM) com uma distribuição normal de erros. Essa distribuição se mostrou adequada em análises gráficas preliminares para os parâmetros acústicos de frequência dos assovios, enquanto para os parâmetros de tempo (duração) e modulação (número de inflexões), essa distribuição foi satisfatória para uma análise preliminar exploratória, mas apresentou indícios de que outras distribuições precisam ser exploradas em análises futuras. Os modelos mistos são especialmente interessantes em um procedimento de modelagem, pois possibilitam a inclusão de variáveis de efeitos aleatórios e fixos simultaneamente, incorporando a correlação entre observações ou conjuntos amostrais (ZUUR et al., 2009). Os efeitos fixos são aqueles cuja magnitude e direção do efeito se deseja estimar, enquanto os efeitos aleatórios representam variações presumíveis, mas para as quais não se tem interesse na análise. Os modelos foram construídos usando o pacote 'lme4' (BATES et al., 2015) e todas as análises e gráficos foram elaborados usando o programa R (R CORE TEAM, 2023).

As variáveis resposta nos modelos foram os seguintes parâmetros acústicos dos assovios: frequências média, mínima e máxima, variação delta da frequência, todas em quilohertz (kHz), além de duração, expressa em segundos de hora (s) e número de inflexões. Estas variáveis respostas variam de forma linear em função de uma ou mais variáveis explanatórias (fixas). As unidades amostrais da análise, ou observações, foram cada assovio analisado. Como o número de assovios processados por detecção acústica foi variável, bem como o número de detecções acústicas por espécie, estas duas informações foram redimensionadas para o intervalo de zero a um e inseridas como um termo *offset* no modelo, funcionando como um tensor linear do peso das observações e, portanto, não teve seu coeficiente estimado pelo modelo.

As variáveis explanatórias (fixas) analisadas foram a temperatura superficial da água (°C), profundidade (m), tamanho de grupo e proporção de filhotes no grupo (número de filhotes / número total de indivíduos no grupo), para cada registro acústico realizado ao longo da Bacia de Santos. Como o objetivo da

análise foi identificar efeitos gerais destas variáveis em relação aos assovios de delfinídeos, as espécies foram consideradas como variável aleatória nos modelos. Optou-se por não introduzir estruturas aninhadas com mais de um efeito aleatório, pois isso demandaria um conjunto mais robusto de dados para se obter boas estimativas.

Seis conjuntos de modelos foram testados, um para cada parâmetro acústico dos assovios. Os modelos foram construídos no modo *step-by-step*, em que, a partir do modelo nulo, foi sendo adicionada uma variável por rodada ao modelo, precisamente, aquela com o menor valor do Critério de Informação de Akaike (AIC) selecionado para a rodada seguinte (BURNHAM; ANDERSON, 2002). A diferença no AIC do melhor modelo (Delta AIC = 0) para os outros modelos, que constitui o Delta AIC, determina quais modelos são mais plausíveis. Um Delta AIC de até dois indica os modelos que devem ser considerados como os melhores ou plausíveis. A validação dos modelos selecionados foi realizada por meio de análises gráficas para verificar o ajuste aos dados (QQ-plot), a presença de valores extremos (outliers) e sobredispersão (excesso de variação não prevista pela distribuição) e, para tanto, foi utilizado o pacote ‘Dharma” do R (HARTIG, 2022).

V.4.2.2.5 Resultados – Ecologia acústica

O conjunto de dados utilizados para análise é o mesmo que foi utilizado para o desenvolvimento de classificadores de assovios de delfinídeos, pois estes são os dados de vocalizações das sete espécies mais representativas do PMC-BS, embora nessa análise preliminar não tenha se buscado realizar uma análise espécie-específica e sim, de forma exploratória, identificar variáveis ambientais que afetem a comunicação dos golfinhos de modo geral. Assim, foram analisados 4.248 assovios, provenientes de 218 detecções acústicas das 7 espécies de delfinídeos mais representativas do PMC-BS.

Os valores observados para cada um dos parâmetros acústicos, de cada uma das espécies analisadas, assim como os parâmetros ambientais

equivalentes ao contexto das detecções, podem ser observados na **Tabela V.4-6.**

Tabela V.4-6: *Parâmetros acústicos dos assovios de delfinídeos registrados pelo PMC-BS na Bacia de Santos e respectivos parâmetros ambientais (abióticas e sociais) correspondentes ao momento das detecções acústicas. (valores de média ± desvio padrão, mínimo–máximo).*

N amostral	***Stenella attenuata***	***Stenella clymene***	***Stenella frontalis***	***Stenella longirostris***	***Delphinus delphis***	***Tursiops truncatus***	***Steno bredanensis***
Número de detecções	11	13	121	23	9	35	6
Número de assovios	234	303	2124	614	202	632	139
Parâmetros acústicos							
Duração (s)	**0,826** ± 0,388 0,048 – 2,272	**1,107** ± 0,525 0,15 – 3,238	**0,73** ± 0,38 0,05 – 2,99	**1,15** ± 0,44 0,11 – 3,04	**0,873** ± 0,4 0,074 – 2,42	**0,978** ± 0,608 0,096 – 5,995	**0,51** ± 0,27 0,1 – 1,8
Frequência média (kHz)	**13,72** ± 2,22 8,21 – 19,13	**14,14** ± 2,56 6,29 – 20,9	**11,8** ± 2 5,3 – 20,8	**13,8** ± 2,4 6,2 – 26,4	**11,63** ± 1,76 6,68 – 18,05	**12,4** ± 2,56 5,71 – 19,28	**8** ± 1,9 5 – 12,9
Frequência mínima (kHz)	**9,53** ± 2,16 4,97 – 16,13	**10,56** ± 2,25 4,03 – 18,19	**8,2** ± 2 3 – 17,3	**10** ± 2,3 3,7 – 22,3	**9,18** ± 1,69 5,16 – 12,47	**8,92** ± 2,27 4,03 – 17,16	**6,8** ± 1,4 3,9 – 11,1
Frequência máxima (kHz)	**18,5** ± 3,6 9,38 – 31,31	**17,45** ± 3,65 6,75 – 27,09	**16,4** ± 3,4 5,7 – 32,3	**17,8** ± 3,5 7 – 32,3	**15,55** ± 3,55 8,91 – 35,53	**16,08** ± 4,14 5,98 – 28,88	**9,3** ± 3,2 5,3 – 19,5
Frequência delta (kHz)	**8,97** ± 3,84 0,61 – 23,53	**6,89** ± 3,41 0,47 – 18,84	**8,2** ± 3,8 0,1 – 22,4	**7,8** ± 3,3 0,6 – 19,7	**6,37** ± 3,51 1,46 – 26,63	**7,16** ± 3,87 0,12 – 20,25	**2,5** ± 2,4 0 – 10,4
Número de inflexões	**3** ± 2 0 – 13	**5** ± 3 0 – 23	**3** ± 3 0 – 51	**3** ± 3 0 – 15	**3** ± 2 0 – 10	**3** ± 3 0 – 57	**3** ± 2 0 – 11
Parâmetros ambientais							
Temperatura superficial da água (°C)	**25,81** ± 1,49 23,11 – 27,34	**24,93** ± 2,12 21,62 – 27,97	**24,6** ± 2,6 19,3 – 27,2	**24,7** ± 2 21 – 27,3	**24,56** ± 1,84 21,84 – 27,89	**24,76** ± 2,16 17,91 – 27,38	**25,5** ± 1,7 23,2 – 27,4
Profundidade (m)	**1.147** ± 565 526 – 2.560	**2.091** ± 421 1.290 – 2.610	**146** ± 208 22 – 2.497	**711** ± 468 139 – 2.114	**80** ± 29 35 – 129	**298** ± 702 20 – 2.644	**2.233** ± 434 1.542 – 2.664
Tamanho de grupo	**27** ± 28 4 – 80	**34** ± 37 5 – 130	**57** ± 58 1 – 300	**113** ± 174 3 – 800	**31** ± 16 5 – 60	**60** ± 73 2 – 250	**8** ± 6 1 – 15
Proporção de filhotes	**0,02** ± 0,05 0 – 0,2	**0,03** ± 0,04 0 – 0,13	**0,04** ± 0,05 0 – 0,25	**0,01** ± 0,02 0 – 0,1	**0,01** ± 0,02 0 – 0,2	**0,02** ± 0,04 0 – 0,2	**0.00**

Foram construídos de sete a dez modelos para cada parâmetro acústico analisado, e os modelos mais parcimoniosos (Delta AIC = 0) foram selecionados. As relações estimadas pelos melhores modelos de cada variável resposta, em relação aos preditores, podem ser observadas na **Tabela V.4-7**.

Para as variáveis de frequência analisadas (média, mínima, máxima e delta), os melhores modelos selecionados apresentaram um ajuste relativamente satisfatório, não tendo apresentado sobredispersão dos dados, embora tenham sido identificados problemas de ajuste à distribuição adotada e presença de valores extremos. No caso dos parâmetros de duração e número de inflexões não foram alcançados modelos satisfatórios, tendo sido observada uma sobredispersão problemática dos dados e, portanto, optou-se por descartar estes modelos.

Tabela V.4-7: *Coeficiente estimados das relações observadas pelos GLMM (modelos lineares generalizados mistos) entre os parâmetros acústicos dos assovios de delfinídeos na Bacia de Santos e parâmetros ambientais (abióticos e sociais).*

Parâmetros acústicos dos assovios	K	(intercepto)	Temperatura da água	Profundidade	Tamanho de grupo	Proporção de filhotes
Frequência média	4	12,079	ausente	**-0,909**	ausente	ausente
Frequência mínima	5	8,788	**-0,347**	ausente	**0,565**	ausente
Frequência máxima	6	15,818	**0,519**	**-1,850**	**-1,788**	ausente
Frequência delta	6	6,489	**0,870**	**-1,614**	**-2,297**	ausente
Duração	5	0,350	**0,087**	ausente	**0,256**	ausente
Número de inflexões	6	0,486	**0,197**	**0,145**	**0,332**	**0,121**

De acordo com os melhores modelos, com tamanhos de grupos maiores os delfinídeos tendem a produzir assovios com frequência mínima maior, frequência máxima menor e, consequentemente, frequência delta menor (**Figura V.4-23**). Com o aumento da profundidade, os assovios apresentam frequências médias, máximas e delta menores, enquanto com o aumento da temperatura, a frequência mínima tende a ser menor, e as frequência máximas e delta, maiores.

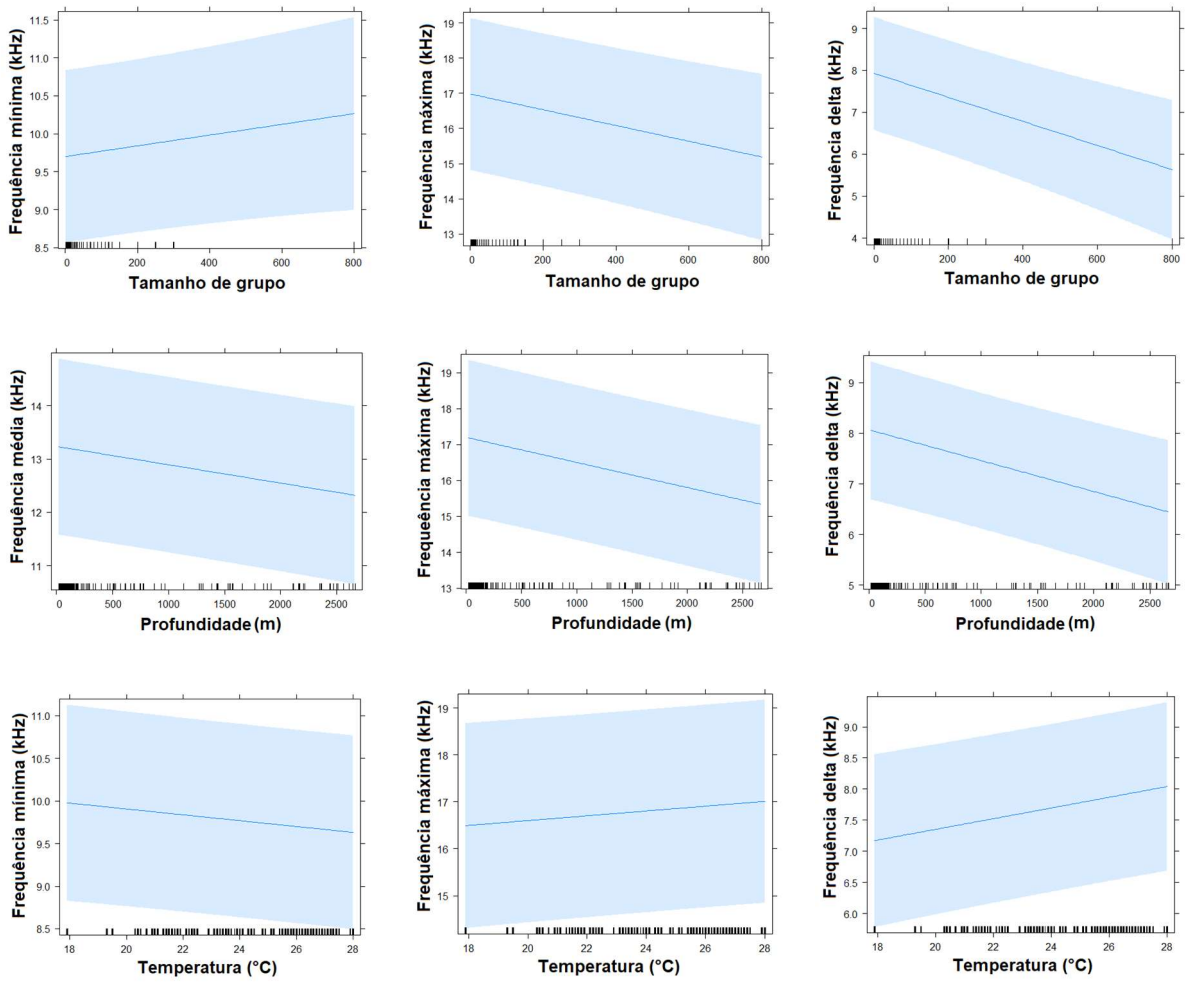


Figura V.4-23: *Parâmetros de frequência dos assovios de delfinídeos preditos pelos melhores GLMM (modelos lineares generalizados mistos) ajustados a dados do PMC-BS, na Bacia de Santos, em relação ao tamanho de grupo, profundidade e temperatura superficial da água.*

V.4.2.2.6 Discussão - Ecologia acústica de delfinídeos

Os resultados foram obtidos em caráter exploratório e, portanto, devem ser interpretados de forma cautelosa. Certamente muitas outras variáveis ambientais devem ter relações importantes com os parâmetros acústicos analisados e, futuramente, devem ser incorporados nas análises, em especial, aquelas relacionadas com os níveis de ruido na paisagem acústica subaquática.

Dentre as variáveis ambientais analisadas, a temperatura e profundidade podem estar relacionadas sobretudo com as características de propagação do som nos diferentes ambientes. A propagação do som pode ser influenciada por variações espaciais e temporais no comportamento dos golfinhos (LEENEY et al., 2011) e por condições ambientais, como temperatura e salinidade, que afetam a velocidade e a absorção do som na água (RICHARDSON et al., 1995). Compreender de que forma essas variáveis ambientais interferem nos sinais acústicos dos delfinídeos possibilita a estimativa de fatores de correção para a detecção das espécies e é um importante subsídio futuro para estimativas populacionais por meio da acústica.

Do ponto de vista comportamental, apenas o tamanho dos grupos teve relação com os parâmetros acústicos, mas a presença de filhotes precisa ser mais bem explorada, pois essa é uma variável que reconhecidamente interfere no comportamento acústico das espécies (SAYIGH et al., 2023). O tamanho dos grupos e seus comportamentos podem ser muito variáveis entre as espécies, além dos seus habitats que também possuem diferenças importantes. Portanto, sugere-se análises espécie-específicas para uma compreensão mais aprofundada da ecologia acústica das espécies, o que demanda um conjunto de dados robusto para cada espécie que se pretende analisar.

Ainda que tenha sido uma análise preliminar de caráter exploratório, os resultados demonstram potencial para o desenvolvimento futuro dessa linha analítica, possibilitando uma melhor exploração dos dados bioacústicos do PMC-BS, com potencial para complementar possíveis análises de impacto das atividades antropogênicas na Bacia de Santos.

V.4.3 Atividades sísmicas e cetáceos

Os sons de canhões de ar comprimido (*airguns*) usados em pesquisas sísmicas marinhas são de grande intensidade, pulsados e se propagam a grandes distâncias (GREENE; RICHARDSON, 1988; HERMANNSEN et al., 2015). Estudos diversos descrevem respostas comportamentais dos cetáceos aos ruídos de *airguns* utilizados na atividade de pesquisa sísmica, com observações de reações de curto prazo em diferentes parâmetros comportamentais dos cetáceos, como a velocidade e direção da natação, taxa respiratória e taxa de vocalização (PARENTE; ARAÚJO, 2012; CASTELLOTE; LLORENS, 2016).

Visando contribuir com o Objetivo Específico n° 9 do Projeto Executivo do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS: “Avaliar a distribuição e a frequência de uso espacial pelos cetáceos em função da presença de atividades de E&P (incluindo pesquisas sísmicas), tráfego de embarcações e pesca”, o presente capítulo **V.4.3** apresenta quatro itens com abordagens distintas e complementares para tentar entender os efeitos potenciais de atividades de prospecção sísmica em cetáceos. O esforço de pesquisa aqui apresentado investiga os possíveis efeitos comportamentais, mas também tenta identificar os possíveis efeitos nas populações de cetáceos provocados pela pesquisa sísmica. Isso é feito por meio da amostragem espaço-temporal de cetáceos, medindo parâmetros como: ocorrência, distribuição espacial, densidade e abundância relativa antes e durante a atividade sísmica, ou a diferentes faixas de distância da fonte de ruído. Estes efeitos em nível populacional são os menos estudados mundialmente, mas são os mais importantes, pois refletem a perda de habitats mesmo que temporária ou efeitos na dinâmica populacional de uma espécie (NRC, 2005).

Um ponto a destacar é que este item usou dados de campanhas de campo realizadas em três projetos ambientais da Bacia de Santos – PMC-BS, Projeto de Monitoramento da Paisagem Acústica Submarina na Bacia de Santos (PMPAS-BS) e Projeto de Monitoramento da Biota Marinha (PMBM), realizados

como condicionantes do órgão ambiental para as atividades de exploração e produção da PETROBRAS na Bacia de Santos. Na análise dos dados, procurou-se integrar os resultados de diferentes abordagens metodológicas para a identificação e interpretação de padrões.

Foram apresentadas, neste item, quatro abordagens distintas para estudar os possíveis efeitos de sísmicas sobre cetáceos. O último Relatório Anual (PETROBRAS, 2023) trouxe uma análise com dados pretéritos do PMC-BS, coletados desde 2015, que coincidem espacial e temporalmente com etapas de diferentes projetos de pesquisa sísmica realizados na Bacia de Santos nos últimos anos. Nesta análise preliminar foram considerados três projetos de sísmica e 10 campanhas do PMC-BS. No Relatório do Cluster BS de 2023, a análise foi atualizada com um total de seis projetos de sísmica e 13 campanhas do PMC-BS. Enfim, esta análise retroativa foi atualizada no presente Relatório Anual (Item **V.4.3.1**) com novos dados, pela inclusão de dois novos projetos de sísmica que coincidiram com 17 campanhas do PMC-BS. Um destes projetos (Campo de Itapu) teve um desenho amostral dedicado para estudar a região de entorno dos disparos sísmicos.

A segunda abordagem (Item **V.4.3.2**) foi adotada a partir do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, quando as Campanhas de Avistagem Aérea passaram a monitorar os cetáceos especificamente em áreas de atividades de pesquisa sísmica desenvolvidas pela PETROBRAS na Bacia de Santos, na área do Pré-sal onde estão concentradas diversas aquisições sísmicas, denominada como Cluster-BS. O desenho amostral visou coletar dados com sobrevoos em um curto período antes do início da sísmica e em outro curto período já durante a aquisição, mas ainda nos primeiros dias após o início dos disparos. Nesta abordagem, o controle amostral foi temporal e o desenho amostral cobriu a região com maior exposição aos ruídos da sísmica (ver **Volume II - Anexo III-5**).

A terceira abordagem (Item **V.4.3.3**) foi realizada a partir de dados de veículos autônomos subaquáticos (*glider*) do PMPAS-BS, utilizados em campanhas dedicadas para verificar o decaimento sonoro durante as operações de prospecção sísmica desenvolvidas pela PETROBRAS na Bacia de Santos, no Cluster BS. Em um primeiro momento, foi fornecido pelo PMPAS-BS os dados

provenientes de quatro campanhas dedicadas no Campo de Tupi, incluindo os dados de mensuração dos níveis de ruído subaquático em relação à distância dos canhões de ar de sísmica e a detecção de sinais acústicos de cetáceos presentes nas mesmas gravações. Uma modelagem preliminar da presença de assovios (delfinídeos) e chamados (misticetos) foi realizada para verificar relações com a operação sísmica e identificar possiblidades de aprofundamento de análises futuras para os dados de *glider*.

Enfim, a quarta abordagem utilizou dados visuais do Projeto de Monitoramento da Biota Marinha (PMBM) da PETROBRAS a bordo de navios de sísmica que atuaram na Bacia de Santos entre 2018 e 2023, nas áreas de aquisição de Búzios, Sapinhoá e Itapu. Buscou-se caracterizar qualitativamente a comunidade de cetáceos observada no entorno de projetos de sísmica, visando identificar espécies que são detectadas com mais frequência nas proximidades da embarcação fonte.

V.4.3.1 Análise de dados pretéritos do PMC-BS

Nesta análise, buscou-se investigar uma possível resposta espacial na frequência de encontros com cetáceos durante atividades de pesquisa sísmica, considerando o status operacional das fontes sísmicas. Como plataforma amostral de oportunidade, foram usados dados do PMC-BS coletados entre 2015-2021 a partir de Campanhas de Avistagem Aérea e Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP. Apesar do desenho amostral neste primeiro período (Ciclo de Curto Prazo do PMC-BS) não ter sido direcionado para as atividades de pesquisa sísmica, o uso dos dados foi possível pois a maior parte das campanhas amostrais do PMC-BS utilizou malha sistemática de transecções, realizadas de forma periódica (semestralmente) e padronizada. Além disso, nos últimos anos, a partir do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, foi possível utilizar nas análises também os resultados de duas campanhas de monitoramento do PMC-BS, realizadas com foco nas atividades de pesquisa sísmica dos Campos de Iracema e Itapu, tendo, por isso, um desenho amostral voltado especificamente para o monitoramento dessas atividades de pesquisa

sísmica.

Nesta análise retroativa, buscou-se aplicar uma abordagem analítica usando os projetos de pesquisa sísmicas com dados disponíveis e sobreposição espaço-temporal com campanhas do PMC-BS. Após uma análise preliminar dos dados apresentada no 7º Relatório Anual (último antes deste presente) e uma rodada de análises posterior com todo o banco de dados disponível apresentada no Relatório Anual do Cluster BS, neste item expandimos as análises retroativas considerando uma amostragem de dados aumentado pela adição de dois novos projetos de sísmica cujos dados se tornaram disponíveis (Campo Itapu e Campo Carcará/Bacalhau).

Atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos entre 2015-2023

Os dados da maioria das atividades de pesquisa sísmica realizadas na Bacia de Santos desde 2015 foram disponibilizados pelas empresas operadoras e de aquisição de dados responsáveis no SEI, por solicitação do IBAMA, para que posteriormente a PETROBRAS pudesse ter acesso para a realização desta análise. Posteriormente, foram fornecidos os dados de um projeto finalizado pela Petrobras neste ínterim no Campo Itapu e foi enviada a planilha de dados corrigida de um projeto da EQUINOR no Campo Bacalhau. Foi realizada nova solicitação à "Coordenação de Licenciamento Ambiental de Exploração de Petróleo e Gás do IBAMA" (COEXP/IBAMA) em setembro de 2023 para envio de novos dados de atividades de pesquisa sísmica de terceiros para continuidade das análises, aguardando-se retorno do IBAMA.

No período considerado, entre 2015 e 2023, foram compiladas 19 etapas (períodos de aquisição sísmica) de 16 projetos de pesquisa sísmica realizados na Bacia de Santos (**Tabela V.4-8**; **Figura V.4.-24**). A duração destas etapas variou entre 23 e 925 dias (média = 196; Mediana = 124). Esta duração abrange o período que o status da fonte sísmica estava ligada (“ON”), mas também fase de testes, aumento gradual e dias sem operação da fonte sísmica por diversos motivos, como abastecimento, mau tempo e outras paradas operacionais.

Os dados básicos dos projetos de pesquisa sísmica solicitados em forma de planilha às respectivas empresas executoras: data, hora, posição geográfica do

navio e status de operação da fonte sísmica (canhões de ar). Alguns projetos de pesquisa sísmica não puderam ser incluídos na análise, devido à ausência dessas informações, especialmente sobre o status de operação da fonte sísmica, como foi o caso do projeto da empresa Polarcus (Pesquisa Sísmica Marítima 3D - BM-S-50 - Bacia de Santos, primeiro projeto da série temporal) e o projeto da empresa Spectrum (Pesquisa Sísmica Marítima 2D, não-exclusiva, nas BC e BS - Fase II). Essas empresas enviaram ofícios para o órgão ambiental informando sobre a impossibilidade dos dados solicitados.

Critérios adicionais para inclusão de um projeto sísmico no conjunto amostral das análises foram utilizados, de forma que houve uma filtragem adicional para formar o conjunto final de dados que foi analisado estatisticamente. Todos esses critérios reduzem o conjunto de os dados analisados, mas são de suma importância para evitar vieses e distorções nos resultados das análises, e serão detalhados no item seguinte. Dos 19 projetos/etapas de projetos de pesquisa sísmica que foram realizados na Bacia de Santos durante o período analisado, 16 tinham dados sobre status e posição da fonte, 12 apresentaram sobreposição espaço-temporal com as campanhas do PMC-BS e, ao final da compilação aqui reportada, utilizou para análises 8 desses projetos com dados consistentes e com sobreposição espaço-temporal com as campanhas do PMC-BS.

Figura V.4-24: *Navio de pesquisa sísmica Artemis Angler realizando disparos sísmicos no Campo de Libra, fotografado durante amostragem do PMC-BS em 07/04/2018.*

Tabela V.4-8: *Resumo dos projetos de sísmica, e suas etapas, realizados na Bacia de Santos entre 2015 e 2023. Notação: AE = Campanha de Avistagem Embarcada e Monitoramento Acústico Passivo (MAP); AA = Campanha de Avistagem Aérea.*

Empresa	Projeto	PROCESSO (IBAMA)	Início – Final	Dados de status da fonte sísmica	Sobreposição temporal com campanhas do PMC-BS	Dias considerados na análise
POLARCUS	Pesquisa Sísmica Marítima 3D - BM-S-50 - BS	02001.001756/2015-86	15/09/16 – 17/03/17	Não	-	-
CGG	Pesquisa Sísmica Marítima 3D, não-exclusiva, na BS - Projeto Santos Fase VII B	02001.006832/2015-40	28/09/16 – 16/07/17	Sim	AE3, AA3, AA4	5
PETROBRAS	Atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 3D Nodes, no bloco de Libra, BS.	02001.005473/2015-11	01/10/17 – 07/11/18	Sim	AE7, AA5, AA6, AA7	15
PETROBRAS	Atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 4D Nodes, no campo de Lula, BS	02022.001105/2013-86	17/11/17 – 03/02/18*	Sim	AE6, AA5	3
SPECTRUM	Pesquisa Sísmica Marítima 2D, não-exclusiva, nas BC e BS - Fase II	02001.004077/2015-69	14/12/17 – 18/02/18	Não	-	-
CGG	Aquisição de Dados Sísmicos 3D, não-exclusivos, na BS, Projeto Santos Fase VIII	02001.006833/2015-94	08/02/18 – 05/06/18	Sim	AE6, AA6	0

Empresa	Projeto	PROCESSO (IBAMA)	Início – Final	Dados de status da fonte sísmica	Sobreposição temporal com campanhas do PMC-BS	Dias considerados na análise
PETROBRAS	Atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 3D Nodes, no campo de Búzios, na BS.	02001.001000/ 2015-37	23/10/18 – 26/10/19	Sim	AA8, AE8, AA9, AE9	13
SPECTRUM	Pesquisa Sísmica Marítima 3D na BS, na Área Prioritária (Área 2)	02001.004308/ 2018-87	25/04/19 – 31/08/19	Sim	AE8, AE9, AA9	0
CGG	Projeto Santos Fase VIII Extension	N/I	15/05/19 – 25/06/19	Sim	Não	-
CGG	Pesquisa Sísmica Marítima 3D, Não-Exclusiva, na BS – Programa Santos Fase IX	02001.004539/ 2018-91	27/06/19 – 07/01/22	Sim	AE9, AE11, AA9, AA11	3
SHELL	Pesquisa Sísmica Marítima 3D Nodes nos Blocos BM-S-54 e Sul de Gato do Mato, na BS	02001.019140/ 2018-12	20/10/19 – 14/01/20	Sim	Não	-
SPECTRUM	Pesquisa Sísmica Marítima 3D na BS, na Área Prioritária (Área 2)	02001.004308/ 2018-87	05/12/19 – 23/01/20	Sim	Não	-
EQUINOR	Pesquisa Sísmica Marítima 3D Nodes nos blocos BM-S-8 e Norte de Carcará, na BS	02001.029334/ 2018-18	22/01/21 – 22/05/21	Sim	AE12, AA12	2
SPECTRUM	Pesquisa Sísmica Marítima 3D na BS, na Área Prioritária (Área 2)	02001.004308/ 2018-87	03/05/21 – 11/09/21	Sim	AA12	0

Empresa	Projeto	PROCESSO (IBAMA)	Início – Final	Dados de status da fonte sísmica	Sobreposição temporal com campanhas do PMC-BS	Dias considerados na análise
PETROBRAS	Atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 4D Nodes no Campo Sapinhoá, na BS	02001.004308/ 2018-87	16/06/21 – 16/10/21	Sim	Não	-
SPECTRUM	Pesquisa Sísmica Marítima 3D na BS, na Área Prioritária (Área 2)	02001.004308/ 2018-87	26/10/21 – 18/11/21	Sim	Não	-
PETROBRAS	Atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 3D Nodes nos Campos de Tupi e Iracema, na BS	02001.006666/ 2021-20	19/12/21 – 21/03/22	Sim	AA13	3
PETROBRAS	Atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 3D Nodes no Campo de Itapu	02001.012428/ 2019-39	23/10/22 – 19/01/23	Sim	AA14	3

* O projeto da PETROBRAS no Campo de Lula ainda teve uma etapa prévia ao início do PMC-BS, entre 10/05/2015 e 11/07/2015.

V.4.3.1.1 Material e Métodos

Processamento e filtragem dos dados do PMC-BS

O primeiro passo do processamento dos dados foi a seleção dos dados de campanhas de amostragem do PMC-BS com sobreposição temporal com as atividades de pesquisa sísmica. Nessa seleção, só foram considerados os dias em que houve disparos dos canhões de ar do arranjo de sísmica em potência máxima (Status “ON”), excluindo-se os dias em que o navio sísmico estava na região sem disparar, em aumento gradual, ou mesmo, disparando em fase de testes.

Após a seleção desses dias, foram criados *buffers* cobrindo um raio de 100 km das posições da fonte sísmica operando (Status ON), que foi dividido em cinco classes de distância: 0 – 20 km; 20 – 40 km; 40 – 60 km; 60 – 80 km; e 80 – 100 km. A camada dos *buffers* serviu como base para espacializar os seguintes dados do PMC-BS: transecções percorridas pelo navio ou aeronave em esforço dentro dos *buffers* (obtida pelo *track* do GPS em cada campanha) e posições das detecções de cetáceos realizadas. Os segmentos das transecções em cada classe (*buffer*) de distâncias foram recortados em unidades amostrais, cuja milhagem percorrida no segmento foi usada para padronização do esforço.

A partir da espacialização dos dados, foram adotados critérios para admitir ou eliminar amostras que poderiam ocasionar algum viés ou distorção nos resultados da análise.

Nas Campanhas de Telemetria houve baixa sobreposição espacial com os projetos de pesquisa sísmica, frequentemente cobrindo somente o *buffer* de maior distância da fonte sísmica (**Figura V.4-25**). Dada a natureza não-sistemática das rotas percorridas em Campanhas de Telemetria e, consequentemente, a baixa sobreposição espacial com os *buffers*, este tipo de campanha foi excluída na análise. De forma análoga, em alguns projetos, a fonte sísmica estava fora da área de amostragem do PMC-BS e, portanto, estes casos também foram excluídos da análise (**Figura V.4-26**).

A situação amostral desejável é aquela em que há uma transecção de amostragem do PMC-BS cruzando o gradiente de distâncias da fonte sísmica,

situação desejável essa que foi observada frequentemente nas Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP (**Figura V.4-27**) e nas Campanhas de Avistagem Aérea (**Figura V.4-28**). Deste modo, só foram admitidos na análise dias em que as rotas cruzaram um gradiente de pelo menos três buffers diferentes de distância da fonte sísmica. As Campanhas de Avistagem Aérea do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, com amostragens específicas para as atividades de pesquisa sísmica, foram as que apresentaram a melhor cobertura espacial dos *buffers*, pois o desenho amostral das 13ª e 14ª Campanhas de Avistagem Aérea foi distribuído nos arredores dessas atividades (**Figura V.4-29**).

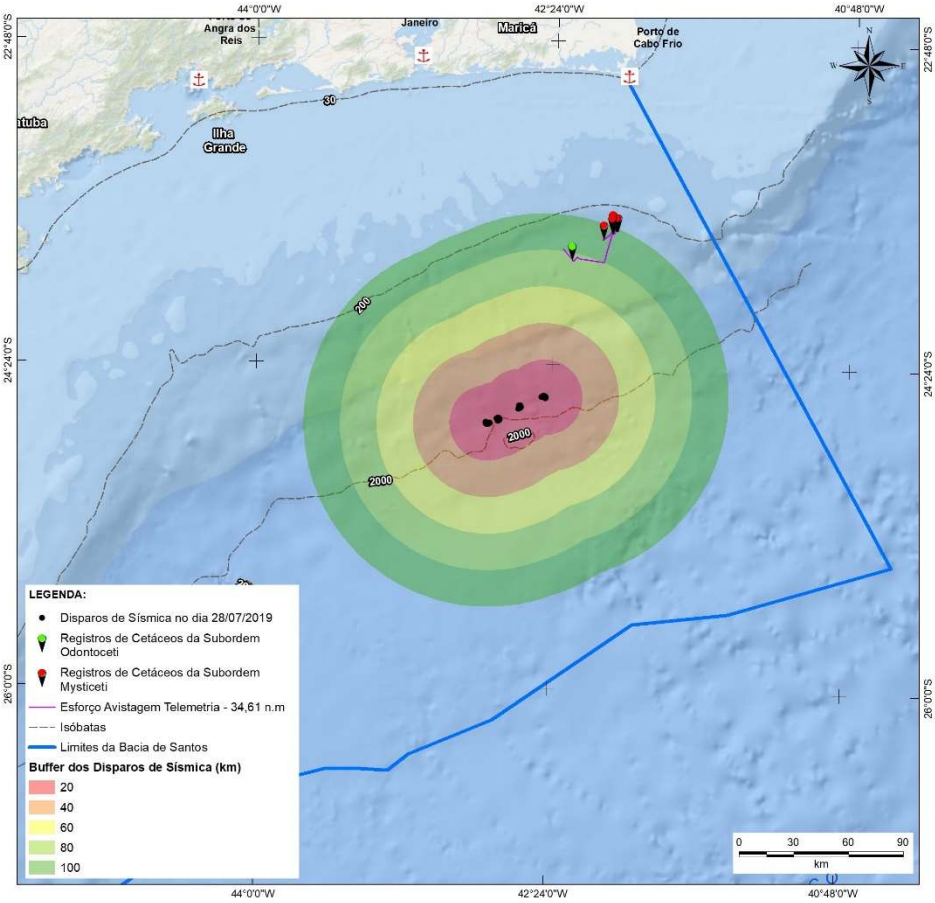


Figura V.4-25: *Exemplo de amostragem durante uma Campanha de Telemetria do PMC-BS que foi excluída da análise. Notar a sobreposição da rota amostrada somente com os dois buffers mais distantes da fonte sísmica.*

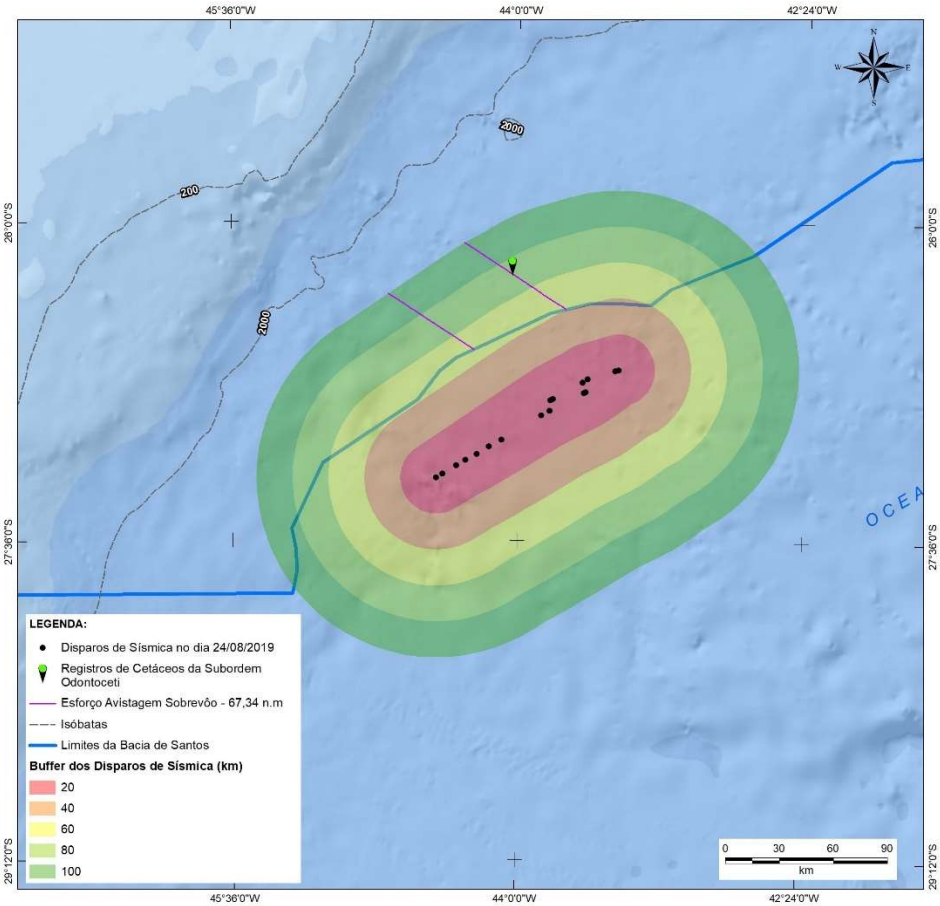


Figura V.4-26: *Exemplo de amostragem durante uma Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS que foi excluída da análise. Notar a posição do navio sísmico em Status ON fora da área de estudo do PMC-BS.*

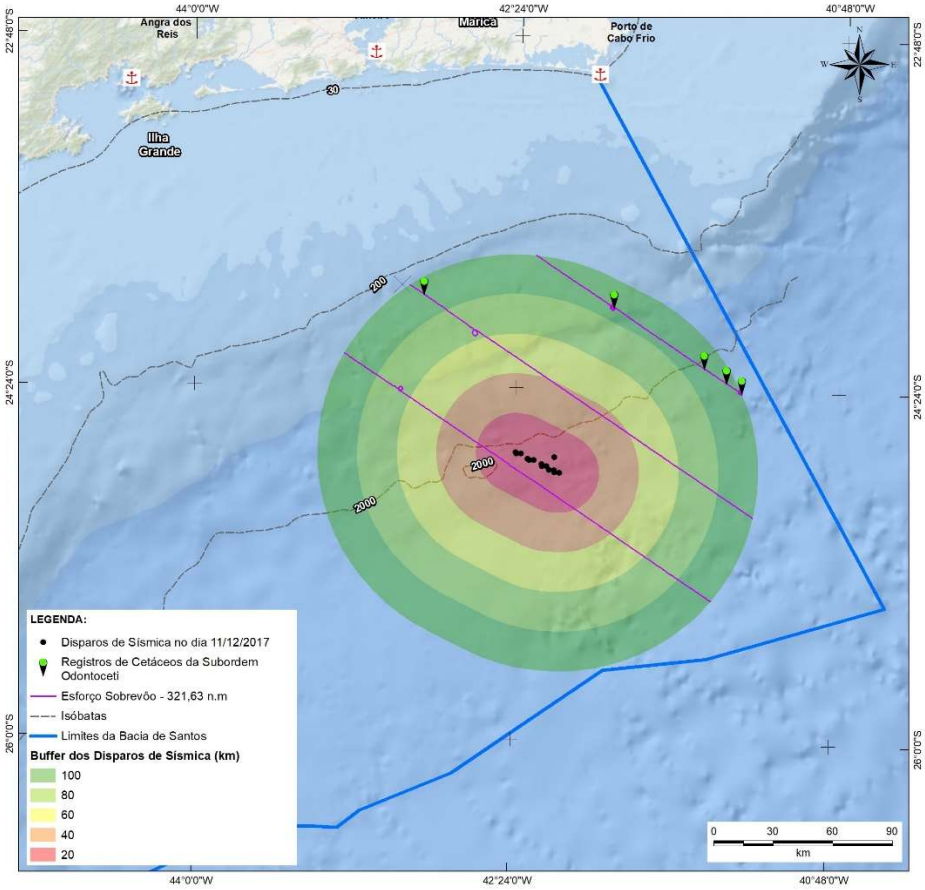


Figura V.4-27: *Exemplo de amostragem durante uma Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS que foi utilizada para a modelagem estatística.*

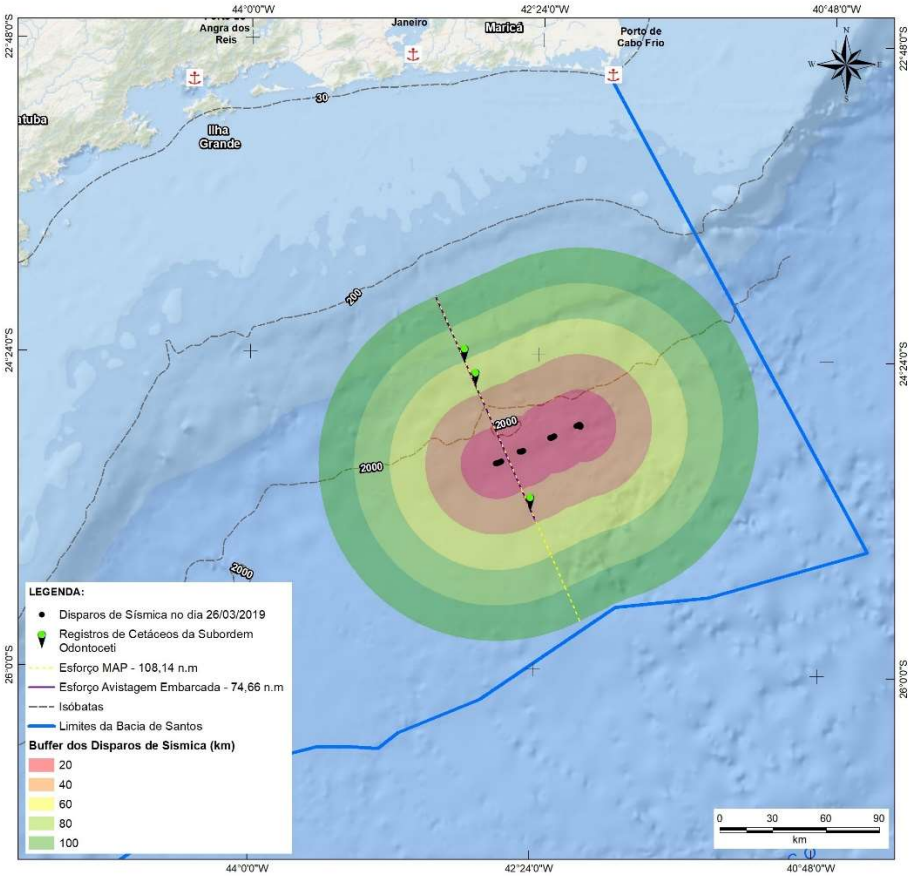


Figura V.4-28: *Exemplo de amostragem durante uma Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS que foi utilizada para a modelagem estatística.*

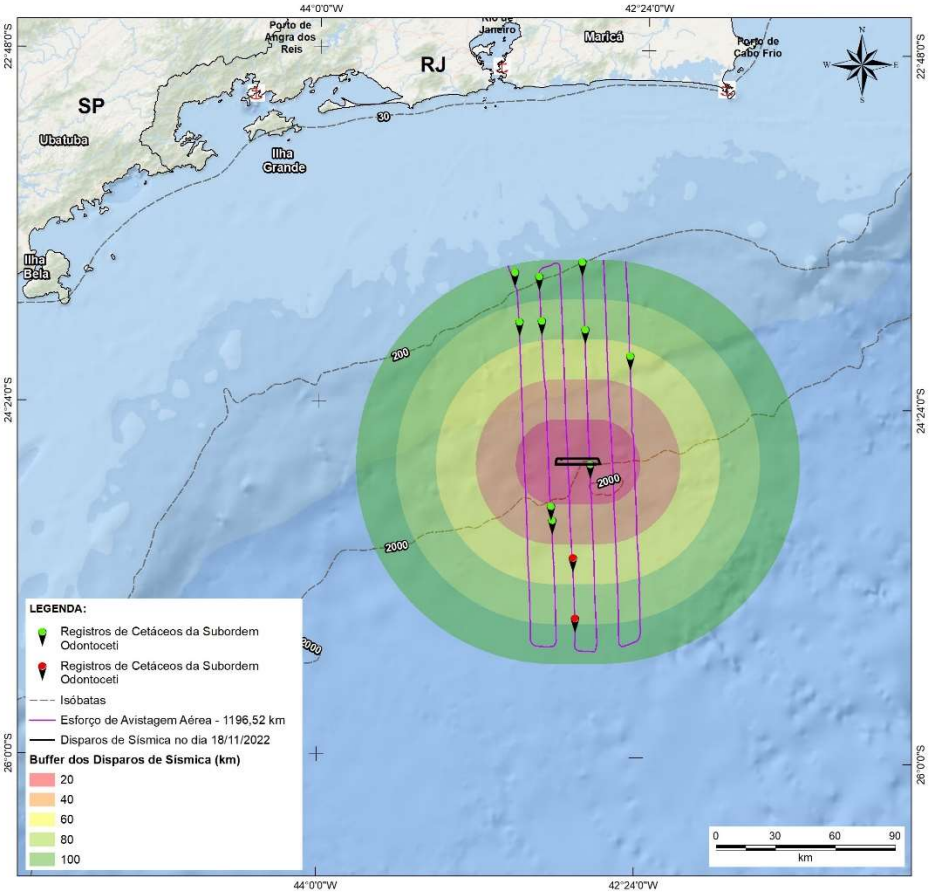


Figura V.4-29: *Exemplo de amostragem durante Campanha 14 de Avistagem Aérea do PMC-BS com desenho amostral cobrindo os arredores do projeto de sísmica no Campo Itapu, na Bacia de Santos, que foi usada na modelagem estatística.*

Análise dos dados

A análise dos dados foi realizada através de modelos generalizados lineares mistos (GLMM), que podem considerar a correlação entre observações ou blocos amostrais e estruturas de dados aninhadas (ZUUR et al., 2009). A distribuição dos erros selecionada foi a distribuição de *Poisson*, que se aplica para contagens (números naturais na variável resposta), não assume valores negativos e tem a média igual à variância. Estes modelos consideram diferentes efeitos fixos e aleatórios em variáveis resposta. Os efeitos fixos são aqueles cuja magnitude e direção (positiva ou negativa) do efeito se deseja estimar. Assim, variáveis respostas variam de forma linear em função de uma ou mais variáveis

explanatórias (fixas). Enquanto os efeitos aleatórios são ruídos/variação que se deseja excluir, como a autocorrelação das amostragens em um mesmo dia ou outro bloco amostral (p.ex., campanha). Os modelos foram construídos usando o pacote 'lme4' (BATES et al., 2015) e todas as análises e gráficos foram elaborados usando o programa R (R CORE TEAM, 2023).

Foram construídos dois conjuntos de modelos, um com a variável resposta calculada pelo número de detecções de misticetos e outro conjunto com variável resposta sendo o número de detecções de odontocetos, ambos os casos corrigidos pelo esforço amostral. O esforço foi inserido como um termo *offset* no modelo, após a constatação preliminar de que o modelo com termo *offset* se ajustou melhor aos dados do que um modelo considerando o esforço como uma das variáveis explanatórias. Assim, o número de detecções de cetáceos observados em cada segmento do transecto foi corrigido pelo esforço em milhas náuticas navegadas naquele segmento de transecto, funcionando como uma taxa de encontro de cetáceos.

As variáveis explanatórias (fixas) consideradas foram: (1) *distância da fonte sísmica (buffer)*; (2) *tipo de campanha amostral*, se embarcada visual, embarcada monitoramento acústico passivo (MAP) ou sobrevoo visual; (3) *projeto da sísmica* (ver **Tabela V.4-8** e **V.4-9**); (4) *estação do ano*[7], se quente (dezembro a maio) ou se fria (junho a novembro).

Como variáveis aleatórias dos modelos, em razão das unidades amostrais estarem em blocos (dia ou campanha), testou-se modelos considerando a campanha ou o dia de coleta como efeitos aleatórios. Modelos com uma estrutura aninhada considerando tanto os efeitos aleatórios da campanha quanto dos dias de amostragem não foram testados neste momento, pois os GLMM são modelos que demandam um conjunto robusto de dados para boas estimativas. Comparou-se modelos simples com efeitos aleatórios no dia ou na campanha e, baseando-se no melhor ajuste dos modelos aos dados, optou-se então por modelos com efeitos aleatórios no dia.

[7] Aqui a estação do ano baseou-se nos padrões de temperatura da água, mas também na reconhecida presença dos misticetos migratórios no inverno e maior parte da primavera.

A estratégia de construção dos modelos foi partir do modelo mais simples (nulo) e ir adicionando as variáveis exploratórias uma a uma, preconizando a simplicidade dos modelos. O melhor modelo foi escolhido com base no menor valor do Critério de Informação de Akaike (AIC) (BURNHAM; ANDERSON, 2002). O AIC considera o bom ajuste do modelo aos dados e penaliza pelo número de parâmetros no modelo (princípio da parcimônia). A diferença no AIC do melhor modelo (Delta AIC = 0) para os outros modelos, que constitui o Delta AIC, determina quais modelos são mais plausíveis. Um Delta AIC de até dois indica os modelos que devem ser considerados como os melhores ou mais plausíveis. O peso AIC pode ser interpretado, *grosso modo*, como uma probabilidade de aquele ser o melhor modelo dentre o conjunto de modelos avaliados.

A interpretação dos modelos foi realizada pela interpretação dos parâmetros (beta) estimados pelos modelos, que representam a inclinação das retas de regressão ou contraste entre níveis das variáveis categóricas (parametrização tipo ANOVA). Através dos GLMMs é possível testar se a inclinação das retas de regressão dos modelos é significativamente diferente de zero, indicando um efeito significativo da variável. Para melhor compreensão e visualização, apresentou-se os gráficos de valores preditos da variável resposta em função das variáveis explanatórias, usando o pacote ‘effects’ (FOX; HONG, 2009).

A validação dos modelos foi realizada com o auxílio do pacote ‘Dharma’ do R (HARTIG, 2022). Para verificar o bom ajuste do modelo aos dados foi avaliado o gráfico de Quantil-Quantil (*QQ-plot*) e realizados testes disponíveis no pacote Dharma para avaliar a presença de valores extremos (o*utliers*) e sobredispersão (excesso de variação não prevista pela distribuição). A plotagem dos gráficos dos resíduos do modelo *versus* valores preditos também foi realizada para os melhores modelos usando os gráficos diagnósticos presentes no pacote ‘Dharma’, incluindo ferramentas de simulação de resíduos.

V.4.3.1.2 Resultados

Oito projetos de pesquisa sísmica foram utilizados na análise, sobrepondo 48 dias de amostragem em 17 campanhas do PMC-BS (sete Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP e 10 Campanhas de Avistagem Aérea), quando foram percorridas um total de 7.871,8 milhas náuticas em esforço dentro dos *buffers* de análise, de até 100 km de distância da fonte sísmica (**Tabela 3.2**). Os dois projetos que contribuíram com mais dados para as análises foram da PETROBRAS, nos Campos de Libra e de Búzios, com 1.812,6 e 1.794,2 milhas náuticas de esforço do PMC-BS no entorno, respectivamente. Os esforços nos Campos de Iracema e Itapu foram de apenas três dias, mas contribuíram bastante com o esforço em milhas percorridas ao redor dos disparos sísmicos, pois o desenho amostral das avistagens aéreas do PMC-BS que contemplaram esses projetos foi focado no entorno dos campos durante os projetos de aquisição sísmica.

Tabela V.4-9: *Resumo das detecções de cetáceos e esforço amostral do PMC-BS coincidentes com status "on" das fontes de atividades de pesquisa sísmica*

Abreviação Projeto	Campanha PMC-BS	Dias	Esforço nos *buffers* de análise (mn)	Detecções Misticetos	Detecções Odontocetos
CGG-VIIB	3	5	788,8	8	9
LIBRA	4	15	1.812,6	63	36
LULA	2	3	493,5	3	9
BÚZIOS	4	13	1.794,2	21	58
CGG-IX	1	3	412,1	20	14
IRACEMA	1	3	1.183,3	1	14
CARCARÁ	1	1	85,0	0	8
ITAPU	1	3	1.302,3	4	13

Total	**17**	**48**	**7.871,8**	**120**	**161**

O esforço amostral do PMC-BS foi empregado em todas as classes de distância da fonte sísmica em status “ON” (plena potência) (**Figura V.4-30**). Houve menor esforço nos dois buffers mais próximos da fonte sísmica, mas estes polígonos têm área menor recebendo proporcionalmente menor esforço.

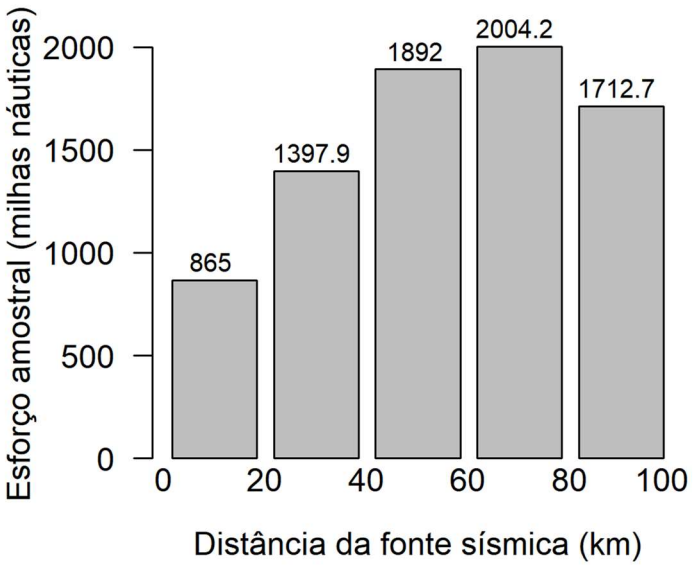


Figura V.4-30: *Esforço amostral total (em milhas náuticas percorridas) durante campanhas do PMC-BS nos buffers de distância da fonte sísmica (em quilômetros).*

Resultados - Modelagem para misticetos

As taxas de encontro de misticetos por diferentes tipos de amostragem e nas diferentes classes de distância da fonte sísmica puderam ser descritos para a amostra (**Figura V.4-31**). Para a modelagem de misticetos foram excluídos *a priori* os dados de MAP, pois o ruído da embarcação de pesquisa ocasiona mascaramento dos sons de cetáceos nas frequências mais baixas, que são justamente os sons mais produzidos pelos misticetos. A única exceção é a baleia-jubarte, cujos cantos podem atingir frequências mais altas e assim serem detectados pelo MAP. Entretanto, as baleias são organismos grandes e com comportamento fácil de ser detectado visualmente por diferentes plataformas, de

forma que é possibilitada a exclusão do MAP na modelagem.

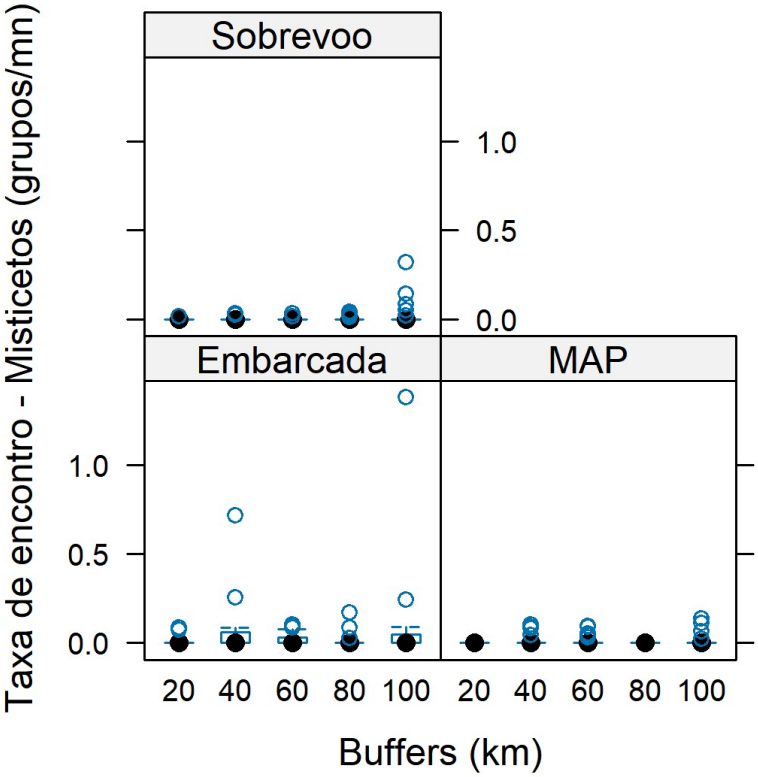


Figura V.4-31: *Taxa de encontro (grupos por milha náutica percorrida) de misticetos por diferentes métodos durante campanhas do PMC-BS nos buffers de distância da fonte sísmica.*

Foram construídos 12 modelos para as contagens de detecções de misticetos ao longo das linhas de transecção (**Tabela V.4-10**). Os dois melhores modelos levaram em consideração a Estação do Ano e a Distância da fonte sísmica (Buffer). O Habitat foi considerado em um dos melhores modelos. O melhor modelo (Delta AIC = 0) prevê maiores taxas de avistagem de misticetos em regiões mais afastadas da fonte sísmica (**Figura V.4-32**) e nas estações mais frias do ano (**Figura V.4-33**). Os dois parâmetros estimados pelo modelo foram significativos para o Buffer ($Beta_{Buffer}$ = 0,02; EP = 0,004; z = 4,50; p < 0,001) e estação do ano ($Beta_{Estação\ quente}$ = -3,08; SE = 0,48; z = -6,41; p < 0,001). O segundo melhor modelo, que também foi considerado plausível (Delta AIC = 1,75), prevê ainda uma maior taxa de avistagem de misticetos em regiões do

talude continental. O beta estimado por este modelo para o Habitat, entretanto, não foi significativo ($Beta_{Habitat\ talude}$ = 0,18; SE = 0,31; z = 0,58; p = 0,561). Apesar do terceiro modelo mais bem ranqueado do conjunto não poder ser considerado plausível, pois seu valor de Delta AIC foi maior que dois (Delta AIC = 2,1), este modelo apresentou um peso AIC maior que zero, indicando algum grau de suporte empírico e, portanto, sugere algum efeito do tipo de amostragem utilizado nas taxas de encontro de misticetos. As análises gráficas de desvios residuais e testes estatísticos diagnósticos mostraram um bom ajuste do modelo aos dados, ausência de sobredispersão, valores extremos e inflação de zeros.

Tabela V.4-10: *Modelos Generalizados Lineares Mistos (GLMM) para a taxa de encontro de misticetos do PMC-BS nas áreas de entorno de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos. Modelos considerados plausíveis (Delta AIC menor que dois) foram marcados em negrito e grifados em azul.*

Modelo	K	AIC	Delta AIC	Peso AIC
Estação + Buffer	4	349,1	0,00	0,564
Estação + Buffer + Habitat	**5**	**350,8**	**1,75**	**0,235**
Estação + Buffer + Tipo	5	351,1	2,06	0,201
Estação	3	369,2	20,16	0,000
Estação + Habitat	4	369,6	20,49	0,000
Estação + Tipo	4	371,2	22,15	0,000
Estação + Projeto	10	377,7	28,64	0,000
Buffer	3	381,0	31,93	0,000
Tipo	3	396,3	47,18	0,000
Nulo	2	400,4	51,29	0,000
Habitat	3	401,2	52,11	0,000
Projeto	9	402,5	53,42	0,000

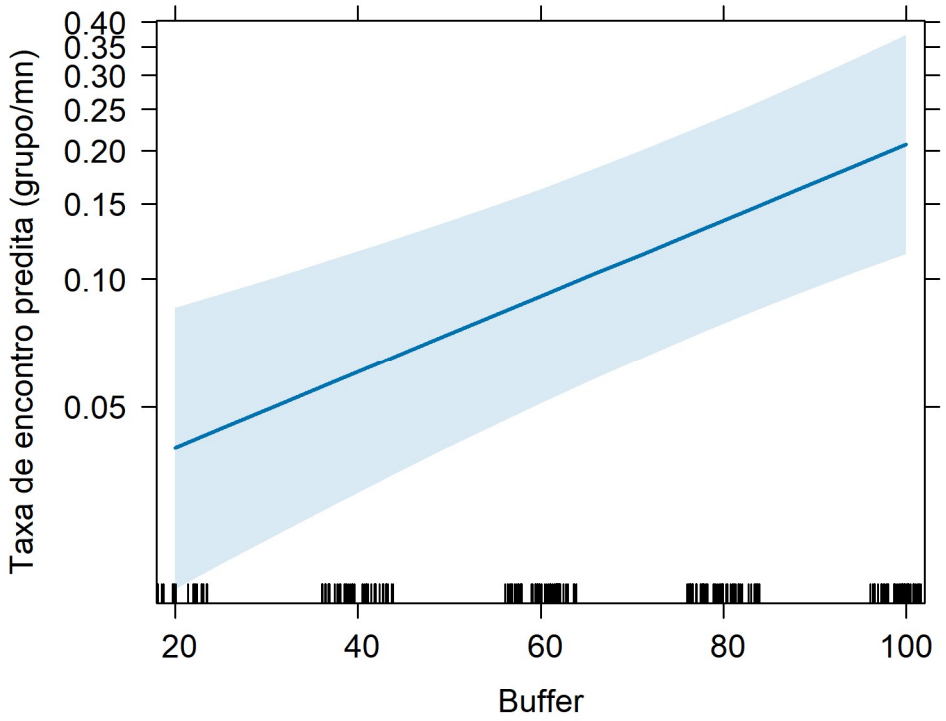


Figura V.4-32: *Taxas de encontro de misticetos durante campanhas do PMC-BS preditas pelo GLMM em função da distância de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos. Buffer medido em quilômetros de distância do navio sísmico.*

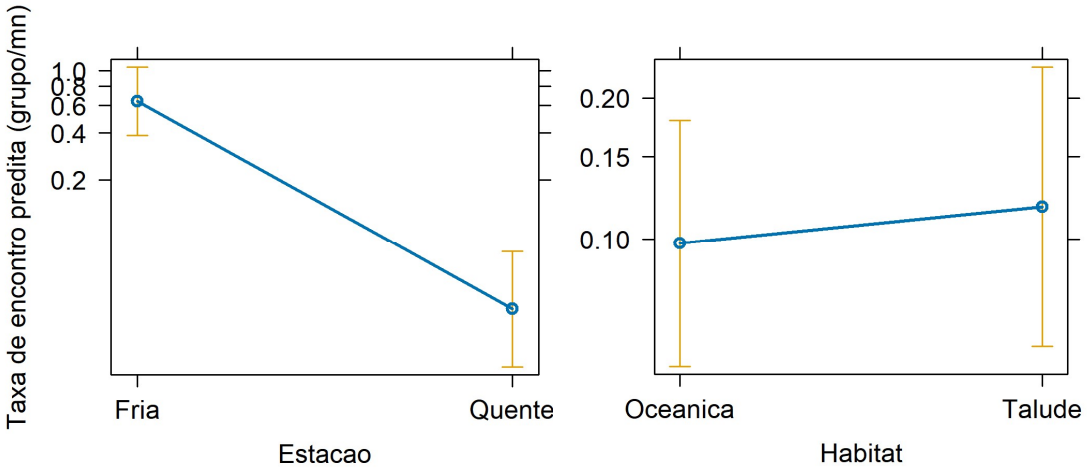


Figura V.4-33: *Taxas de encontro de misticetos durante campanhas do PMC-BS preditas pelo GLMM em função da estação do ano (esquerda) e habitats (direita) no entorno de atividades de pesquisa sísmicas na Bacia de Santos.*

Resultados - Modelagem para odontocetos

As taxas de encontro de odontocetos por diferentes tipos de amostragem e nas diferentes classes de distância da fonte sísmica foram descritas (**Figura V.4-34**). A diferença entre as metodologias foi mais evidente quando analisamos os dados para odontocetos, especialmente quando comparamos os dados visuais com os dados acústicos.

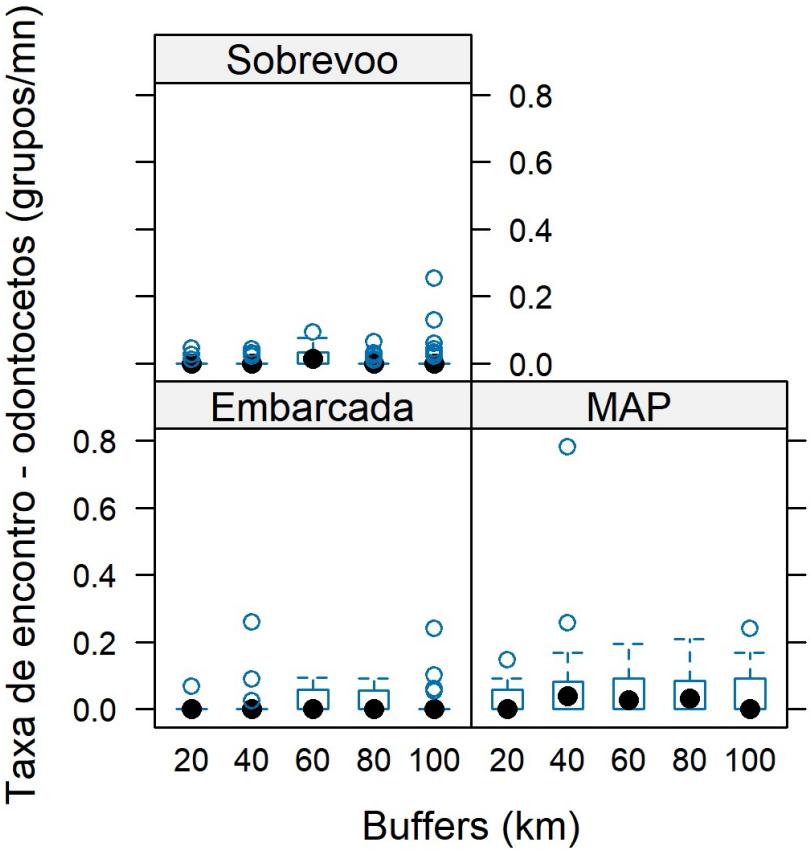


Figura V.4-34: *Taxa de encontro (grupos por milha náutica percorrida) de odontocetos por diferentes métodos durante campanhas do PMC-BS nos buffers de distância da fonte sísmica.*

Para a modelagem estatística, dentre outras opções, poderíamos utilizar os três tipos de amostragem do PMC-BS simultaneamente na modelagem, incluindo uma variável explanatória categórica representando diferenças entre os tipos de amostragem, por causa da diferença na forma e capacidade de detecção entre os as metodologias de amostragem. Outra opção seria separar

os tipos de amostragem em análises independentes, que foi o ponto de partida desta análise para odontocetos. Os modelos com tipos de amostragem separados apresentaram evidências de insuficiência de dados, como por exemplo, vários modelos foram considerados plausíveis e o modelo nulo apareceu entre estes melhores modelos, o que indica uma clara incerteza na seleção de modelos e, consequentemente, na escolha de variáveis de interesse. Assim, optou-se pela modelagem dos dados conjuntamente, com termos descrevendo efeitos fixos para os diferentes tipos de amostragens. Os modelos com três ou mais variáveis apresentaram falhas na estimação dos parâmetros ou estimativas com erros muito grandes e, portanto, optou-se pela construção de modelos com no máximo duas variáveis explanatórias para odontocetos.

Foram construídos 12 modelos para as contagens das detecções de odontocetos ao longo das linhas de transecção (**Tabela V.4-11**). Os três melhores modelos levaram em consideração o tipo de campanha, e preveem um maior número de grupos de odontocetos detectados acusticamente pelo monitoramento acústico passivo, seguido dos sobrevoos e avistagem embarcada (**Figura V.4-35**). Os parâmetros estimados pelo modelo foram significativos para o tipo de amostragem ($Beta_{MAP}$ = 0,92; EP = 0,22; z = 4,15; p < 0,001; e $Beta_{Sobrevoo}$ = -0,58; EP = 0,29; z = -2,05; p < 0,05).

Outras duas variáveis que apareceram nos modelos plausíveis foi a Estação do Ano e o Habitat (**Figura V.4-36**). Os odontocetos foram mais comuns nas estações quentes, mas com diferenças não significativas de acordo com o modelo ($Beta_{Estação\ quente}$ = 0,38; EP = 0,27; z = 1,41; p = 0,159) e mais comuns no talude continental, com diferenças significativas ($Beta_{Habita\ talude}$ = 0,37; EP = 0,19; z = 1,99; p < 0,05). Os testes e gráficos diagnósticos não indicaram nenhum problema com o modelo, como a presença de valores extremos, excesso de zeros e sobredispersão.

Tabela V.4-11: *Modelos Generalizados Lineares Mistos (GLMM) para a taxa de encontro de odontocetos do PMC-BS nas áreas de entorno de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos. Modelos considerados plausíveis (Delta AIC menor que dois) foram marcados em negrito e grifados em azul.*

Modelo	K	AICc	Delta AICc	Peso AICc
Tipo + Habitat	**5**	**578,9**	**0,00**	**0,534**
Tipo	**4**	**580,7**	**1,78**	**0,219**
Tipo + Estação	**5**	**580,8**	**1,91**	**0,205**
Tipo + Habitat	8	584,0	5,10	0,042
Projeto	9	611,2	32,28	0,000
Habitat	3	612,1	33,19	0,000
Nulo	2	612,8	33,90	0,000
Estação + Habitat	4	612,9	34,05	0,000
Estação	3	613,9	34,98	0,000
Buffer + Habitat	4	614,1	35,23	0,000
Buffer	3	614,7	35,83	0,000
Buffer + Estação	4	615,8	36,92	0,000

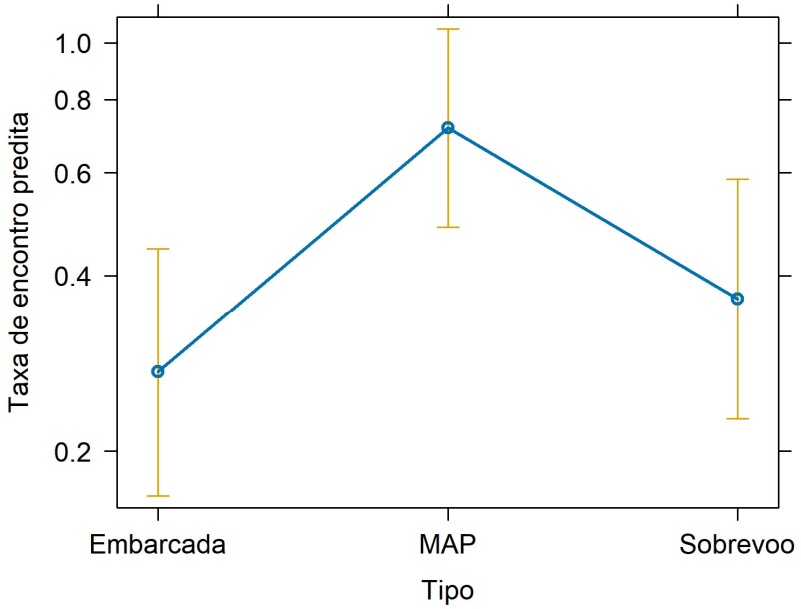


Figura V.4-35: *Taxas de encontro de odontocetos em função dos tipos de amostragem do PMC-BS preditas pelo melhor GLMM no entorno de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos de acordo com o tipo de amostragem.*

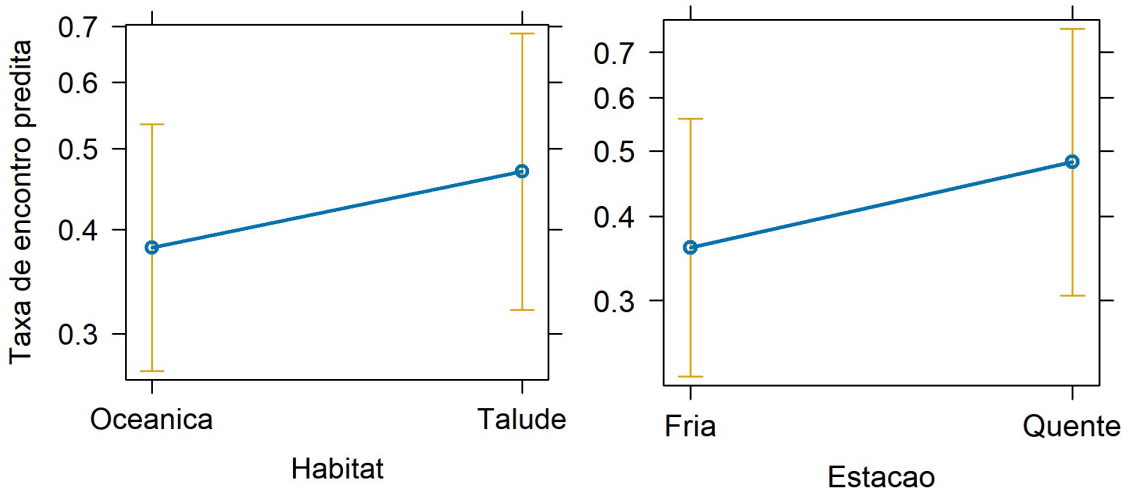


Figura V.4-36: *Taxas de encontro de odontocetosdo PMC-BS preditas pelos GLMMs em função do habitat (esquerda) e da estação do ano (direita) no entorno de atividades de pesquisa sísmica na Bacia de Santos.*

V.4.3.1.3 Discussão

Esta rodada de análise dos dados retroativos do PMC-BS contribuiu para confirmar os resultados apresentados anteriormente no 7º Relatório Anual do PMC-BS (PETROBRAS, 2023a) e no último relatório do Cluster BS. A inclusão de dois projetos de sísmica na análise e, consequentemente, a adição de um esforço amostral substancial no entorno de fontes sísmicas operando na Bacia de Santos, não alterou de maneira significativa os resultados apresentados anteriormente em caráter preliminar.

Os conjuntos de modelos para misticetos e odontocetos incorporaram os efeitos da sazonalidade e dos habitats sobre a taxa de encontro destes grupos. Consideradas estas fontes potenciais de variação na modelagem, pode-se avaliar de forma mais adequada como a fonte sísmica possivelmente afeta a presença e frequência de cetáceos em relação à distância da fonte sísmica.

Para misticetos, o efeito observado da sazonalidade é coerente com o padrão migratório da maior parte das espécies de baleias, como a baleia-jubarte, que usa os mares brasileiros em estações mais frias para reprodução (MARTINS et al., 2001; MORETE et al., 2008), assim como outros balaenopterídeos (PETROBRAS, 2021). Em contraste, para os odontocetos foram as estações

quentes que apresentaram as maiores taxas de encontro, o que é compatível com as maiores abundâncias estimadas para golfinhos do gênero *Stenella* no verão, quando as espécies deste gênero se aproveitam da maior influência da Corrente do Brasil e suas águas quentes sobre a Bacia de Santos (PETROBRAS, 2021; 2023).

A influência do habitat também apareceu nos melhores modelos, prevendo maior frequência de detecções de misticetos e odontocetos no talude em relação aos habitats oceânicos. Outros estudos na Bacia de Santos já demostraram que o talude é um habitat importante para grande parte dos cetáceos desta comunidade (DI TULLIO et al., 2016; MARTINS et al., 2023).

Para os odontocetos, houve também variabilidade entre os tipos de amostragem, com efeitos importantes sobre as taxas de encontro observadas e que diferem quanto a detectabilidade do grupo. Apesar da complementariedade entre os métodos visuais e acústicos, a melhor eficiência na detecção de odontocetos pelo monitoramento acústico passivo foi descrita para a Bacia de Santos e refletiu nos resultados apresentados no presente documento (DALPAZ et al., 2021). Apesar dos vieses de cada plataforma amostral, os resultados tiveram maior precisão quando analisados de forma agrupada entre os tipos de amostragem.

Para odontocetos não existe evidência de menores taxas de detecção nas categorias de distância mais próximas da fonte. Um fato corrobora este resultado, que é a menor sobreposição do repertório sonoro dos odontocetos com as fontes sísmicas, pois estas fontes se concentram nas baixas frequências enquanto o repertório dos odontocetos utiliza uma faixa de frequências mais alta (RICHARDSON et al., 1995; SOUTHALL et al., 2019). Contudo, não pode ser descartada a existência de algum efeito da sísmica sobre o uso espacial dos odontocetos ou sobre seu comportamento, pois os ruídos ocupam frequências mais baixas, mas que ainda assim podem ser usadas pelos odontocetos. Além disso, estas reações podem se manifestar em uma escala espacial diferente da análise ora realizada, pois o decaimento dos ruídos da sísmica acontecem principalmente mais próximos da fonte, nos primeiros 10-20 km (RICHARDSON et al., 1995).

Por outro lado, os melhores modelos para misticetos incluíram a variável Buffer, com previsão de menores taxas de encontro conforme a distância da fonte diminui. Além da maior sobreposição entre ruídos da sísmica e repertório de misticetos, os misticetos geralmente ocupam as regiões tropicais da Bacia de Santos para a reprodução, que neste grupo pode envolver a produção de chamados de baixa frequência para comunicação, incluindo sons com função de *display* sexual, como o canto da baleia-jubarte (ROSSI-SANTOS, 2015; ROSSI-SANTOS et al., 2023).

O desenvolvimento e consolidação destas análises, com inclusão de outros projetos de sísmica no horizonte próximo de dois anos do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, deve ajudar a elucidar e confirmar os padrões de resposta dos misticetos em relação aos ruídos produzidos pelas atividades sísmicas.

V.4.3.2 Sobrevoos antes e durante sísmicas na Bacia de Santos

Em geral, as atividades de pesquisa sísmica são de curta duração: cerca de 6 meses a 1 ano. Na Bacia de Santos temos diversas atividades simultâneas ou sequenciais, respeitando-se a distância mínima de 60 quilômetros entre navios com a fonte ativa. As amostragens realizadas pelo PMC-BS estão sujeitas à sazonalidade e ao comportamento dos animais, que estão expostos às atividades de pesquisa sísmica e a outras atividades antropogênicas recorrentes. O desenho amostral proposto para o Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, então, buscou isolar potenciais efeitos sazonais, agrupando as campanhas de avistagem aérea em um período relativamente curto. Os efeitos potenciais da exposição prolongada ou repetida sobre o comportamento foram minimizados realizando uma réplica da coleta de dados antes do início da aquisição dos dados de prospecção sísmica. Assim, a 13ª, 14ª e 15ª Campanhas de Avistagem Aérea do PMC-BS monitoraram os Campos de Iracema, Itapu e Iara, respectivamente, e seus entornos em duas etapas: uma antes e outra durante as atividades de pesquisa sísmica naqueles polígonos.

V.4.3.2.1 Material e Métodos - Sobrevoos

Os dados foram coletados seguindo o método de transecções lineares com amostragem de distâncias (BUCKLAND et al., 2001), conforme previsto no Procedimento Operacional 07 – Procedimento para coleta de dados visuais em campanha aérea (Rev.03) (ver **Volume II - Anexo III-2**) e no Projeto Executivo para o Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS (PETROBRAS, 2020b). A distância perpendicular de cada grupo detectado em relação à linha de transecção – utilizada para modelar a curva de detecção – foi obtida quando o grupo estava perpendicular à aeronave. O ângulo vertical foi medido utilizando um clinômetro, e a distância perpendicular foi estimada considerando a altura de sobrevoo da aeronave.

Uma vantagem das campanhas de avistagem aérea é a configuração de observadores independentes, que permite corrigir o viés de percepção, ou a detecção imperfeita causada pela falha do observador em detectar um grupo. Em cada bordo da aeronave, dois observadores realizam o esforço de busca por cetáceos e o registro dos grupos avistados de maneira independente, sem qualquer contato entre eles. Dessa forma, é necessário que as avistagens coincidentes entre observadores do mesmo bordo sejam identificadas, a fim de serem contabilizadas uma única vez na análise dos dados, evitando assim inflar as estimativas. A identificação das avistagens coincidentes é feita após a digitação dos dados coletados. Para determinar uma avistagem coincidente, os observadores do mesmo bordo conferem os seguintes critérios: (1) horário da avistagem (a diferença entre registros não deve ultrapassar 10 segundos); (2) ângulo vertical (a diferença entre registros não deve ultrapassar 10 graus); e (3) coerência de identificação taxonômica entre observadores, tamanho e comportamento do grupo.

Considerando a grande velocidade da aeronave e o viés de percepção, nas campanhas de avistagem aérea não é possível garantir que a detecção seja perfeita na linha de transecção. Assim, utilizou-se uma abordagem analítica que combina modelos de amostragem de distância e modelos de marcação-recaptura (Mark-Recapture Distance Sampling - MRDS). Esta é uma abordagem amplamente usada para estimar densidade e abundância quando não é possível

cumprir essa premissa da abordagem convencional, ou seja, a probabilidade de detecção na distância zero é menor do que um. Esta abordagem permite estimar a probabilidade de detecção na linha e incorporá-la na probabilidade de detecção geral, resultando em melhores estimativas de densidade e abundância.

Uma vez que o número de detecções realizadas nas três primeiras Campanhas de Avistagem Aérea do Ciclo de Médio Prazo não seria o suficiente para modelar o processo de detecção dos grupos de cetáceos que ocorrem nas áreas de pesquisa sísmica, foi realizado um filtro dos dados coletados no Ciclo de Curto Prazo e os dados selecionados foram incorporados à análise. Esta seleção nos dados coletados no Ciclo de Curto Prazo consistiu em: (1) usar somente as campanhas realizadas a 750 pés, mesma altitude das campanhas do Ciclo de Médio Prazo; e (2) estratificar espacialmente os dados coletados na região onde ocorre a pesquisa sísmica, ou seja, região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos.

Após a organização dos dados, foram construídos modelos de detecção com os dados de distância perpendicular das detecções usando o programa Distance (THOMAS et al., 2010). Antes da modelagem, as observações mais distantes, maiores que 400 metros da linha de transecção, foram eliminadas (truncagem de dados), de acordo com a inspeção dos histogramas de distâncias das detecções. As observações com distâncias menores que 107 metros (visíveis somente ao observador da janela bolha) também foram eliminadas.

Testaram-se modelos com duas funções básicas de detecção (curva meia-normal e curva taxa-de-risco), além de fatores que podem afetar a detecção dos cetáceos (distância perpendicular, tamanho de grupo e posição do observador). Por fim, o melhor modelo foi escolhido com base no menor valor de AIC – Critério de Informação de Akaike (BURNHAM; ANDERSON, 2002).

V.4.3.2.2 Resultados

13ª Campanha de Avistagem Aérea: Campo de Iracema

Os resultados da 13ª Campanha de Avistagem Aérea, que monitorou a ocorrência e distribuição dos cetáceos antes (etapa 1) e durante a atividade de

pesquisa sísmica (etapa 2) no campo de Iracema e seu entorno, estão sumarizados na **Tabela V.4-12, Tabela V.4-13** e **Tabela V.4-14**. Importante lembrar que as fontes sísmicas estavam operando (Status "ON") durante a amostragem na campanha aérea do período "Durante" (etapa 2). A **Figura V.4-37** mostra a área de aquisição adquirida previamente e durante a etapa 2 da 13ª Campanha de Avistagem Aérea. O número total de detecções de cetáceos foi o mesmo nas duas etapas, porém, o número total de indivíduos e, consequentemente, a taxa de encontro, foram cerca de três vezes maiores na etapa 1, pré-sísmica, do que na etapa 2, durante a sísmica. Os maiores grupos detectados na etapa 1, de até 80 delfinídeos, se encontravam na região do talude, região já reconhecida de agregação destes animais e a mais de 60 km da área de atividade sísmica. A distribuição das detecções de cetáceos registradas nas etapas 1 e 2 da 13ª campanha de Avistagem Aérea está ilustrada na **Figura V.4-38** e **Figura V.4-39**. O tamanho de grupo, identificação taxonômica, distância da linha de transecção e posição com relação ao buffer de 60 km (dentro ou fora) estão detalhados para cada detecção no **Volume II - Anexo V-5**.

Tabela V.4-12: *Resumo do esforço amostral e das avistagens realizadas no entorno do campo de Iracema durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 13ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS (considerando todo o desenho amostral).*

Esforço/Avistagens	Etapa 1	Etapa 2
Esforço amostral realizado nas linhas de transecção	2.392,78 km	2.395,47 km
Grupos de cetáceos detectados nas linhas de transecção[1]	15	15
Nº de indivíduos avistados nas linhas de transecção[1]	223	73
Variação do tamanho dos grupos de cetáceos detectados nas linhas de transecção[1]	1 – 80 (média = 15)	1 – 20 (média = 5)
Esforço amostral realizado nas linhas de deslocamento	1.008,57 km	995,72 km
Grupos de cetáceos detectados nas linhas de deslocamento[1]	0	5
Nº de indivíduos avistados nas linhas de deslocamento[1]	0	44
Variação do tamanho dos grupos de cetáceos detectados nas linhas de deslocamento[1]	-	1 – 30 (média = 9)
Infraordem, Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies (número de registros)	Odontoceti (4) Delphinidae (10) *Balaenoptera* sp. (1)	Cetacea (2) Odontoceti (4) Mysticeti (1) Delphinidae (9) *Grampus griseus* (3) *Pontoporia blainvillei* (1)*

[1]Consideram as avistagens não duplicadas (coincidentes) dos quatro observadores.

*Espécie avistada somente próxima à costa, na linha de deslocamento.

Tabela V.4-13: *Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos de cetáceos observados em esforço por dia durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 13ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Iracema (considerando todo o desenho amostral).*

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
28/11/21 **(Etapa 1)**	793,7	4	130	Delphinidae (80; 20; 10; 20)
29/11/21 **(Etapa 1)**	873,5	7	36	Odontoceti (3; 1; 1) Delphinidae (20; 2; 8) *Balaenoptera* sp. (1)
01/12/21 **(Etapa 1)**	725,5	4	57	Odontoceti (2) Delphinidae (30; 5; 20)
Subtotal Etapa 1	**2.392,8**	**15**	**223**	
27/12/21 **(Etapa 2)**	726,4	2	8	Cetacea (2) *Grampus griseus* (6)
28/12/21 **(Etapa 2)**	873,6	10	41	Cetacea (2) Odontoceti (4; 4; 1) Delphinidae (2; 3; 1; 15; 5) *Grampus griseus* (4)
29/12/21 **(Etapa 2)**	795,4	3	24	Odontoceti (2) Delphinidae (20) *Grampus griseus* (2)
Subtotal Etapa 2	**2.395,5**	**15**	**73**	
TOTAL	**4.788,3**	**30**	**296**	Cetacea (2; 2) Odontoceti (3; 1; 1; 2; 4; 4; 1; 2) Delphinidae (80; 20; 10; 20; 20; 2; 8; 30; 5; 20; 2; 3; 1; 15; 5; 20) *Balaenoptera* sp. (1) *Grampus griseus* (6; 4; 2)

Tabela V.4-14: *Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos de cetáceos observados em esforço por dia durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 13ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Iracema (considerando somente o buffer de 60 km).*

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
28/11/21 **(Etapa 1)**	433,6	2	30	Delphinidae (10; 20)
29/11/21 **(Etapa 1)**	675,3	4	14	Odontoceti (3; 1) Delphinidae (2; 8)
01/12/21 **(Etapa 1)**	362,3	1	2	Odontoceti (2)
Subtotal Etapa 1	**1.471,2**	**7**	**46**	
27/12/21 **(Etapa 2)**	362,4	1	6	*Grampus griseus* (6)
28/12/21 **(Etapa 2)**	675,2	9	39	Odontoceti (4; 4; 1) Delphinidae (2; 3; 1; 15; 5) *Grampus griseus* (4)
29/12/21 **(Etapa 2)**	418,6	1	20	Delphinidae (20)
Subtotal Etapa 2	**1.456,2**	**11**	**65**	
TOTAL	**2.927,4**	**18**	**111**	Odontoceti (3; 1; 2; 4; 4; 1) Delphinidae (10; 20; 2; 8; 2; 3; 1; 15; 5; 20) *Grampus griseus* (6; 4)

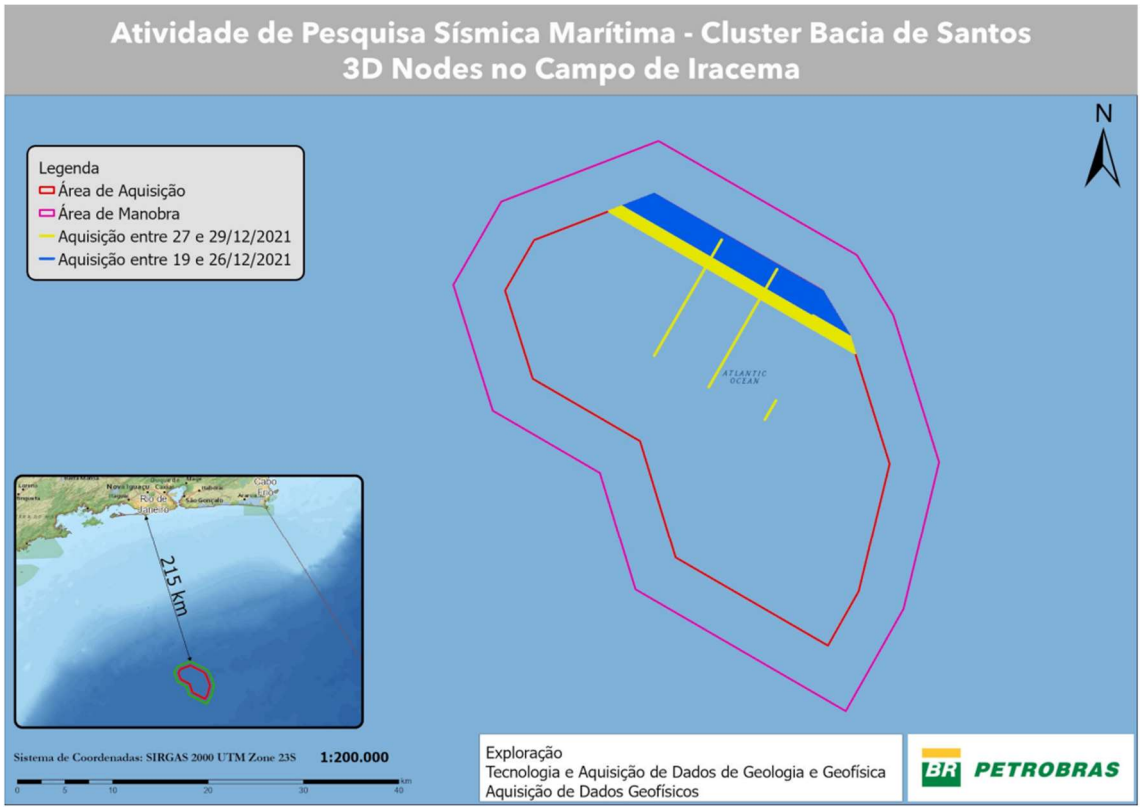


Figura V.4-37: *Evolução das aquisições sísmicas durante a etapa 2 da 13ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS realizada no entorno do campo de Iracema, de 27/12/2021 a 29/12/2021.*

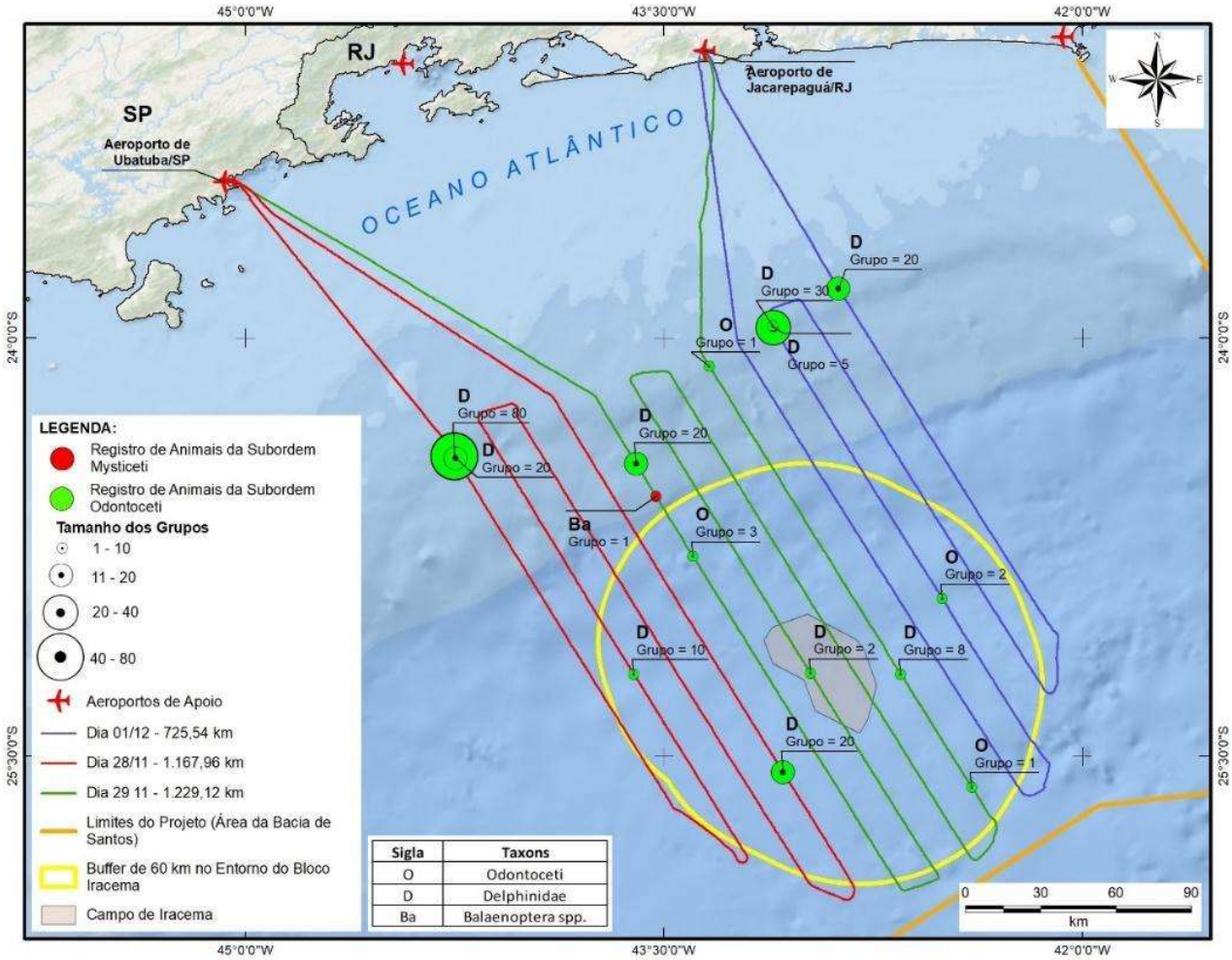


Figura V.4-38: *Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 13ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Iracema durante a etapa 1 (pré-sísmica), realizada de 28/11/2021 a 01/12/2021.*

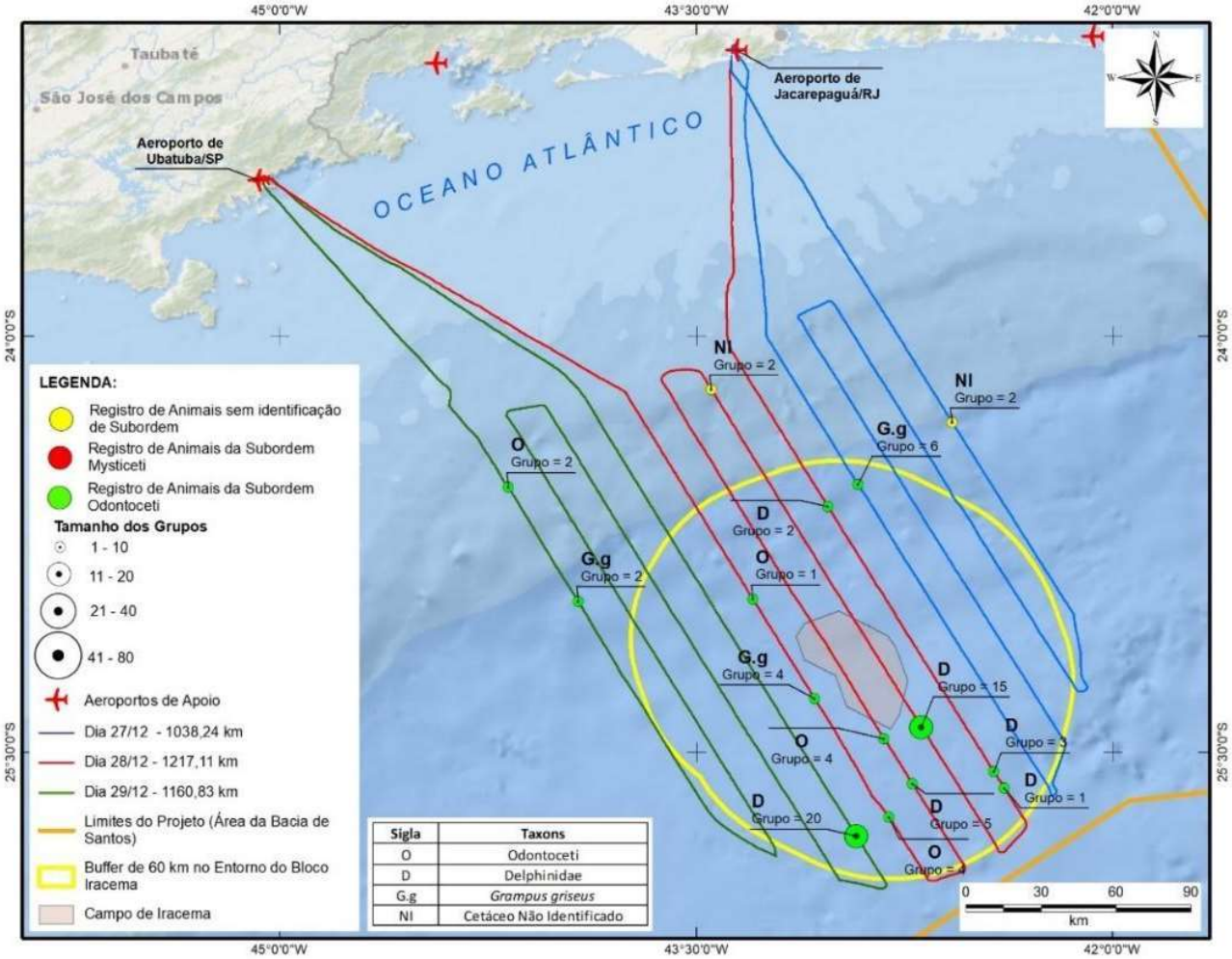


Figura V.4-39: *Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 13ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Iracema durante a etapa 2 (durante a sísmica) realizada de 27/12/2021 a 29/12/2021.*

14ª Campanha de Avistagem Aérea: Campo de Itapu

Os resultados da 14ª Campanha de Avistagem Aérea, que monitorou a ocorrência e distribuição dos cetáceos antes (etapa 1) e durante a atividade de pesquisa sísmica (etapa 2) no campo de Itapu e seu entorno, estão sumarizados na **Tabela V.4-15, Tabela V.4-16** e **Tabela V.4-17**. Importante lembrar que as fontes sísmicas estavam operando (Status "ON") durante a amostragem na campanha aérea do período "Durante" (etapa 2). Destaca-se que durante a 14ª Campanha de Avistagem Aérea estava sendo realizada outra aquisição sísmica nas proximidades, no Campo de Tupi. A **Figura V.4-40** mostra a área de aquisição adquirida no Campo de Tupi e Itapu, previamente e durante as etapas 1 e 2 da 14ª Campanha de Avistagem Aérea. O número total de detecções de cetáceos nas linhas de transecção foi maior na etapa 1, pré-sísmica, porém o tamanho médio de grupo foi maior na etapa 2, durante a sísmica (**Tabela V.4-16**). A distribuição das detecções de cetáceos registradas nas etapas 1 e 2 da 14ª campanha de Avistagem Aérea está ilustrada na **Figura V.4-41 e Figura V.4-42**. O tamanho de grupo, identificação taxonômica, distância da linha de transecção e posição com relação ao buffer de 60 km (dentro ou fora) estão detalhados para cada detecção no **Anexo V-6**.

Tabela V.4-15: *Resumo do esforço amostral e das avistagens realizadas no entorno do campo de Itapu durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 14ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS (considerando todo o desenho amostral).*

Avistagens	Etapa 1	Etapa 2
Esforço nas linhas de transecção	2.370,58 km	2.350,37 km
Grupos de cetáceos detectados nas linhas de transecção[1]	26	17
Nº de indivíduos avistados nas linhas de transecção[1]	100	172
Variação do tamanho dos grupos de cetáceos detectados nas linhas de transecção[1]	1 – 25 (média = 4)	1 – 50 (média = 10)

Avistagens	Etapa 1	Etapa 2
Esforço nas linhas de deslocamento	1.174,81 km	1.162,29 km
Grupos de cetáceos detectados nas linhas de deslocamento[1]	3	7
Nº de indivíduos avistados nas linhas de deslocamento[1]	10	28
Variação do tamanho dos grupos de cetáceos detectados nas linhas de deslocamento[1]	1 – 6 (média = 3)	1 – 12 (média = 4)
Infraordem, Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies (número de registros)	Cetacea (1) Odontoceti (6) Mysticeti (3) Delphinidae (7) Balaenopteridae (3) *Balaenoptera* sp. (5) *Megaptera novaeangliae* (3) *Grampus griseus* (1)	Odontoceti (3) Mysticeti (2) Delphinidae (11) Balaenopteridae (5) *Grampus griseus* (3)

[1]Consideram as avistagens não duplicadas (coincidentes) dos quatro observadores.

Tabela V.4-16: *Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos observados em esforço por dia nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 14ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Itapu (considerando todo o desenho amostral).*

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
04/10/22 **(Etapa 1)**	230,51	5	19	Mysticeti (1) Odontoceti (1; 1; 1) Delphinidae (15)
05/10/22 **(Etapa 1)**	671,63	11	56	Cetacea (1) Odontoceti (2; 2)

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
				Delphinidae (25; 11) Balaenopteridae (1) *Balaenoptera* sp.(4; 1; 4) *Megaptera novaeangliae* (1) *Grampus griseus* (4)
07/10/22 **(Etapa 1)**	699,79	5	9	Mysticeti (1) Balaenopteridae (2; 2) Balaenoptera sp.(1) *Megaptera novaeangliae* (3)
08/10/22 **(Etapa 1)**	768,65	5	16	Mysticeti (4) Odontoceti (3) Delphinidae (6) *Balaenoptera sp.* (1) *Megaptera novaeangliae* (2)
Subtotal Etapa 1	**2.370,58**	**26**	**100**	
17/11/22 **(Etapa 2)**	534,39	4	96	Delphinidae (15; 30; 50) Balaenopteridae (1)
18/11/22 **(Etapa 2)**	1.117,08	11	60	Odontoceti (5; 1) Delphinidae (5; 2; 15; 5; 10) Balaenopteridae (1; 2) *Grampus griseus* (6; 8)
19/11/22 **(Etapa 2)**	698,90	2	16	Balaenopteridae (1) *Grampus griseus* (15)
Subtotal Etapa 2	**2.350,37**	**17**	**172**	
TOTAL	**4.720,95**	**43**	**272**	Cetacea (1) Mysticeti (1; 1; 4) Odontoceti (1; 1; 1; 2; 2; 3; 5; 1) Delphinidae (15; 25; 11; 6; 15;

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
				30; 50; 5; 2; 15; 5; 10) Balaenopteridae (1; 2; 2; 1; 1; 2; 1) *Balaenoptera* sp. (4; 1; 4; 1; 1) *Megaptera novaeangliae* (1; 3; 2) *Grampus griseus* (4; 6; 8; 15)

Tabela V.4-17: *Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos observados em esforço por dia nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 14ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Itapu (considerando somente o buffer de 60 km).*

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
04/10/22 **(Etapa 1)**	104,7	4	18	Odontoceti (1; 1; 1) Delphinidae (15)
05/10/22 **(Etapa 1)**	577,3	10	52	Cetacea (1) Odontoceti (2; 2) Delphinidae (25; 11) Balaenopteridae (1) *Balaenoptera* sp.(4; 1) *Megaptera novaeangliae* (1) *Grampus griseus* (4)
07/10/22 **(Etapa 1)**	383,0	4	6	Mysticeti (1) Balaenopteridae (2; 2) Balaenoptera sp.(1)
08/10/22 **(Etapa 1)**	628,7	4	15	Mysticeti (4) Odontoceti (3)

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
				Delphinidae (6) *Megaptera novaeangliae* (2)
Subtotal Etapa 1	**1.693,7**	**22**	**91**	
17/11/22 **(Etapa 2)**	393,1	4	96	Delphinidae (15; 30; 50) Balaenopteridae (1)
18/11/22 **(Etapa 2)**	938,3	9	54	Odontoceti (5) Delphinidae (5; 2; 15; 10) Balaenopteridae (1; 2) *Grampus griseus* (6; 8)
19/11/22 **(Etapa 2)**	372,5	1	15	*Grampus griseus* (15)
Subtotal Etapa 2	**1.703,9**	**14**	**165**	
TOTAL	**3.397,6**	**36**	**256**	Cetacea (1) Mysticeti (1; 4) Odontoceti (1; 1; 1; 2; 2; 3; 5) Delphinidae (15; 25; 11; 6; 15; 30; 50; 5; 2; 15; 10) Balaenopteridae (1; 2; 2; 1; 1; 2) *Balaenoptera* sp. (4; 1; 1) *Megaptera novaeangliae* (1; 2) *Grampus griseus* (4; 6; 8; 15)

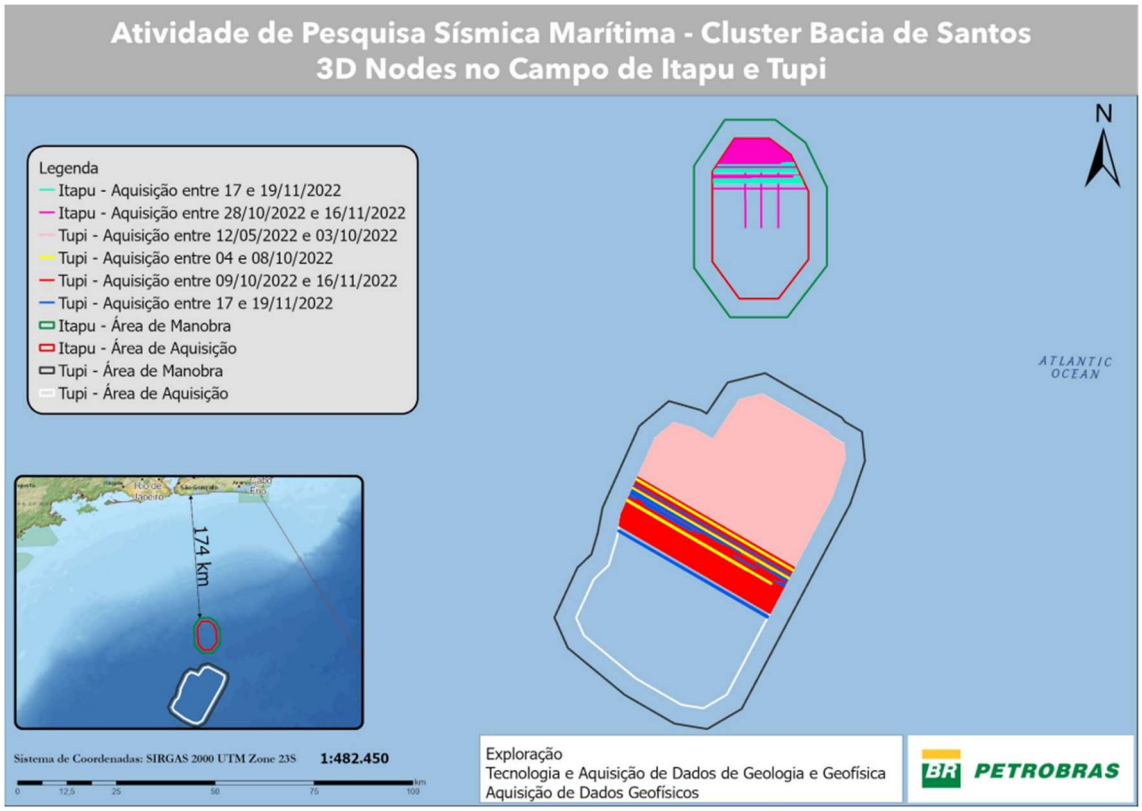


Figura V.4-40: *Evolução das aquisições sísmicas durante a etapa 2 da 14ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS realizada no entorno do campo de Itapu, de 17/11/2022 a 19/11/2022.*

O estudo de parâmetros para análise das avistagens considerando atividades simultâneas está em andamento para discussão dos resultados nos próximos relatórios técnicos e há previsão de ser executada campanha com desenho amostral específico para sísmicas simultâneas nas próximas atividades simultâneas previstas no Cluster BS, previstas para meados de 2026.

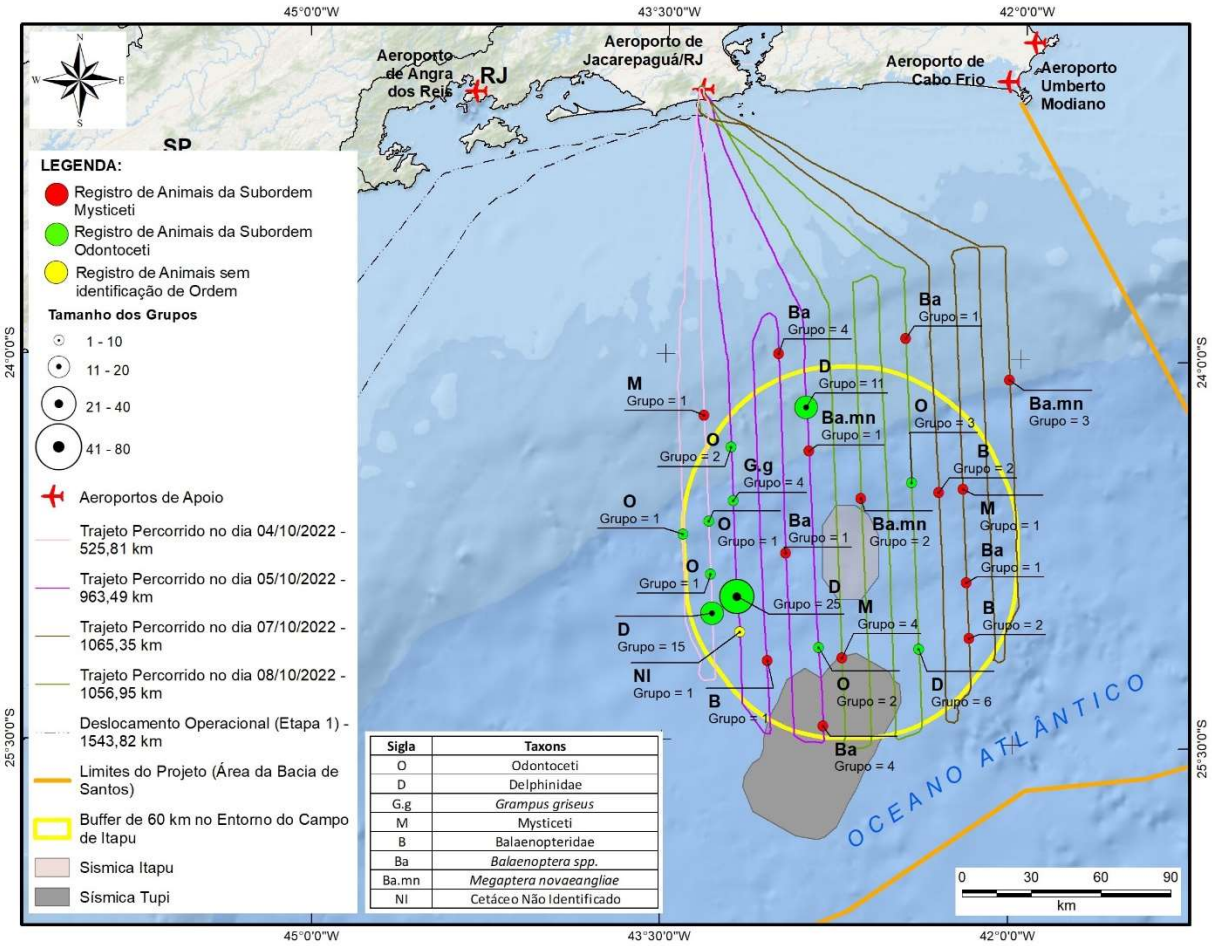


Figura V.4-41: *Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 14ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Itapu durante a etapa 1 (pré-sísmica), realizada de 04/10/2022 a 08/10/2022.*

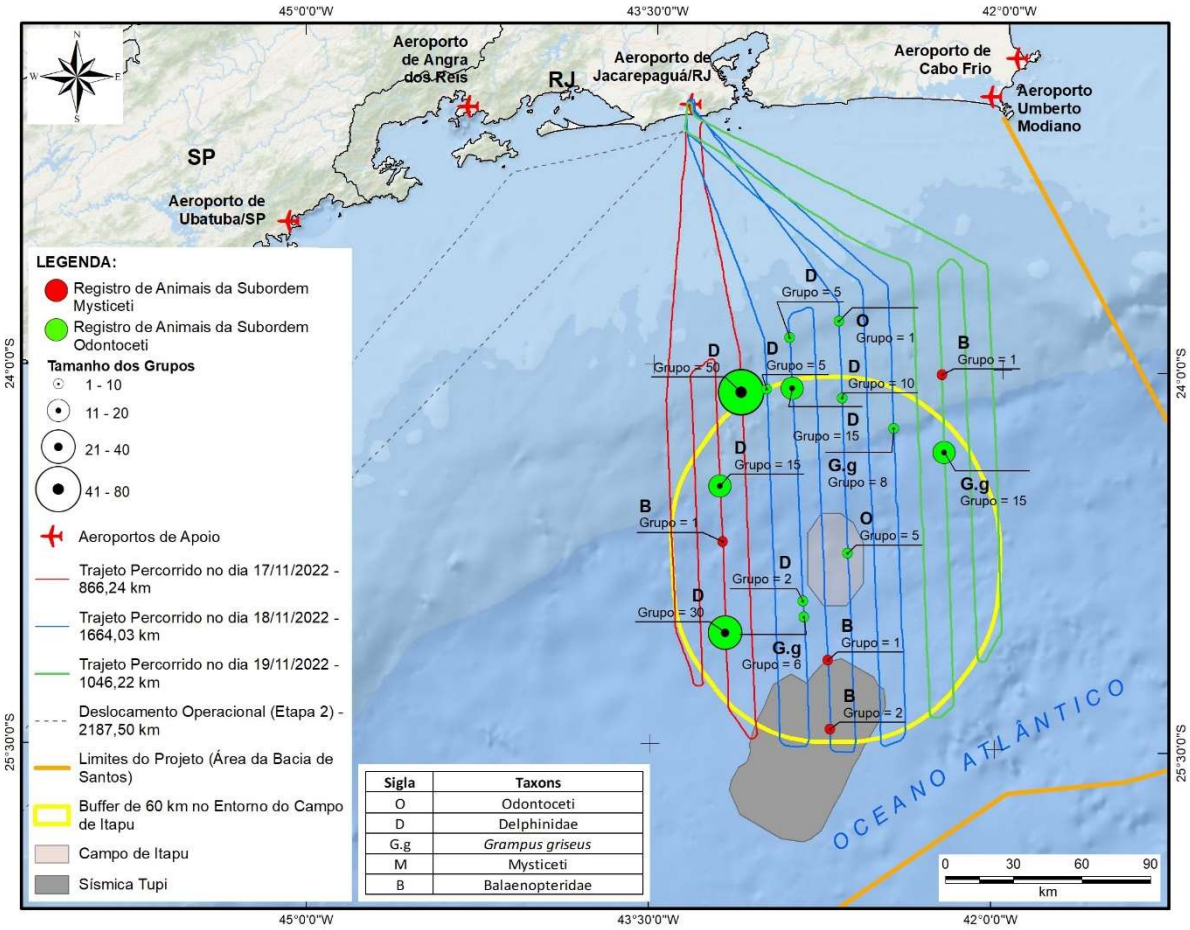


Figura V.4-42: *Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 14ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Itapu durante a etapa 2 (durante a sísmica), realizada de 17/11/2022 a 19/11/2022.*

15ª Campanha de Avistagem Aérea: Campo de Iara

Os resultados da 15ª Campanha de Avistagem Aérea, que monitorou a ocorrência e distribuição dos cetáceos antes (etapa 1) e durante a atividade de pesquisa sísmica (etapa 2) de Iara (Campos de Sururu, Berbigão e Atapu) e seu entorno, estão sumarizados na **Tabela V.4-18, Tabela V.4-19** e **Tabela V.4-20**. Importante lembrar que as fontes sísmicas estavam operando (Status "ON") durante a amostragem na campanha aérea do período "Durante" (etapa 2). Destaca-se que durante a 15ª Campanha de Avistagem Aérea, estava ocorrendo outra atividade de pesquisa sísmica da PETROBRAS na Bacia de Santos, no Campo de Aram, a aproximadamente 100 km de distância a oeste dos limites de Iara. A **Figura V.4-43** mostra a área de aquisição adquirida em Iara e no Campo de Aram, previamente e durante as etapas 1 e 2 da 15ª Campanha de Avistagem Aérea. O número total de detecções de cetáceos nas linhas de transecção foi maior na etapa 2, durante a sísmica, porém o tamanho médio de grupo foi maior na etapa 1, pré-sísmica (**Tabela V.4-19**). A distribuição das detecções de cetáceos registradas nas etapas 1 e 2 da 15ª campanha de Avistagem Aérea está ilustrada na **Figura V.4-44 e Figura V.4-45**. O tamanho de grupo, identificação taxonômica, distância da linha de transecção e posição com relação ao buffer de 60 km (dentro ou fora) estão detalhados para cada detecção no **Anexo V-7**.

Tabela V.4-18: *Resumo do esforço amostral e das avistagens realizadas no entorno do campo de Iara durante as etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 15ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS (considerando todo o desenho amostral).*

Avistagens	Etapa 1	Etapa 2
Esforço nas linhas de transecção	3.044,28 km	3.113,69 km
Grupos de cetáceos detectados nas linhas de transecção[1]	12	14
Nº de indivíduos avistados nas linhas de transecção[1]	100	65

Avistagens	Etapa 1	Etapa 2
Variação do tamanho dos grupos de cetáceos detectados nas linhas de transecção[1]	1 – 30 (média = 8)	1 – 17 (média = 5)
Infraordem, Subordens', Famílias, Gêneros ou Espécies (número de detecções)	Delphinidae (6) Balaenopteridae (1) *Balaenoptera* sp. (4) *Megaptera novaeangliae* (1)	Odontoceti (1) Delphinidae (7) Balaenopteridae (1) Ziphiidae (1) *Balaenoptera* sp. (1) *Megaptera novaeangliae* (1) *Grampus griseus* (2)

[1]Consideram as avistagens não duplicadas (coincidentes) dos quatro observadores.

Tabela V.4-19: *Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos observados em esforço por dia nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 15ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Iara (considerando todo o desenho amostral).*

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
07/05/23 **(Etapa 1)**	1.014,48	2	21	Delphinidae (20) *Balaenoptera* sp. (1)
11/05/23 **(Etapa 1)**	1.001,83	5	8	Delphinidae (2; 1) Balaenopteridae (1) *Balaenoptera* sp. (2) *Megaptera novaeangliae* (2)
13/05/23 **(Etapa 1)**	1.027,98	5	71	Delphinidae (9; 30; 30) *Balaenoptera* sp. (1; 1)
Subtotal Etapa 1	**3.044,28**	**12**	**100**	
02/06/23 **(Etapa 2)**	1.037,75	1	6	*Grampus griseus* (6)

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
03/06/23 **(Etapa 2)**	1.027,63	10	36	Odontoceti (1) Delphinidae (8; 5; 8; 2) Balaenopteridae (1) Ziphiidae (3) *Balaenoptera* sp. (1) *Megaptera novaeangliae* (1) *Grampus griseus* (6)
04/06/23 **(Etapa 2)**	1.048,31	3	23	Delphinidae (5; 1;17)
Subtotal Etapa 2	**3.113,69**	**14**	**65**	
TOTAL	**6.157,97**	**26**	**165**	Odontoceti (1) Delphinidae (20; 2; 1; 9; 30; 30; 8; 5; 8; 2; 5; 1; 17) Balaenopteridae (1; 1) Ziphiidae (3) *Balaenoptera* sp. (1; 2; 1; 1; 1) *Megaptera novaeangliae* (2; 1) *Grampus griseus* (6; 6)

Tabela V.4-20: *Resumo do esforço amostral nas linhas de transecção e grupos observados em esforço por dia nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da 15ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS, realizada no entorno do campo de Iara (considerando somente o buffer de 60 km).*

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
07/05/23 **(Etapa 1)**	593,4	0	0	

Data	Esforço (km)	Número registros grupos Cetáceos	Número de indivíduos	Subordens, Famílias, Gêneros ou Espécies identificados (tamanho dos grupos)
11/05/23 **(Etapa 1)**	640,9	3	6	Delphinidae (2) *Balaenoptera* sp. (2) *Megaptera novaeangliae* (2)
13/05/23 **(Etapa 1)**	570,6	3	32	Delphinidae (30) *Balaenoptera* sp. (1; 1)
Subtotal Etapa 1	**1.804,9**	**6**	**38**	
02/06/23 **(Etapa 2)**	605,9	0	0	
03/06/23 **(Etapa 2)**	640,3	5	12	Odontoceti (1) Balaenopteridae (1) Ziphiidae (3) *Megaptera novaeangliae* (1) *Grampus griseus* (6)
04/06/23 **(Etapa 2)**	578,8	2	22	Delphinidae (5; 17)
Subtotal Etapa 2	**1.825,0**	**7**	**34**	
TOTAL	**3.629,9**	**13**	**72**	Odontoceti (1) Delphinidae (2; 30; 5; 17) Balaenopteridae (1) Ziphiidae (3) *Balaenoptera* sp. (2; 1; 1) *Megaptera novaeangliae* (2; 1) *Grampus griseus* (6)

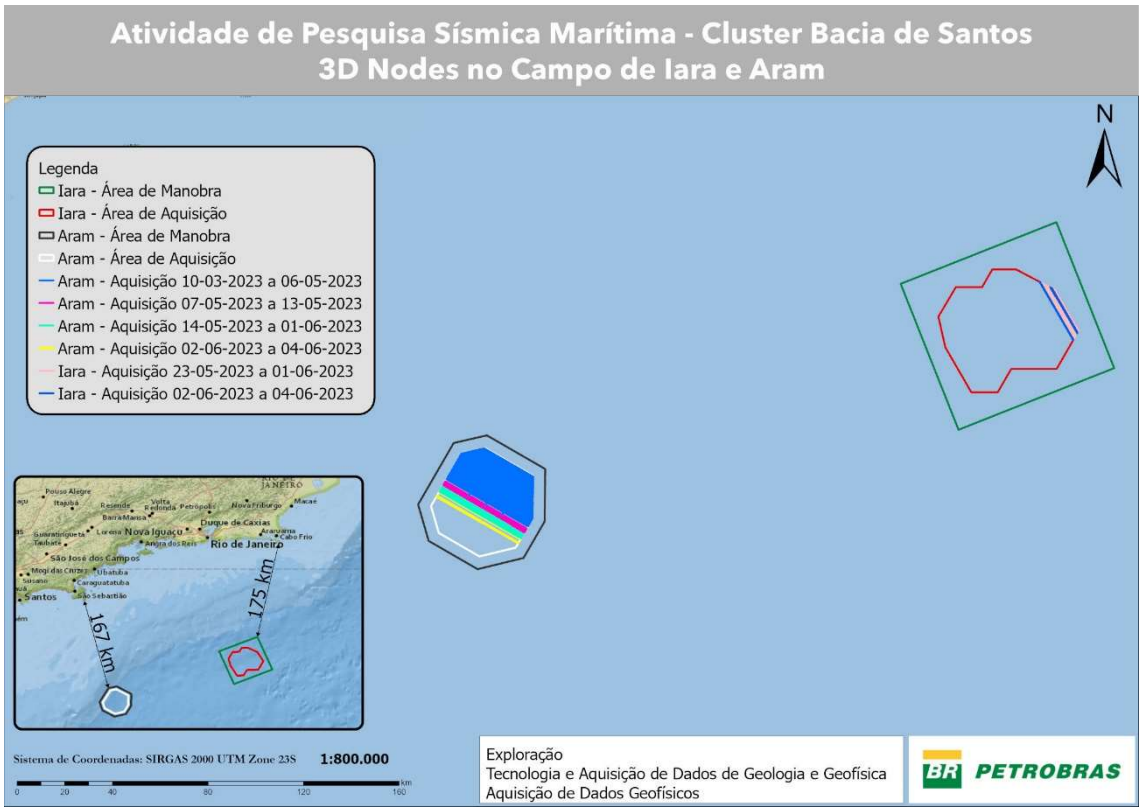


Figura V.4-43: *Área de aquisição sísmica adquirida em Iara e no Campo de Aram previamente e durante as etapas 1 e 2 da 15ª Campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS realizada em Iara, em 7, 11 e 13/05/2023 e de 02 a 04/06/2023, respectivamente.*

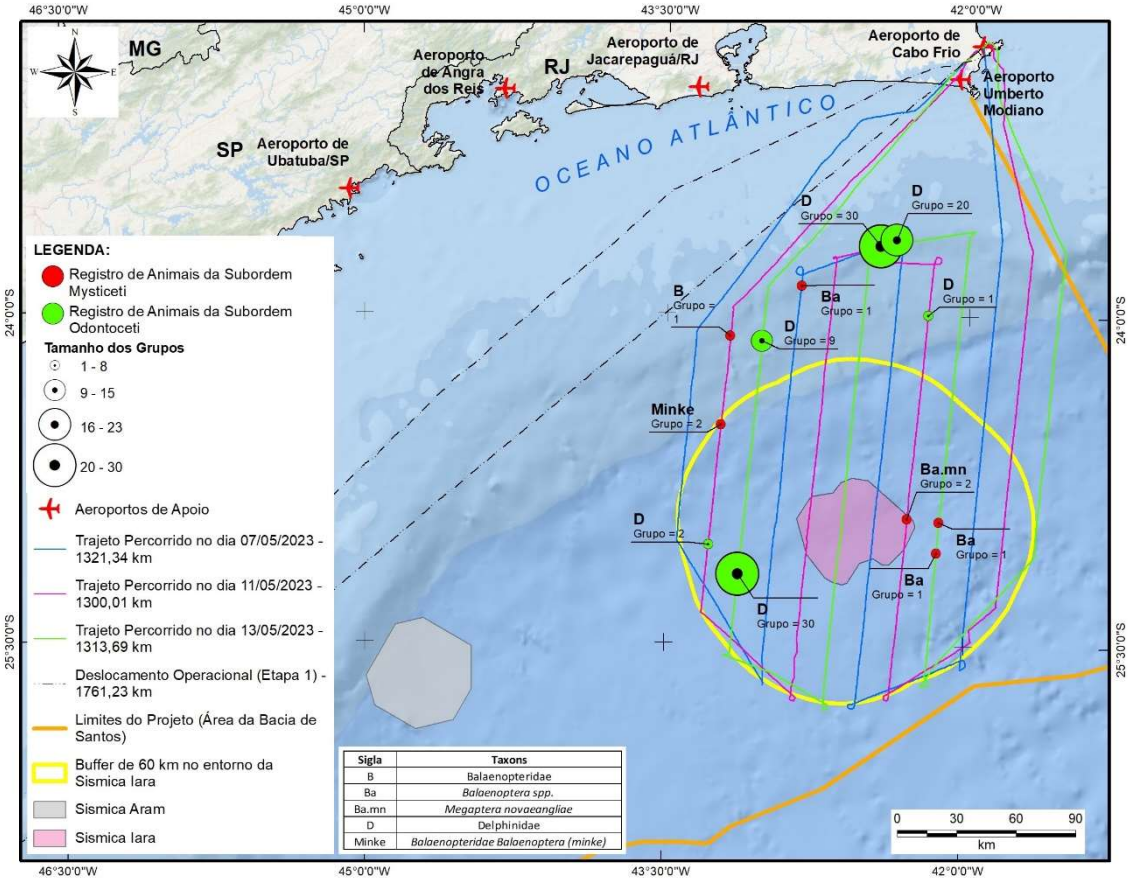


Figura V.4-44: *Distribuição* das detecções de cetáceos registradas na 15ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Iara durante a etapa 1 (pré-sísmica), realizada de 07/05/2023 a 13/05/2023.

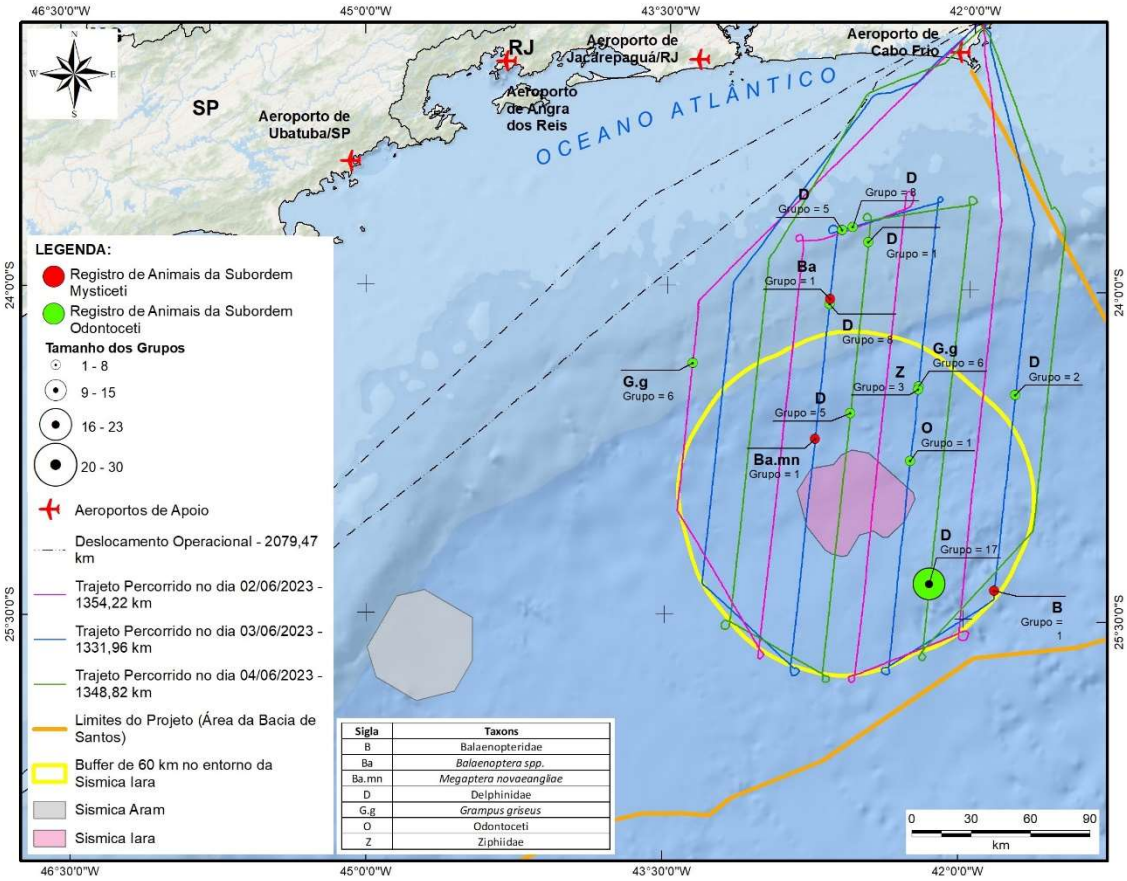


Figura V.4-45: *Distribuição das detecções de cetáceos registradas na 15ª campanha de Avistagem Aérea do PMC-BS no entorno do campo de Iara durante a etapa 2 (durante a sísmica), realizada de 02/06/2023 a 04/06/2023.*

V.4.3.2.3 Modelagem do processo de detecção

Na **Figura V.4-46** apresenta-se um resumo geral dos dados obtidos nas 3 campanhas de avistagem aérea, nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica), considerando-se somente as detecções dentro do buffer de 60 km. Além do número total de indivíduos detectados, classificados de acordo com o grupo taxonômico, apresenta-se o número total de detecções em cada etapa (n).

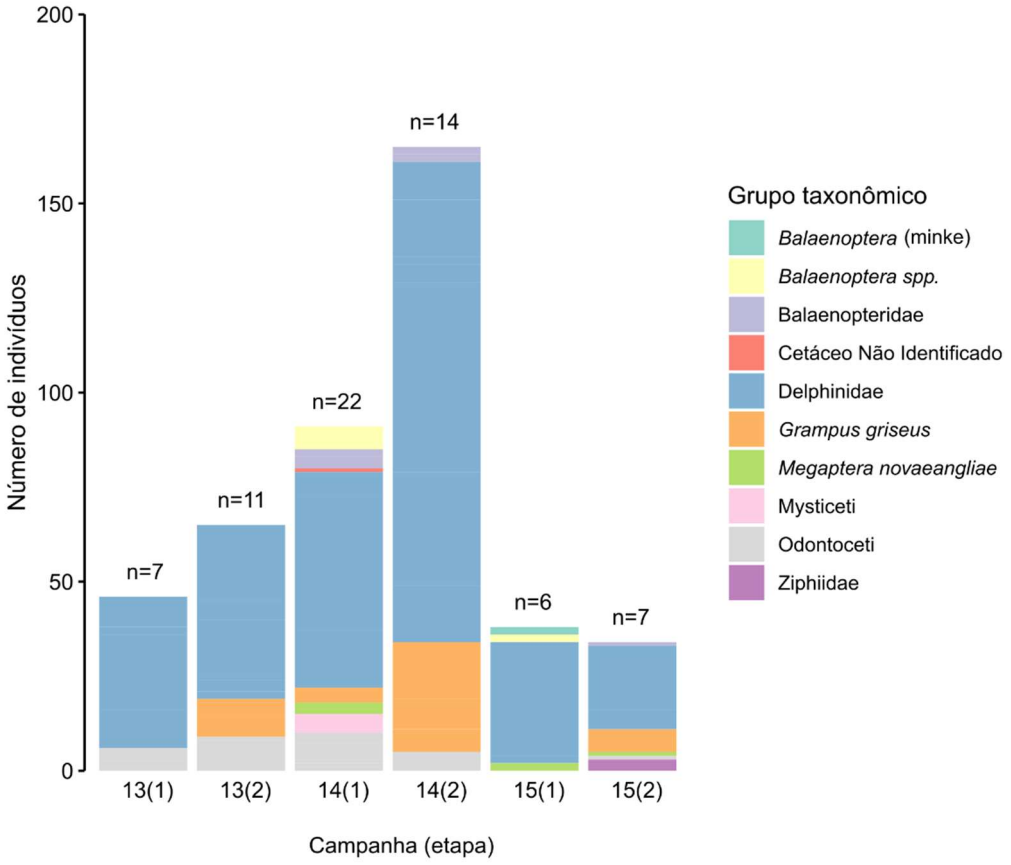


Figura V.4-46: *Número total de indivíduos detectados nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) nas 3 campanhas de Avistagem Aérea do PMC-BS (considerando dados somente dentro do buffer de 60 km), classificados de acordo com o grupo taxonômico. O número total de detecções em cada etapa (n) está indicado acima das barras.*

A partir dos dados coletados nessas Campanhas de Avistagem Aérea específicas das sísmica (13ª, 14ª e 15ª Campanhas) e campanhas anteriores do

PMC-BS, foram geradas estimativas de densidade e abundância de cetáceos (bem como de misticetos e delfinídeos em separado) para cada área de aquisição sísmica e seu entorno (buffer de 60 km), antes e durante a sísmica.

Dessa forma, para a modelagem do processo de detecção dos grupos de cetáceos que ocorrem nas áreas de pesquisa sísmica, foram analisados dados coletados nas campanhas 9 a 15 (com altitude de sobrevoo de 750 pés) ao longo de 144 linhas de transecção, na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos, que somaram 17.606,21 km de esforço de procura por cetáceos na área de atividade de pesquisa sísmica. No total, foram avistados 140 grupos de cetáceos.

A partir deste esforço, foram construídos três histogramas com as distâncias observadas: 1) considerando todas as detecções; 2) considerando somente as detecções de delfinídeos; 3) considerando somente as detecções de misticetos. Todas as observações com distâncias menores que 107 metros (início da sobreposição entre os observadores das janelas bolha e plana) e maiores que 400 metros da linha de transecção foram eliminadas, restando 90 observações de cetáceos, sendo 38 de delfinídeos e 37 de misticetos. Para cada grupo taxonômico, foram considerados seis modelos para a respectiva curva de detecção dos animais na área de pesquisa sísmica na Bacia de Santos.

Para a curva de detecção de cetáceos, os valores de AIC indicaram que quatro modelos MRDS *point independence* suportaram bem os dados (Delta AIC < 2): os modelos de amostragem de distâncias com a função meia-normal sem variáveis explanatórias ou com tamanho de grupo como covariável; e modelos marcação-recaptura com as diferentes covariáveis (**Tabela V.4-21**). Estes quatro modelos geraram estimativas bastante semelhantes. Como não é possível fazer uma média dos modelos MRDS, aqui estão apresentados os resultados do modelo mais simples dentre aqueles com Delta AIC < 2: modelo amostragem de distâncias com a função meia-normal sem variáveis explanatórias e modelo marcação-recaptura com a covariável distância (**Figura V.4-46**). A probabilidade de detecção na linha, combinada para os dois observadores, foi estimada em 0,965 (EP = 0,035; CV = 0,036).

Tabela V.4-21: *Modelos de detecção para cetáceos na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos—área de pesquisa sísmica—ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike). PI = modelo point independence; FI = modelo full independence; MR = modelo de marcação-recaptura.*

Modelo	Delta AIC	AIC
PI_Nulo (meia normal); MR Observador	0,00	1199,58
PI_Nulo (meia normal); MR Distância	0,09	1199,67
PI_Tamanho (meia normal); MR Distância	0,95	1200,53
PI_Nulo (meia normal); MR Distância + Tamanho	1,89	1201,47
FI_Nulo (meia normal); MR Distância	4,90	1204,48
PI_Nulo (taxa de risco); MR Distância	10,63	1210,21

As estimativas de abundância de cetáceos geradas para cada etapa da 13ª, 14ª e 15ª Campanhas de Avistagem Aérea, assim como a variação de tamanho dos grupos observados dentro do buffer de 60 km em cada etapa, estão ilustradas na **Figura V.4-47**. As estimativas foram semelhantes entre etapas na 13ª Campanha de Avistagem Aérea (etapa 1: 1.021 indivíduos; CV = 0,61; IC95% = 296 – 3.515; etapa 2: 1.296 indivíduos; CV = 0,47; IC95% = 486 – 3.458; **Figura V.4-47A**) e na 15ª Campanha de Avistagem Aérea (etapa 1: 1.108 indivíduos; CV = 0,81; IC95% = 246 – 4.976; etapa 2: 977 indivíduos; CV = 0,55; IC95% = 329 – 2.898; **Figura V.4-47C**), com grande sobreposição dos intervalos de confiança. Na 14ª Campanha de Avistagem Aérea, a estimativa de abundância de cetáceos na etapa 1 (1.525 indivíduos; CV = 0,50; IC95% = 553 – 4.201) foi menor do que na etapa 2 (2.228 indivíduos; CV = 0,51; IC95% = 804 – 6.171; **Figura V.4-47B**). O número de detecções consideradas em cada etapa foi pequeno, variando entre 5 e 13 detecções por etapa, influenciando a precisão das estimativas.

Por conta do pequeno número de detecções por etapa, a presença de grupos grandes também teve grande influência no tamanho médio de grupo e consequentemente, nas estimativas. Na 14ª Campanha de Avistagem Aérea, a presença de grupos de 30 ou mais indivíduos na etapa 2 resultou em uma

diferença considerável no tamanho médio de grupo entre etapas ($Média_{etapa1}$ = 5 e $Média_{etapa2}$ = 11) e consequentemente nas estimativas, que foram maiores na etapa 2 (**Figura V.4-46B**), apesar do número de detecções ter sido maior na etapa 1 (13 detecções na etapa 1 e 9 detecções na etapa 2).

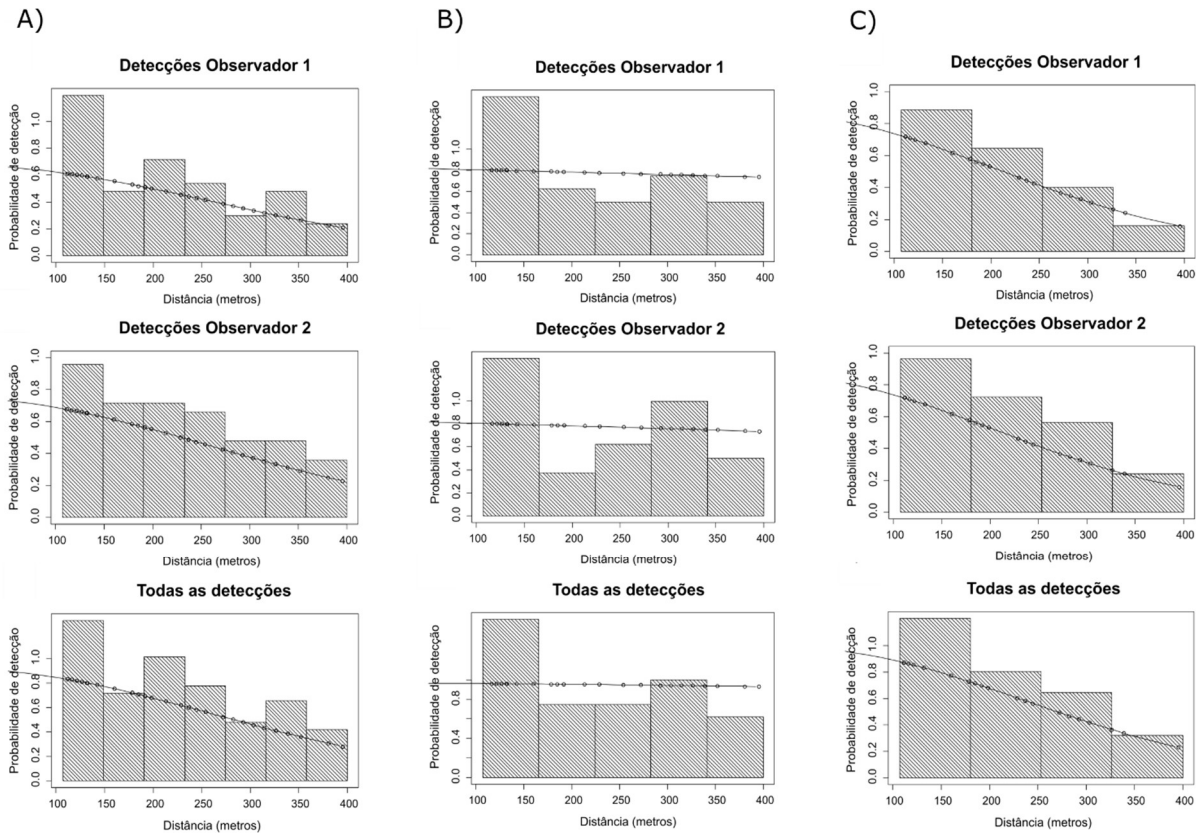


Figura V.4-46: *Curvas de detecção de A) cetáceos, B) delfinídeos e C) misticetos (o histograma representa as distâncias perpendiculares observadas) nas 3 Campanhas de Avistagem Aérea do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos—área de pesquisa sísmica. Pontos (círculos) indicam a probabilidade de detecção para cada avistagem, dada a sua distância perpendicular. Detecções do observador 1 (janela bolha); Detecções do observador 2 (janela plana); e Todas as detecções.*

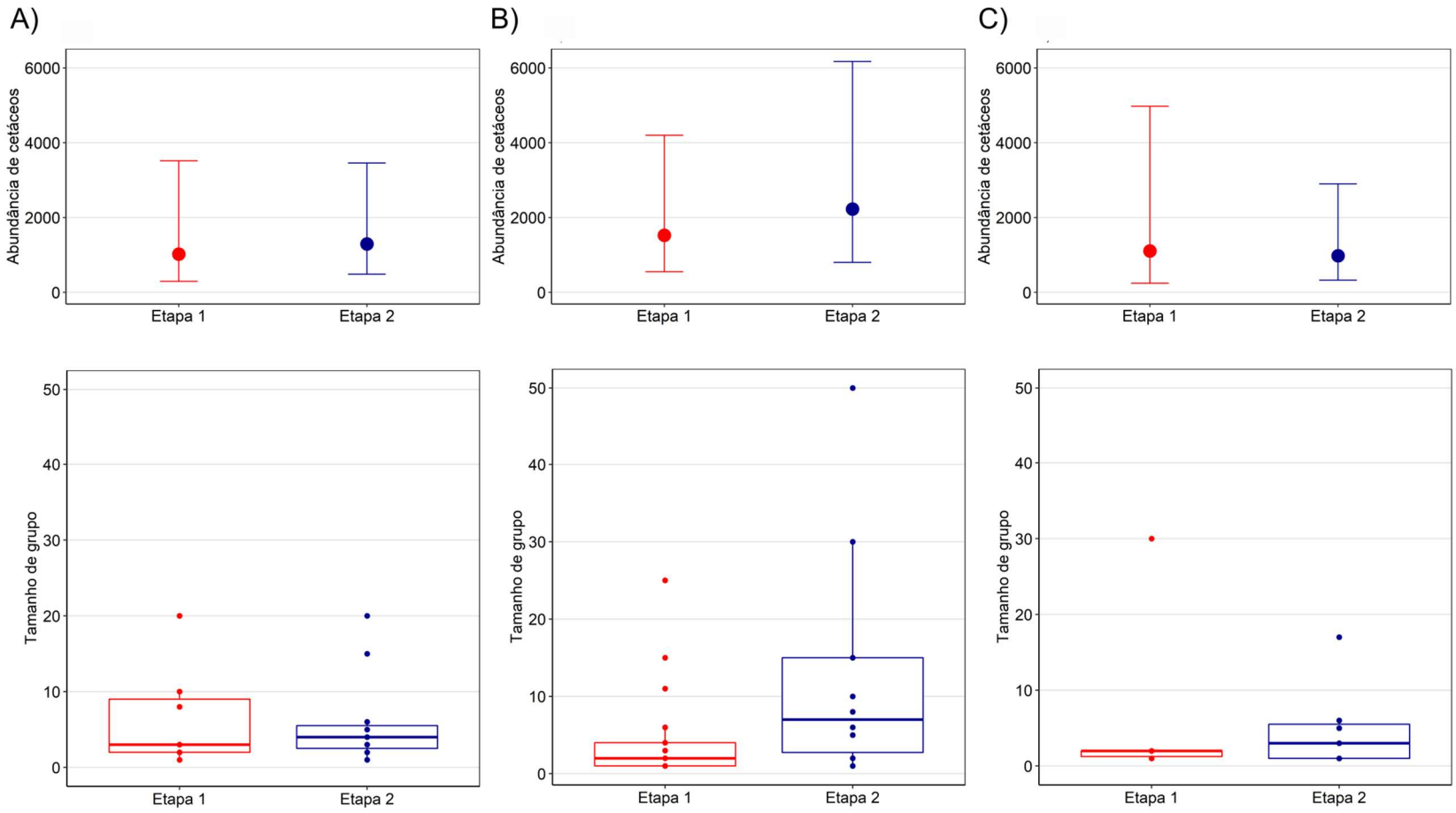


Figura V.4-47: *Estimativas de abundância de cetáceos e variação de tamanho dos grupos observados nas etapas 1(pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da A) 13ª, B) 14ª e C) 15ª Campanhas de Avistagem Aérea do PMC-BS, no entorno de Iracema, Itapu e Iara, respectivamente.*

Para a curva de detecção de delfinídeos, os valores de AIC indicaram que quatro modelos MRDS, tanto *point independence* quanto *full indenpendence,* suportaram bem os dados (Delta AIC < 2): os modelos de amostragem de distâncias com a função meia-normal sem variáveis explanatórias; e modelos marcação-recaptura com as diferentes covariáveis (**Tabela V.4-22**). Estes quatro modelos geraram estimativas bastante semelhantes. Como não é possível fazer uma média dos modelos MRDS, aqui estão apresentados os resultados do modelo mais simples dentre aqueles com Delta AIC < 2: modelo *full independence* amostragem de distâncias com a função meia-normal sem variáveis explanatórias e modelo marcação-recaptura com a covariável distância (**Figura V.4-47B**). A probabilidade de detecção na linha, combinada para os dois observadores, foi estimada em 0,969 (EP = 0,033; CV = 0,033).

Tabela V.4-22: *Modelos de detecção para delfinídeos na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos—área de pesquisa sísmica—ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike). PI = modelo point independence; FI = modelo full independence; MR = modelo de marcação-recaptura.*

Modelo	Delta AIC	AIC
FI_Nulo (meia normal); MR Distância	0,00	504,80
PI_Nulo (meia normal); MR Distância	0,46	505,27
PI_Nulo (meia normal); MR Observador	0,60	505,41
PI_Nulo (meia normal); MR Distância + Tamanho	1,95	506,76
PI_Tamanho (meia normal); MR Distância	2,04	506,84
PI_Nulo (taxa de risco); MR Distância	4,17	508,98

As estimativas de densidade e abundância para a família Delphinidae, a mais representativa dentre os cetáceos, foram semelhantes entre etapas nas campanhas 13 e 15 (**Figura V.4-48A e D**). Na 13ª campanha, a estimativa de densidade de delfinídeos no entorno de Iracema variou entre 0,039 indivíduos/km^2 (CV = 0,66; IC 95% = 0,010 – 0,150) na etapa 1 e 0,043 indivíduos/km^2 (CV = 0,54; IC 95% = 0,014 – 0,134) na etapa 2, enquanto a abundância variou entre 799 indivíduos (CV = 0,66; IC 95% = 209 – 3.049) na

etapa 1 e 882 indivíduos (CV = 0,54; IC 95% = 284 – 2.741) na etapa 2 (**Figura V.4-48A**). Na 15ª campanha, a estimativa de densidade de delfinídeos no entorno de Iara variou entre 0,032 indivíduos/km^2 (CV = 0,93; IC 95% = 0,006 – 0,170) na etapa 1 e 0,028 indivíduos/km^2 (CV = 0,61; IC 95% = 0,008 – 0,091) na etapa 2, enquanto a abundância variou entre 820 indivíduos (CV = 0,93; IC 95% = 154 – 4.366) na etapa 1 e 710 indivíduos (CV = 0,61; IC 95% = 215 – 2.341) na etapa 2 (**Figura V.4-48D**).

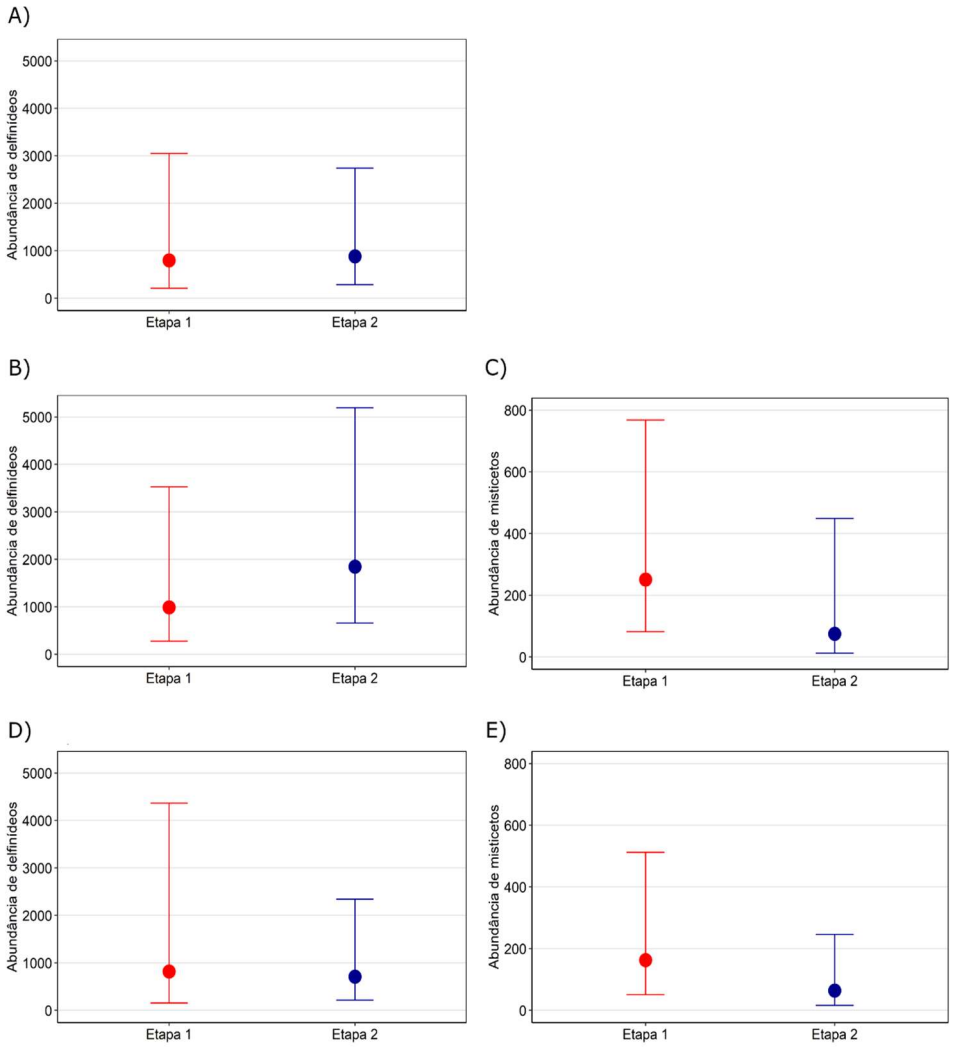


Figura V.4-48: *Estimativas de abundância de delfinídeos e misticetos nas etapas 1 (pré-sísmica) e 2 (durante a sísmica) da A) 13ª, B e C) 14ª e D e E) 15ª Campanhas de Avistagem Aérea do PMC-BS, no entorno de Iracema, Itapu e Iara.*

Ao passo que, na 14ª campanha, as estimativas foram maiores na etapa 2 do que na etapa 1, apesar do tamanho médio de grupo ter sido muito semelhante ($Média_{etapa1}$ = 12 e $Média_{etapa2}$ = 13). A densidade de delfinídeos no entorno de Itapu variou entre 0,053 indivíduos/km^2 (CV = 0,64; IC95% = 0,015 – 0,190) na etapa 1 e 0,099 (CV = 0,51; IC95% = 0,035 – 0,280) na etapa 2, enquanto a abundância variou entre 988 indivíduos (CV = 0,64; IC95% = 277 – 3.529) na etapa 1 e 1.847 indivíduos (CV = 0,51; IC95% = 657 – 5.197) na etapa 2 (**Figura V.4-48B**). As estimativas com maior coeficiente de variação, ou seja, menor precisão, são referentes às etapas com menor número de detecções, que variou entre 2 e 7 detecções por etapa.

Para a curva de detecção de misticetos, os valores de AIC indicaram que dois modelos MRDS *point Independence* suportaram bem os dados (Delta AIC < 2): os modelos de amostragem de distâncias com a função meia-normal sem variáveis explanatórias; e modelos marcação-recaptura com distância ou observador como covariáveis (**Tabela V.4-23**). Estes dois modelos geraram estimativas bastante semelhantes. Como não é possível fazer uma média dos modelos MRDS, aqui estão apresentados os resultados do modelo mais simples dentre aqueles com Delta AIC < 2: modelo amostragem de distâncias com a função meia-normal sem variáveis explanatórias e modelo marcação-recaptura com a covariável distância (**Figura V.4-46C**). A probabilidade de detecção na linha, combinada para os dois observadores, foi estimada em 0,977 (EP = 0,037; CV = 0,038).

Tabela V.4-22: *Modelos de detecção para misticetos na região oceânica e talude da porção norte da Bacia de Santos—área de pesquisa sísmica—ordenados pelo menor valor de AIC (Critério de Informação de Akaike). PI = modelo point independence; FI = modelo full independence; MR = modelo de marcação-recaptura.*

Modelo	Delta AIC	AIC
PI_Nulo (meia normal); MR Observador	0,00	494,32

Modelo	Delta AIC	AIC
PI_Nulo (meia normal); MR Distância	0,52	494,84
PI_Nulo (meia normal); MR Distância + Tamanho	2,23	496,55
FI_Nulo (meia normal); MR Distância	2,28	496,60
PI_Tamanho (meia normal); MR Distância	2,37	496,69

Na 13ª campanha, não foi observado nenhum grupo de misticeto no entorno de Iracema. Nas campanhas 14 e 15, as estimativas de misticetos foram maiores na etapa 1 do que na etapa 2 (**Figura V.4-45C** e **E**). Na 14ª campanha, a densidade de misticetos no entorno de Itapu variou entre 0,013 indivíduos/km^2 (CV = 0,57; IC 95% = 0,004 – 0,041) na etapa 1 e 0,004 indivíduos/km^2 (CV = 1,00; IC 95% = 0,001 – 0,024) na etapa 2. A abundância variou entre 251 indivíduos (CV = 0,57; IC 95% = 82 – 768) na etapa 1 e 75 indivíduos (CV = 1,00; IC 95% = 12 – 449) na etapa 2 (**Figura V.4-48C**). Na 15ª campanha, a densidade de misticetos no entorno de Iara variou entre 0,006 indivíduos/km^2 (CV = 0,60; IC 95% = 0,002 – 0,020) na etapa 1 e 0,002 indivíduos/km^2 (CV = 0,71; IC 95% = 0,001 – 0,010) na etapa 2. A abundância variou entre 163 indivíduos (CV = 0,60; IC 95% = 51 – 512) na etapa 1 e 64 indivíduos (CV = 0,71; IC 95% = 16 – 246) na etapa 2 (**Figura V.4-45E**). O número de detecções por etapa consideradas nas estimativas variou entre 2 e 6 detecções, influenciando a precisão das estimativas.

V.4.3.2.4 Discussão - Sobrevoos

As Campanhas de Avistagem Aérea do PMC-BS realizadas em duas réplicas nos Campos de Iracema, Itapu e Iara e seus entornos, antes e durante cada atividade de pesquisa sísmica, foram efetivas na coleta de dados. Através deste desenho amostral foi possível gerar as métricas de interesse (densidade populacional e distribuição) em dois momentos distintos, de ausência e presença de uma fonte sísmica na respectiva área de aquisição. Apesar disso, as campanhas trouxeram resultados ainda incipientes para qualquer conclusão

sobre efeitos da atividade sísmica sobre os cetáceos. Replicar esse desenho amostral em outros campos de pesquisa sísmica é fundamental e está previsto no Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS.

Com base no aprendizado obtido pela execução das duas primeiras campanhas de Avistagem Aérea do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, a coleta de dados na terceira campanha passou a ser realizada em linhas de transecção alternadas ao invés de contíguas, visando aumentar a aleatorização da coleta de dados e melhorar a cobertura espacial da área de estudo, especialmente do gradiente de distâncias a partir da fonte sísmica. Houve também uma pequena variação no espaçamento entre as linhas de transecção nas três campanhas (entre 10,5 e 16 km), uma vez que o esforço amostral total foi semelhante entre campanhas, porém o tamanho da área amostrada variou. No entanto, nas três campanhas, o espaçamento entre linhas atendeu o definido no Projeto Executivo do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS quanto ao espaçamento entre as linhas de transeção, isto é, que não exceda 20 km.

Para as estimativas de densidade de cetáceos, e principalmente delfinídeos e misticetos, foi fundamental a utilização dos dados pretéritos coletados em Campanhas de Avistagem Aérea do Ciclo de Curto Prazo, permitindo a construção das curvas de detecção. Estes modelos de detecção podem ser alimentados com novos dados e usados para a estimativa dos parâmetros demográficos, resultando em estimativas mais robustas. Entretanto, a precisão das estimativas ainda está pequena, com intervalos de confiança muito grandes e coeficientes de variação maiores que 40%. Com o esforço amostral das campanhas de Avistagem Aérea que foi planejado para o Ciclo de Médio Prazo, o número de detecções por etapa tem sido pequeno, influenciando diretamente a precisão das estimativas, assim como a eventual detecção de grupos grandes teve grande influência no tamanho médio de grupo por etapa. Portanto, vislumbra-se para a melhoria da precisão das estimativas, a incorporação de dados obtidos nas novas campanhas e o aumento do esforço amostral por campanha. Embora seja bastante razoável a

expectativa de que o aumento de esforço amostral gere um número maior de detecções e um coeficiente de variação com amplitude menor, não há como se ter garantias disso, tendo em vista a grande variação intrínseca destes dados de avistagem aérea (que pode ser corroborada pelos dados históricos do próprio PMC-BS). A grande variabilidade nos dados coletados nas Campanhas de Avistagem Aérea pode ser relacionada a fatores como sazonalidade, variação anual, aspectos oceanográficos dinâmicos e limitações da metodologia (faixa de amostragem por linha de transecção).

Nas três Campanhas de Avistagem Aérea, ambas as etapas foram realizadas em condições boas de visibilidade, assim como, a etapa 2 teve início poucos dias após o início da produção sísmica, e, portanto, apenas uma pequena parcela da área da atividade havia sido prospectada (**Figura V.4-46** e **Figura V.4-47**).

Além de estimativas para cetáceos, neste 8º Relatório Anual também foram apresentadas estimativas para a subordem Mysticeti e para a família Delphinidae, a mais representativa dentre os cetáceos, mesmo que o tamanho amostral ainda seja abaixo do ideal para modelar uma curva de detecção (no mínimo 60 detecções, BUCKLAND et al., 2001). O exercício aqui realizado foi feito na tentativa de aumentar a precisão das estimativas, uma vez que o processo de detecção desses dois grupos taxonômicos é diferente devido a diferenças no tamanho corporal, tamanho de grupo e comportamento dos animais, por exemplo, influenciando a sua visualização. Além disso, são grupos acusticamente diferentes e, por isso, podem apresentar respostas diferentes à atividade de pesquisa sísmica.

As estimativas de densidade e abundância, tanto para cetáceos em geral, quanto para delfinídeos, foram semelhantes entre etapas (antes e durante a sísmica) nas 13ª e 15ª Campanhas de Avistagem Aérea, que monitoraram o entorno de Iracema e Iara, respectivamente. Na 14ª Campanha de Avistagem Aérea, que monitorou o entorno de Itapu, as estimativas de cetáceos e delfinídeos foram maiores na etapa 2, durante a sísmica. O tamanho médio de grupo variou consideravelmente entre etapas na estimativa para cetáceos

($Média_{etapa1}$ = 5 e $Média_{etapa2}$ = 11), incluindo todas as detecções, porém, foi semelhante quando consideradas somente as detecções da família Delphinidae ($Média_{etapa1}$ = 12 e $Média_{etapa2}$ = 13).

Já as estimativas para os misticetos, foram menores na etapa 2, durante a sísmica, nas campanhas 14 e 15. Na campanha 14, essa diferença pode ser parcialmente explicada pelo fato dela ter tido início nos primeiros dias de outubro de 2022 (4 a 8/10/2022), já no final da temporada reprodutiva das baleias na costa brasileira e início da migração para as áreas de alimentação. Um intervalo de cerca de 40 dias entre etapas, portanto, influenciou as detecções de misticetos, pois grande parte das baleias já havia migrado quando a etapa 2 foi realizada (17 a 19/11/2022). Na etapa 1, as detecções de misticetos representaram metade do total dentro do buffer de 60 km, enquanto na etapa 2, a representatividade dos misticetos não chegou a 25% do total de detecções. Isso explica a diferença no tamanho médio de grupo entre etapas nas estimativas de cetáceos, já que os misticetos tendem a formar grupos menores do que os odontocetos, principalmente os delfinídeos. Além do atraso no início da etapa 2 por questões operacionais da sísmica, outro fator importante que pode ter influenciado a distribuição de cetáceos na 14ª Campanha foi a ocorrência de outra pesquisa sísmica (no Campo de Tupi) simultânea à pesquisa sísmica de Itapu e relativamente próxima, embora respeitando a distância mínima entre fontes ativas de 60 km. A 15ª Campanha ocorreu no outono, entre início de maio e início de junho de 2023, e teve simultaneidade com outra atividade de pesquisa sísmica, no Campo de Aram. Apesar desta Campanha de Avistagem Aérea não ter sido realizada no inverno, durante a temporada reprodutiva das baleias, foram feitas algumas detecções de misticetos. Porém, nas estimativas, foram consideradas somente as detecções dentro do buffer de 60 km e este número ficou ainda mais reduzido (3 detecções na etapa 1 – 7 a 13/05/2023 e 2 detecções na etapa 2 – 2 a 4/06/2023). Para minimizarmos possíveis fontes de variação na distribuição e abundância desses animais, continuar-se-á buscando que, em cada Campanha de Avistagem Aérea, os sobrevoos sejam agrupados em um

intervalo de aproximadamente quatro semanas e dentro de uma mesma estação, de preferência no inverno (temporada das grandes baleias), como definido no Projeto Executivo do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS. A realização das Campanhas de Avistagem Aérea depende da conciliação de diversos fatores, como a disponibilidade da aeronave, disponibilidade de profissionais para compor a equipe executora e as condições meteoceanográficas adequadas, tanto para a segurança da equipe e tripulação durante os sobrevoos, quanto para a possibilidade de detecção visual dos animais. Esses fatores, somados àqueles inerentes ao planejamento e à operação das atividades sísmicas podem facilmente ocasionar distanciamento no tempo entre a realização das etapas 1 (antes do início da prospecção sísmica) e 2 (durante a prospecção sísmica) das Campanhas de Avistagem Aérea, pois é comum haver postergações da data prevista para o início da prospecção sísmica e, logicamente, é necessário uma antecedência mínima para que se possa haver a mobilização de recursos e pessoal para realização destas campanhas.

Para minimizarmos outras possíveis fontes de variação na distribuição e abundância desses animais, continuar-se-á buscando que, em cada Campanha de Avistagem Aérea, os sobrevoos sejam agrupados em um intervalo de aproximadamente quatro semanas e dentro de uma mesma estação, de preferência no inverno (temporada das grandes baleias), como definido no Projeto Executivo do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS. A realização das Campanhas de Avistagem Aérea depende da conciliação de diversos fatores, como a disponibilidade da aeronave, disponibilidade de profissionais para compor a equipe executora e as condições meteoceanográficas adequadas, tanto para a segurança da equipe e tripulação durante os sobrevoos, quanto para a possibilidade de detecção visual dos animais. Esses fatores, somados àqueles inerentemente relacionados ao planejamento e à operação das atividades sísmicas podem facilmente ocasionar distanciamento no tempo entre a realização das etapas 1 (antes do início da prospecção sísmica) e 2 (durante a prospecção sísmica) das

Campanhas de Avistagem Aérea, pois é comum haver postergações da data prevista para o início da prospecção sísmica e, logicamente, é necessário uma antecedência mínima para que se possa haver a mobilização de recursos e pessoal para realização destas campanhas.

Na expectativa de obtenção de estimativas mais precisas de densidade e abundância, propõe-se um ajuste no desenho amostral, para aumento do esforço amostral em cada campanha, esperando-se como consequência um aumento no número de detecções por etapa. Ou seja, propõe-se aumentar o esforço amostral nas próximas campanhas de Avistagem Aérea do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, mediante o adensamento das linhas de transecção nas malhas amostrais, tanto na etapa 1 (antes do início da prospecção sísmica) quanto na etapa 2 (durante a prospecção sísmica) de cada campanha. O adensamento de linhas de transecção em uma malha amostral adotará como critério o espaçamento de cerca de 10 km entre linhas (menor que o espaçamento máximo definido no Projeto Executivo do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, de 20 km), melhorando a resolução amostral espacial. Propõe-se tal alteração já para a próxima Campanha de Avistagem Aérea, prevista para meados de 2024 e para a amostragem de sísmicas simultâneas, prevista para meados de 2025. Para esta última, propõe-se a realização de linhas de transecção paralelas em duas direções diferentes, visando uma maior amostragem da área de interesse (polígonos das aquisições sísmicas e corredor entre os polígonos das atividades).

Estas foram as primeiras Campanhas de Avistagem Aérea do PMC-BS realizadas com objetivo específico de avaliar possíveis impactos da atividade sísmica na ocorrência e distribuição dos cetáceos. Outras duas campanhas estão previstas para o Ciclo de Médio Prazo do PC-BS, incluindo a amostragem de sísmicas simultâneas. A partir das Campanhas de Avistagem Aérea, além das estimativas de densidade e abundância no entorno das atividades sísmicas, também será possível estimar a distância precisa entre as fontes sísmicas e cada avistagem de cetáceo, que será utilizada em análises complementares. A partir dos dados coletados durante os sobrevoos é possível

calcular a posição de cada avistagem, e sabendo a posição do navio fonte no momento de cada avistagem, é possível calcular a distância entre os dois pontos. Além disso, os sobrevoos são também utilizados nas análises retroativas utilizando a abordagem de buffers. Como são amostragens dedicadas, cobrindo exclusivamente o entorno da fonte sísmica, a contribuição destes sobrevoos para estas análises retroativas é valiosa. Em seguida, espera-se integrar na análise destes dados as informações sobre ruídos modelados das fontes sísmicas, com auxílio de dados coletados por *nodes* e *gliders*. No entanto, é importante salientar que nenhum único projeto, mesmo usando as abordagens mais inovadoras e com a máximo integração de diferentes dados será capaz de responder todas as questões sobre os possíveis efeitos de pesquisas sísmicas em cetáceos. Dessa forma, ao final do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, uma nova avaliação da pertinência da metodologia e adequação do desenho amostral deverá ser realizada. Essa avaliação deverá fornecer insumos para potenciais adaptações à metodologia e desenho amostral a serem adotados no Ciclo de Longo Prazo do PMC-BS, após discussão e aprovação pelo órgão ambiental.

V.4.3.3 Dados do glider no entorno de navios sísmicos

O PMPAS-BS incorporou em seus objetivos o monitoramento da sísmica, dentre outras atividades de E&P realizadas pela PETROBRAS na Bacia de Santos, desde 2022. Parte do escopo do Projeto de Verificação do Decaimento Sonoro *in situ*, que corresponde à condicionante específica 2.5 da Licença Prévia (LP) nº 654/2021 (Processo IBAMA 02001.012428/2019-39), que autoriza a Pesquisa Sísmica Marítima 4D Nodes e PRM na Bacia de Santos – Cluster e a condicionante específica das Licenças de Pesquisa Sísmica (LPS) das atividades sísmicas abrangidas pela LP citada acima, está sendo desenvolvido por meio do PMPAS-BS. Durante a realização da Atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 3D Nodes nos Campos de Tupi e Iracema, na

Bacia de Santos, o PMPAS-BS realizou o monitoramento do ruído irradiado pela fonte sísmica do navio SW Diamond no Campo de Tupi, através do *glider* de monitoramento específico.

Considerando o esforço de integração que vem sendo realizado entre os projetos, no sentido de potencializar ao máximo a utilização dos dados coletados pelo PMPAS-BS, contribuindo com o monitoramento e análise de impactos aos cetáceos que vem sendo realizado pelo PMC-BS, o presente capítulo se refere a um esforço exploratório para análise dos dados coletados durante as quatro primeiras campanhas de *glider* no entorno de projetos de sísmica do Cluster BS. O objetivo é realizar uma análise exploratória para identificar possíveis respostas comportamentais dos cetáceos, inferidas a partir da ocorrência de seus sinais acústicos, em função de variáveis relacionadas com a operação de canhões sísmicos, além de verificar a potencialidade do conjunto de dados para futuras análises mais robustas.

V.4.3.3.1 Obtenção e filtragem de dados

Os dados disponibilizados pelo PMPAS-BS foram obtidos durante a Pesquisa Sísmica Marítima 3D Nodes nos Campos de Tupi e Iracema, no âmbito das atividades do Cluster BS, mais especificamente no Campo de Tupi. Os dados são provenientes de 4 campanhas de monitoramento acústico por *glider* do PMPAS-BS, lançado especificamente para o monitoramento da atividade sísmica, compreendendo um período total de aproximadamente 140 dias, ocorridas entre 18 de junho e 9 de novembro de 2022 (**Figura V.4-49**).

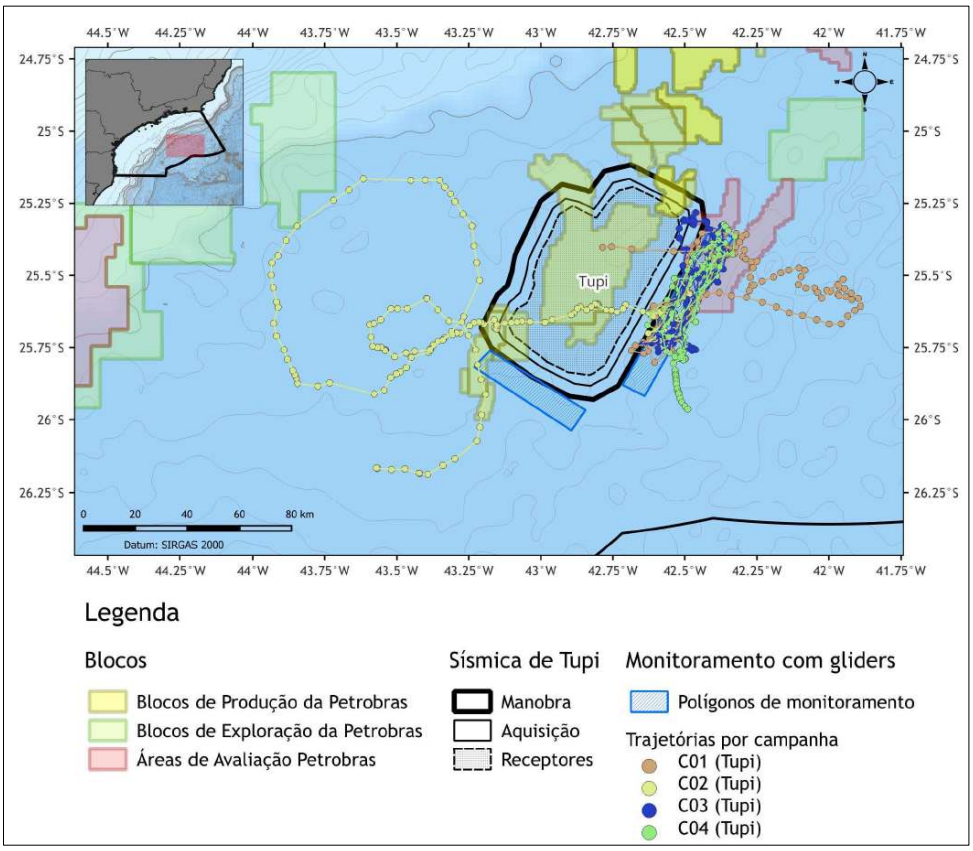


Figura V.4-49: *Trajetórias do glider de monitoramento específico da sísmica de Tupi durante as campanhas de glider C01 a C04 (18/06/2022 a 9/11/2022) do PMPAS-BS na Bacia de Santos (Fonte: IPqM e PETROBRAS, 2023).*

O *glider* do PMPAS-BS dedicado ao monitoramento da sísmica é equipado com um hidrofone de menor sensibilidade (-180 dB ref 1V/µPa) em relação aos

sensores utilizados nas demais atividades do projeto, evitando, assim, a saturação dos sinais quando o sensor está mais próximo da fonte. O *glider* executa mergulhos sucessivos de até 1000 m gravando continuamente durante a descida, tendo sido realizados uma média de 2 mergulhos com gravação por dia, o que resulta em cerca de 6 horas diárias de gravação acústica.

Os dados foram disponibilizados para análise no formato de planilhas. A primeira planilha continha informações minuto-a-minuto dos registros feitos pelo *glider* durante os mergulhos. Para cada minuto foram fornecidas as coordenadas geográficas, profundidade do *glider,* número da campanha de medição, o nível de ruído médio SPL (*sound pressure level*) integrando os filtros de 1/3 de oitava entre 5 e 250 Hz, a distância horizontal do *glider* em relação aos canhões de ar comprimido, e a indicação do status de operação sísmica. O status de operação sísmica foi definido em três categorias: 1) presença de disparos de produção, ou seja, disparos usados no processamento sísmico; 2) presença de disparos de ambientação, ou seja, disparos com aumento progressivo da energia com duração de cerca de 30 minutos, período denominado *ramp-up ou soft-start*; ou 3) ausência de disparos sísmicos. Os períodos com disparos de produção foram informados diretamente pela empresa de aquisição de dados (EAD) sísmicos, juntamente com a posição geográfica dos canhões. Para os demais períodos, as distâncias foram estimadas interpolando informações de posição próximas no tempo, ou seja, a distância do navio sísmico, quando este não estava em operação de produção, foi calculada considerando as distâncias anterior e subsequente disponíveis.

A segunda planilha continha os horários inicial e final dos trechos de detecções acústicas de cetáceos, correspondente às quatro campanhas de *glider* dedicadas. Os dados foram previamente processados pelo PMPAS-BS para detecção automática de sinais acústicos dos tipos assovios, gemidos e grunhidos, seguindo a metodologia padrão utilizada pelo projeto (para detalhamento dos métodos e parâmetros utilizados para detecção dos sinais

acústicos ver item ***V.4.4 Processamento dos dados do PMPAS-BS***). Foi realizada então a integração entre os dois conjuntos de dados, atribuindo-se a informação de presença (1) ou ausência (zero) dos sinais acústicos para cada minuto de monitoramento do *glider*. Os sinais dos tipos gemidos e grunhidos foram agrupados na categoria denominada “chamados”, pois ambos foram atribuídos a misticetos. A categoria de assovios, por sua vez, foi atribuída aos odontocetos da família dos delfinídeos.

V.4.3.3.2 Modelagem do efeito da sísmica sobre os cetáceos

A análise estatística dos efeitos da aquisição sísmica e variáveis associadas na presença de sinais acústicos de cetáceos foi realizada através de modelos lineares generalizados mistos (GLMM) com uma distribuição binomial de erros. Os modelos mistos são especialmente interessantes em um procedimento de modelagem, pois possibilitam a inclusão de variáveis de efeitos aleatórios e fixos simultaneamente, incorporando a correlação entre observações ou conjuntos amostrais (ZUUR et al., 2009). Os efeitos fixos são aqueles cuja magnitude e direção do efeito se deseja estimar, enquanto os efeitos aleatórios representam variações presumíveis, mas para as quais não se tem interesse na análise. Os modelos foram construídos usando o pacote ‘lme4’ (BATES et al., 2015) e todas as análises e gráficos foram elaborados usando o programa R (R CORE TEAM, 2023).

As variáveis resposta nos modelos foram a presença/ausência de sinais acústicos (assovios e chamados) de cetáceos, tendo como unidade amostral cada período com diferente status de operação sísmica, em cada hora de monitoramento. Estas variáveis respostas variam de forma linear em função de uma ou mais variáveis explanatórias (fixas). Buscando enfatizar a análise para o efeito dos canhões de sísmica em produção nessa fase preliminar, os períodos de *ramp-up* (12% do total de observações) não foram considerados. Como o número de minutos por observação amostral foi variável, essa informação (número de minutos por observação amostral) foi redimensionada para o intervalo de zero a 1 e inserida como um termo *offset* no modelo,

funcionando como um preditor linear estruturante do peso das observações (taxa de detecção de sinais em função do esforço amostral) e, portanto, não teve seu coeficiente estimado pelo modelo.

As variáveis explanatórias (fixas) analisadas foram: (1) mês como número contínuo, de 6 a 11; (2) mês como fator categórico; (3) hora do dia como fator categórico; (4) hora do dia com *spline* cúbico (possibilitando que a variável seja modelada de forma não linear, com até dois pontos de inflexão); (5) profundidade média do *glider*; (6) nível médio de ruído SPL; (7) nível máximo de ruído SPL; e (8) distância entre o glider e o canhão de ar (fonte sísmica). É importante mencionar que havia outras fontes de ruído, de outras atividades (IPqM e PETROBRAS, 2023) e a variável distância da fonte sísmica só levou em conta os disparos dos canhões do Campo de Tupi. Um *spline* introduz um polinômio de interpolação que possibilita que a variável resposta seja ajustada de forma não linear, seguindo um número de pontos de inflexões estabelecidos *a priori* (nesse caso cúbico = 3). Como variável aleatória nos modelos foi considerado apenas o dia. Embora houvesse outros blocos de dados a se considerar, como por exemplo a campanha, optou-se por não introduzir estruturas aninhadas com mais de um efeito aleatório, pois isso demandaria um conjunto mais robusto de dados para obter boas estimativas.

Dois conjuntos de modelos foram testados, um para assovios e outro para chamados, que representam, grosso modo, delfinídeos e misticetos, respectivamente. Os modelos foram construídos no modo *step-by-step*, onde a partir do modelo nulo apenas uma variável é adicionada por rodada. A cada rodada de inclusão de variáveis o modelo é selecionado com base no menor valor do Critério de Informação de Akaike (AIC) (BURNHAM; ANDERSON, 2002). A diferença no AIC do melhor modelo (Delta AIC = 0) para os outros modelos, que constitui o Delta AIC, determina quais modelos são mais plausíveis. Um Delta AIC de até dois indica os modelos que devem ser considerados como os melhores ou plausíveis. Pares de variáveis de natureza semelhante (variáveis 1 e 2; 3 e 4; 6 e 7) não foram incluídas simultaneamente

nos modelos, ou seja, após a seleção de uma das variáveis do par a outra foi descartada nas rodadas seguintes.

A validação dos modelos selecionados foi realizada para verificar o ajuste dos modelos aos dados (QQ-plot), a presença de valores extremos (outliers) e sobredispersão (excesso de variação não prevista pela distribuição), e para tanto foi utilizado o pacote 'Dharma" do R (HARTIG, 2022). Foram gerados gráficos dos valores preditos dos modelos em relação às variáveis selecionadas para visualização das principais relações observadas.

V.4.3.3.3 Resultados – glider no entorno de sísmica

O agrupamento dos dados de acordo com o dia, hora e status de operação sísmica, resultou em 1.274 observações para análise (desconsiderando os períodos de *ramp-up*), das quais 17% (n = 216) e 27% (n = 339) apresentaram a presença de assovios e chamados, respectivamente. O número de observações por status de operação sísmica e a média dos valores observados para as variáveis contínuas analisadas podem ser verificados na **Tabela V.4-23**.

***Tabela V.4-23**: Número de observações analisadas para cada tipo de sinal acústico de cetáceos e valores correspondentes de profundidade do glider, níveis de ruído subaquático e distância do canhão de ar na Bacia de Santos. (valores de média ± desvio padrão, mínimo–máximo)*

Operação sísmica	Sinal acústico	N	Profundidade média do *glider (m)*	Ruído médio (dB ref 1µPa²)	Ruído máximo (dB ref 1µPa²)	Distância do canhão de ar (km)
	Assovios					
Sem disparos	Ausente	605	**464** ± 312 0–948	**113,3** ± 4,3 103,8–142,7	**124,4** ± 8,9 105,7–143,4	**56** ± 32 5–149

Operação sísmica	Sinal acústico	N	Profundidade média do *glider (m)*	Ruído médio (dB ref 1µPa²)	Ruído máximo (dB ref 1µPa²)	Distância do canhão de ar (km)
	Presente	107	**444** ± 313 22–948	**113,6** ± 4,2 106,6–128,8	**127** ± 7,9 108,6–142	**55** ± 29 11–145
Disparos de produção	Ausente	453	**469** ± 309 0–947	**125,6** ± 3,9 111,8–138,8	**129,9** ± 4,8 111,8–144,7	**51** ± 23 5–128
	Presente	109	**466** ± 292 27–933	**126,5** ± 3,8 118–137,2	**130,7** ± 4,4 122–143,4	**46** ± 20 8–117
	Chamados					
Sem disparos	Ausente	510	**446** ± 312 0–948	**113,7** ± 4,7 105,7–142,7	**124,7** ± 8,8 106,6–143,4	**53** ± 26 5–149
	Presente	202	**500** ± 310 1–943	**112,6** ± 4,2 103,8–133,2	**125,1** ± 8,8 105,7–140,6	**64** ± 40 8–148
Disparos de produção	Ausente	425	**447** ± 331 0–947	**125,9** ± 3,9 111,8–138,8	**130,3** ± 4,8 111,8–144,7	**48** ± 21 5–124
	Presente	137	**537** ± 278 20–940	**125,5** ± 3,9 115–137,2	**129,2** ± 4,7 115–143,4	**54** ± 26 8–128

V.4.3.3.4 Modelagem para assovios

Foram construídos vinte e um modelos para a presença de assovios, presumivelmente de delfinídeos, ao longo dos mergulhos de amostragem do *glider* nas proximidades do campo de Tupi, na Bacia de Santos. Os dez modelos que melhor se ajustaram ao conjunto de dados podem ser observados na **Tabela V.4-24**. O melhor modelo (Delta AIC = 0) prevê uma relação de maior presença de assovios nos períodos crepusculares e com maiores níveis de ruído máximo no ambiente subaquático (**Figura V.4-50**). As análises gráficas de desvios residuais mostraram um bom ajuste do modelo aos dados e ausência de problemas relacionados com a sobredispersão, valores extremos e inflação de zeros.

Tabela V.4-24: *Modelos Generalizados Lineares Mistos (GLMM) para a presença de assovios de delfinídeos em dados coletados por* glider *no entorno do Campo de Tupi, na Bacia de Santos, durante a atividade de prospecção sísmica. Notação dos modelos: Hora_s = hora do dia com termo spline; Ruido_max = nível máximo de ruído SPL; Ruido_medio = nível médio de ruído SPL; D_sismica = distância entre o glider e o canhão de ar; Profu_media = profundidade média do glider; Mês_f = mês como fator categórico; Mes = mês como contínuo.*

Modelo	K	AIC	Delta AIC
Hora_s + Ruido_max	**6**	**1061,8**	**0,00**
Hora_s + Ruido_max + Mes_f	11	1062,3	0,53
Hora_s + Ruido_max + Mes	7	1062,4	0,61
Hora_s + Ruido_max + D_sismica	7	1063,2	1,43
Hora_s + Ruido_max + Profu_media	7	1063,5	1,59
Hora_s + Ruido_max + D_sismica	7	1063,6	1,75
Hora_s + Ruido_medio	6	1067,2	5,37
Hora_s + D_sismica	6	1071,5	9,69
Hora_s	5	1073,2	11,43
Hora_s + Mes	6	1074,2	12,36

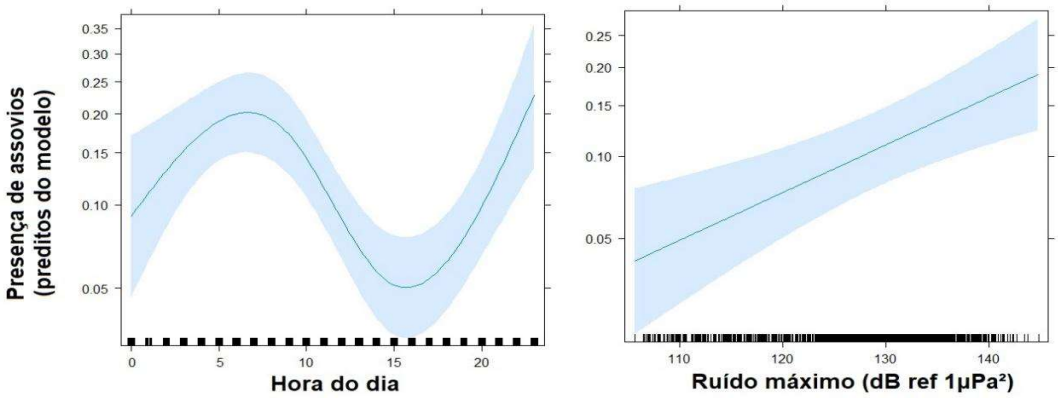


Figura V.4-50: *Presença de assovios de delfinídeos predita pelo melhor GLMM (modelo linear generalizado misto) em relação a hora do dia e níveis máximos de ruído subaquático, a partir de dados coletados por* glider *no entorno do campo de Tupi, na Bacia de Santos, durante a atividade sísmica.*

V.4.3.3.5 Modelagem para chamados

Foram construídos vinte e dois modelos para a presença de chamados, presumivelmente de misticetos, ao longo dos mergulhos de amostragem do *glider* nas proximidades do campo de Tupi, na Bacia de Santos. Os dez modelos que melhor se ajustaram ao conjunto de dados podem ser observados na **Tabela V.4-25**. O melhor modelo (Delta AIC = 0) prevê uma relação de maior presença de chamados quando o *glider* está posicionado em maiores profundidades, no período noturno e a maiores distâncias do canhão de ar (**Figura V.4-51**). As análises gráficas de desvios residuais mostraram um bom ajuste do modelo aos dados e ausência de problemas relacionados com a sobredispersão, valores extremos e inflação de zeros.

Tabela V.4-25: *Modelos Generalizados Lineares Mistos (GLMM) para a presença de assovios de delfinídeos em dados coletados por* glider *no entorno do Campo de Tupi, na Bacia de Santos, durante a atividade de prospecção sísmica. Notação dos modelos: Hora_s = hora do dia com termo spline; Ruido_max = nível máximo de ruído SPL; Ruido_medio = nível médio de ruído SPL; D_sismica = distância entre o glider e o*

canhão de ar; Profu_media = profundidade média do glider; Mes = mês como contínuo.

Modelo	K	AIC	Delta AIC
Profu_media + Hora_s + D_sismica	**7**	**1.248,7**	**0,00**
Profu_media + Hora_s + Mes	7	1.251,1	2,36
Profu_media + Hora_s	6	1.251,1	2,42
Profu_media + Hora_s + Ruido_medio	7	1.251,6	2,87
Profu_media + Hora_s + Ruido_max	7	1.251,6	2,93
Profu_media + D_sismica	4	1.252,1	3,41
Profu_media + Hora_s + D_sismica	7	1.252,8	4,07
Profu_media + Ruido_medio	4	1.254,3	5,58
Profu_media	3	1.254,8	6,05
Profu_media + Mes	4	1.254,9	6,16

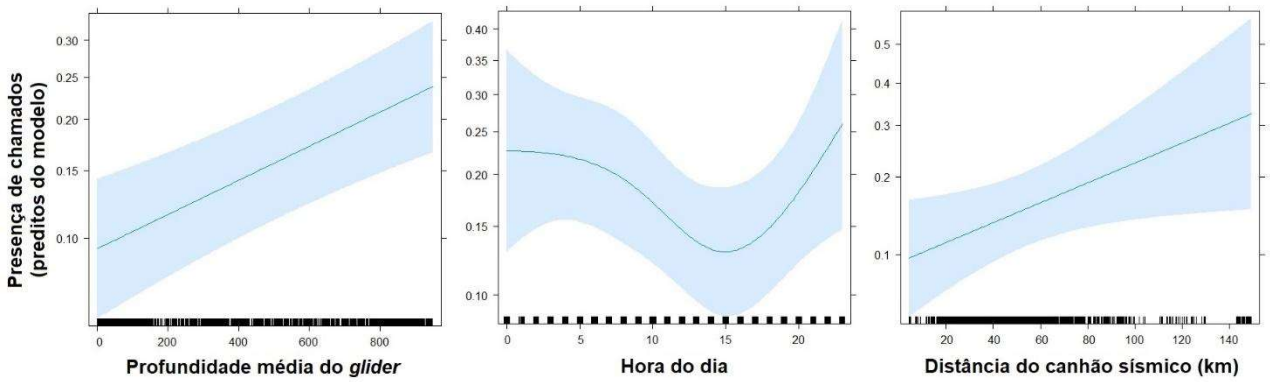


Figura V.4-51: *Presença de chamados de misticetos predita pelo melhor GLMM (modelo linear generalizado misto) em relação à profundidade média do glider, hora do dia e distância do canhão de ar, a partir de dados coletados por* glider *no entorno do campo de Tupi, na Bacia de Santos, durante a atividade sísmica.*

V.4.3.3.6 Discussão – glider no entorno de sísmicas

O conjunto de dados analisados se mostrou promissor para a modelagem da relação entre a presença de sinais acústicos de cetáceos e as variáveis ambientais e circunstanciais da coleta de dados, em especial ao que se refere ao monitoramento dos possíveis impactos das atividades de prospecção sísmica, uma vez que o conjunto de dados permite associar em uma fina escala temporal (minutos) o comportamento acústico dos cetáceos com variáveis relacionadas ao status da fonte da atividade sísmica, distanciamento entre o *glider* e a fonte sísmica e níveis de ruído ambiental recebido pelo *glider*. Mesmo com o agrupamento das observações amostrais em intervalos de uma hora, os modelos resultantes conseguiram acomodar bem a variação dos dados e forneceram estimativas satisfatórias dos parâmetros. Entretanto, é importante lembrar que as análises foram conduzidas de forma preliminar e apresentam uma série de limitações e, dessa forma, os resultados devem ser vistos e interpretados com cautela. Ainda assim, o exercício de análise piloto conduzido permitiu identificar possibilidades de abordagens futuras para o

processamento dos dados, além de fornecer indícios para a elaboração de hipóteses a serem exploradas.

Para os delfinídeos, foi observada uma maior presença de assovios nos períodos crepusculares, corroborando diversos estudos que demonstram um pico de atividade deste grupo nas horas do amanhecer e anoitecer, possivelmente relacionado com a disponibilidade de presas e atividade de forrageamento (DOLAR et al., 2003; ZEIN et al., 2019; CASCÃO et al., 2020). Também foi observado um aumento de assovios proporcional ao aumento dos níveis de ruído máximo no ambiente, o que contradiz alguns estudos que tem observado um efeito contrário (GORDON et al., 2004).

Para os misticetos, houve um aumento na presença de chamados quando o *glider* estava em maiores profundidades. Isto pode estar relacionado com a detectabilidade dos sinais acústicos de baixa frequência, como é o caso dos chamados de misticetos que têm um potencial de se propagar a distâncias muito maiores que os assovios. Também foi observado um aumento nos chamados durante a noite, indicando que este é o período de maior atividade das baleias, corroborando estudos que descrevem um padrão semelhante para baleias-jubartes (HOMFELDT et al., 2022), enquanto para outras espécies os padrões podem ser variados (SHABANGU et al., 2020; AULICH et al., 2023). É importante mencionar que o detector automático de vocalizações de misticetos utilizado possui limitações quanto a detectabilidade de diferentes espécies de baleias que ocorrem na Bacia de Santos. Provavelmente, a maior parte dos chamados registrados são de baleias-jubartes (*M. novaeangliae*), mas eventualmente também pode haver sinais de outras espécies. Houve um aumento na presença de chamados com o distanciamento do canhão de ar, que necessita de análises mais aprofundadas para uma melhor compreensão.

Não é possível inferir, no entanto, se o aumento ou diminuição da presença de assovios e chamados em relação a todas as variáveis mencionadas, reflete uma maior ou menor presença de indivíduos ou uma variação na taxa de emissão acústica. Uma exploração mais minuciosa, buscando acomodar os

dados para uma análise que use como variável resposta uma taxa de emissão acústica, auxiliará a dirimir as incertezas aqui levantadas e aprofundar a interpretação dos resultados.

A possibilidade de processamento dos dados do *glider* com a aplicação futura de classificadores espécie-específicos, que estão em desenvolvimento pelo PMC-BS, pode fornecer análises mais precisas e direcionadas para espécies. De qualquer forma, a categorização dos sinais acústicos em assovios e chamados (gemidos e grunhidos) demonstrou ser eficaz para a análise de padrões gerais direcionadas para os grandes grupos. A maior limitação nesse sentido é relacionada à ausência de detectores direcionados para os cliques (sinais pulsados), possibilitando a identificação da presença de odontocetos de maneira mais geral e, principalmente no que se refere aos grandes mergulhadores, como cachalote, kogídeos e zifídeos, os quais se presume grande potencial de impacto das operações sísmicas (GORDON et al., 2004; CASTELLOTE; LLORENS, 2016).

Diversas possiblidades de melhorias na análise foram identificadas, como inclusão de variáveis geomorfológicas e exploração de modelos com estruturas mais complexas, que acomodam melhor as relações não lineares entre as variáveis. O aumento no conjunto de dados, com a inclusão de novas campanhas do *glider*, incluindo outros meses e estações do ano, também possibilitará a realização de análises mais robustas.

V.4.3.4 Dados dos observadores de fauna em navios sísmicos

O monitoramento da biota marinha em navios de sísmica é uma importante ferramenta de mitigação de potenciais impactos de fontes sísmicas sobre os mamíferos marinhos. Os observadores de bordo do PMBM – Projeto de Monitoramento da Biota Marinha e operadores de monitoramento acústico passivo do PMAP – Projeto de Monitoramento Acústico Passivo, conseguem identificar a presença de cetáceos e quelônios (somente PMBM) muito próximos da fonte, e solicitar à equipe sísmica o desligamento da fonte até que

os animais detectados se afastem, para mitigação dos impactos da atividade. De acordo com o Guia de Monitoramento da Biota Marinha em Pesquisas Sísmicas Marítimas (IBAMA, 2018), a interrupção dos disparos dos canhões de ar se dará quando constatada a presença de algum cetáceo na área de exclusão de 1.000 metros das fontes sísmicas. Além da mitigação, os observadores a bordo de navios sísmicos coletam informações valiosas sobre a presença dos cetáceos em regiões pouco amostradas (BARRETO et al., 2020).

Neste item foram utilizados dados coletados durante o Projeto de Monitoramento da Biota Marinha (PMBM) em sísmicas realizadas pela PETROBRAS na Bacia de Santos em concomitância com amostragens de cetáceos realizadas pelo PMC-BS. Desta forma, cientes de que são plataformas amostrais com características e velocidades distintas, buscou-se integrar e comparar dados visuais sobre cetáceos. O presente capítulo traz uma primeira análise exploratória com dados visuais de três navios sísmicos que operaram na Bacia de Santos entre 2018 e 2023, procurando-se explorar as diferenças qualitativas na comunidade de cetáceos entre momentos com canhões de ar operando e momentos com os canhões de ar desligados, fora e dentro da área de exclusão, perto do navio (PMBM) e em uma região mais ampla no entorno da sísmica (PMC-BS). Com base nos padrões encontrados, discute-se preliminarmente a maior ou menor sensibilidade das espécies aos ruídos da sísmica, além de avaliar a utilização dos bancos de dados de observadores de biota marinha (PMBM) para investigar possíveis respostas à sísmica.

V.4.3.4.1 Material e Métodos – dados coletados em navios sísmicos

Os dados utilizados do PMBM foram provenientes de três projetos de sísmica, totalizando 175 dias de amostragem a bordo dos navios de sísmica e 305 grupos de cetáceos detectados visualmente (**Tabela V.4-26**). As coletas foram realizadas por observadores de bordo experientes em pontos altos dos navios sísmicos, utilizando um protocolo unificado de registros, conforme Guia

de Monitoramento da Biota Marinha (IBAMA, 2018). Para uma abordagem qualitativa da comunidade, organizou-se os dados como uma matriz de presença e ausência de espécies (colunas) em diferentes plataformas amostrais ou tratamentos/momentos (linhas).

Tabela V.4-26: *Número de dias amostrados e detecções de cetáceos em navios sísmicos da Bacia de Santos, durante o PMBM.*

Projeto	Período	Dias amostrados com detecções	Detecções de cetáceos
Búzios	22/10/2018 a 12/10/2019	116	200
Sapinhoá	02/06/2021 a 16/10/2021	43	72
Itapu	14/10/2022 a 20/01/2023	16	33
TOTAL Sísmica		**175**	**305**

Para a comparação da diversidade em uma área maior foram utilizadas amostragens do PMC-BS na região dos blocos do Pré-Sal e entorno, mesma região que as sísmicas foram realizadas. Para isto foram utilizados 54 dias de amostragem aérea e embarcada do PMC-BS no *buffer* de 100 km de sísmicas ativas na Bacia de Santos entre 2015 e 2023 (PETROBRAS, 2023).

Para as análises utilizou-se uma abordagem de comparação com índices de diversidade beta, que são usados para medir a diversidade biológica entre duas áreas. Com o índice é possível medir a diversidade beta total como resultante de dois processos, a substituição (*turnover*) e aninhamento (*nestedness*). Maior aninhamento significa que uma amostra é subconjunto de outra amostra mais diversa. Maior substituição significa que o conjunto de espécies de uma área mais diversa é diferente de outra área.

O índice de dissimilaridade de Sorensen foi utilizado para os cálculos da beta diversidade. Os gráficos, índices e análises estatísticas foram feitos no programa R (R CORE TEAM, 2023).

V.4.3.4.2 Resultados – monitoramento da biota em navios sísmicos

Foram observadas 13 espécies de cetáceos a bordo dos navios sísmicos, espécies típicas do talude, platô oceânico e espécies com plasticidade ambiental (ver item **V.2.1 Habitats dos cetáceos na Bacia de Santos**). A maioria destas avistagens ocorreu em águas mais profundas, entre 1.700 e 2.000 metros, onde os projetos de sísmica foram realizados.

A espécie mais observada durante os monitoramentos da biota marinha em navios sísmicos foi a baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*), tanto com a fonte sísmica desligada quanto ligada (**Figura V.4-52**). Durante a fonte sísmica ligada foram registradas cerca de 70% mais baleias do que quando a fonte estava desligada, mas sem uma padronização amostral qualquer comparação fica limitada. Em contraste, espécies como o golfinho-de-Risso (*Grampus griseus*), baleia-piloto (*Globicephala* sp.) e os delfinídeos de uma forma geral foram observados mais vezes quando a fonte sísmica estava desligada. Os outros táxons tiveram uma frequência de avistagem muito baixa, que impede a definição de qualquer padrão em relação ao status da fonte sísmica.

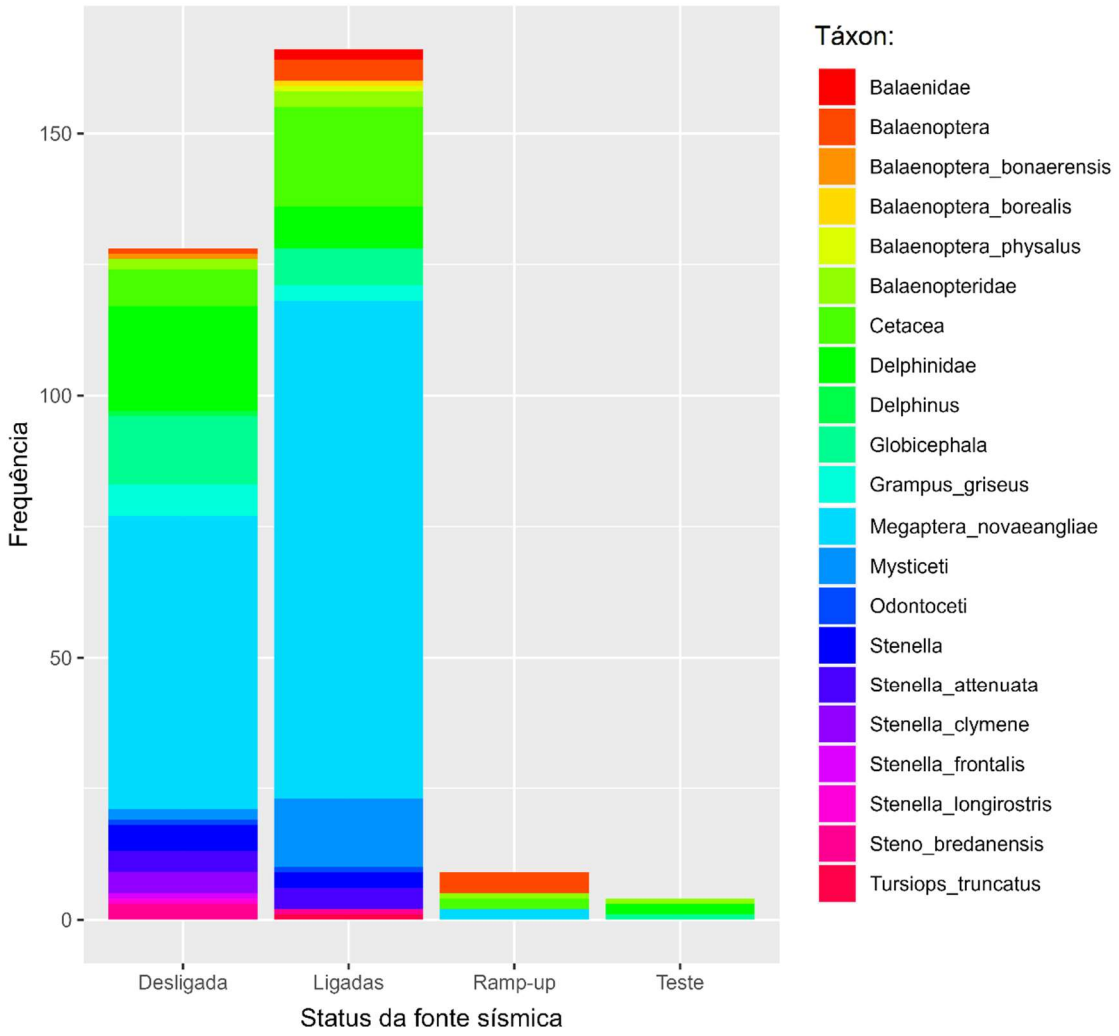


Figura V.4-52: *Frequência de grupos dos táxons de cetáceos avistados a partir do navio sísmico em relação ao status da fonte sísmica (desligada ou ligada). Ligadas = fontes sísmicas ligadas em potência alta; Ramp-up = fonte em procedimento de aumento gradual, com frequência e potência aumentando gradualmente; Teste = testes dos canhões de ar, com disparos ocasionais.*

Em relação à área de exclusão, a composição taxonômica das avistagens fora da mesma apresentou menor resolução, com menos táxons identificados em nível de espécie ou gênero (**Figura V.4-53**). Ao todo, foram identificadas sete espécies de cetáceos que se aproximaram das fontes sísmicas ligadas e motivaram o desligamento delas para mitigação (dos 305 grupos detectados,

76 (24,9%) motivaram o desligamento das fontes sísmicas). Apesar da baleia-jubarte ter sido avistada mais frequentemente fora da área de exclusão do que dentro, esta foi a espécie que mais adentrou a área de exclusão e que mais motivou o desligamento da fonte por entrar na área de exclusão com a fonte operando, com 42 ocorrências (54,5%) durante o monitoramento dos três projetos analisados. A segunda espécie que mais motivou desligamento da fonte sísmica foi a baleia-piloto (*Globicephala* sp.), com 8 desligamentos, e delfinídeos não identificados, com 6 desligamentos.

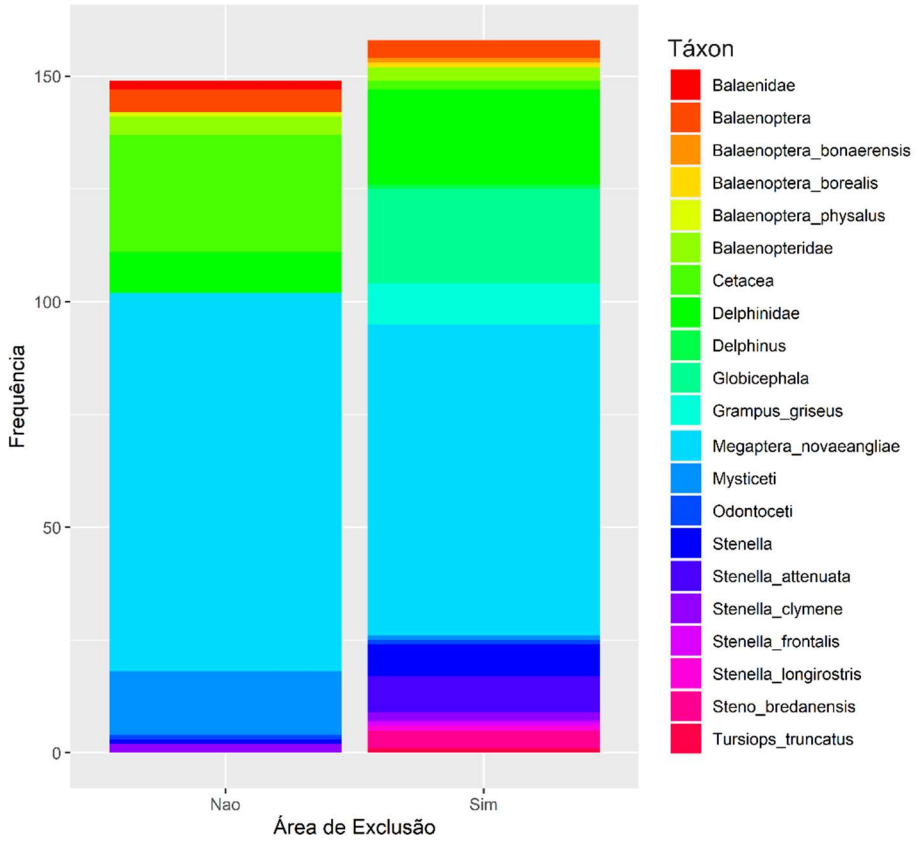


Figura V.4-53: *Observações dos táxons de cetáceos avistadas pelo PMBM a partir do navio sísmico em relação a área de exclusão de 1.000 metros da fonte sísmica.*

Onde houve um maior esforço amostral, como no Campo de Búzios, foi possível fazer uma comparação dos dados coletados no navio sísmico e nas

amostragens aéreas e embarcadas do PMC-BS. Houve diferença na diversidade beta entre as amostragens no navio sísmico e PMC-BS, e se deu por substituição de espécies (*turnover*) (**Figura V.4-54**). Dividindo as amostragens do PMBM em dados com a fonte sísmica ligada e desligada, repete-se o padrão de substituição de espécies, mas desta vez entre os três tipos de amostragens consideradas (**Figura V.4-55**).

Figura V.4-54: *Representação da análise de diversidade beta utilizando o Índice de Dissimilaridade de Sorensen entre Búzios sísmica (PMBM) e Búzios PMC-BS.*

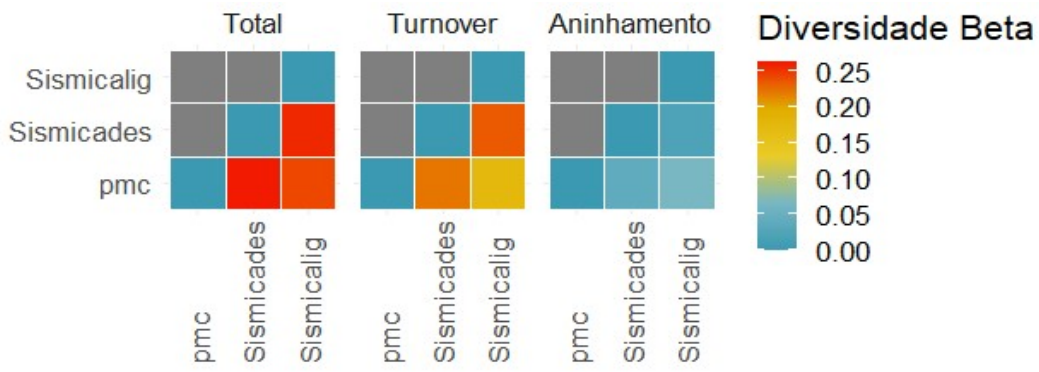


Figura V.4-55: *Representação da análise de diversidade beta com Índice de Dissimilaridade de Sorensen entre Búzios sísmica (PMBM) e Búzios PMC-BS. Status da fonte sísmica:* ***Sísmicades*** *- fonte sísmica desligada;* ***Sismicalig*** *- fonte sísmica ligada.*

V.4.3.4.3 Discussão – monitoramento da biota em navios sísmicos

Os dados coletados em navios de sísmica fornecem importantes informações sobre a fauna de cetáceos que está exposta aos ruídos da atividade na Bacia de Santos. Nos três projetos analisados, as sísmicas foram realizadas em águas profundas, com ocorrência de uma fauna de cetáceos de águas do platô oceânico, talude e espécies com plasticidade de uso de habitat, em especial a baleia-jubarte. Ressalta-se também que este monitoramento efetivamente atua na mitigação de efeitos das fontes sísmicas sobre cetáceos, pois foram registradas diversas interrupções dos canhões de ar por conta de grupos de cetáceos que adentraram a zona de exclusão durante a operação.

Os dados são valiosos, porém, devem ser interpretados com cautela por diferentes motivos. Um deles é que nem sempre existe controle da qualidade dos dados coletados a bordo dos navios sísmicos, o que aumenta a incerteza quanto às identificações taxonômicas. Os dados fora da área de exclusão (mais distantes que 1.000 metros da fonte sísmica) têm menor resolução taxonômica, ocasionando um viés para as identificações mais próximas do navio sísmico. A menor velocidade do navio sísmico (aproximadamente 3 nós) em comparação ao navio de pesquisa do PMC-BS (cerca de 7 nós), favorece uma amostragem mais abrangente espacialmente neste último, enquanto na sísmica o monitoramento é mais estacionário, permanecendo mais tempo e continuamente numa determinada área. Enfim, ao comparar os dados dos navios sísmicos com os dados do PMC-BS, outra diferença é o esquema de observação, pois os observadores de bordo em navios sísmicos monitoram em pares e no PMC-BS são três observadores em rodízio com mais dois observadores em descanso.

Dadas algumas incertezas e limitações dos métodos citadas acima, qualquer especulação sobre potenciais interferências da sísmica para a maioria das espécies ainda fica bastante limitada, especialmente para aqueles táxons pouco amostrados. Entretanto, vale uma breve discussão dos resultados encontrados para pelo menos três espécies mais recorrentes e com padrões divergentes em relação à atividade da fonte sísmica.

A baleia-jubarte foi a espécie mais observada em navios sísmicos e é bastante frequente na Bacia de Santos nas estações frias (PETROBRAS, 2023), utilizando águas da plataforma continental para reprodução enquanto seu corredor migratório cruza as regiões oceânicas (ZERBINI et al., 2006). Dada a sua abundância na área, os encontros de navios sísmicos com grupos desta espécie foram os mais comuns, resultando em diversos desligamentos da fonte sísmica. A baleia-jubarte também é uma espécie com características bem distintas que podem ser facilmente identificadas em campo e junto com seu grande tamanho e comportamento aéreo frequente a tornam uma espécie bem amostrada. O fato das baleias-jubarte aproximarem-se de fontes sísmicas ligadas, pode representar a grande variabilidade individual e plasticidade comportamental da baleia-jubarte, muitas vezes se aproximando de embarcações de diferentes tamanhos (MARICATO et al., 2022).

Em contraste com a baleia-jubarte, outras duas espécies que valem menção são delfinídeos oceânicos de grande porte que realizam mergulhos para capturar suas presas epipelágicas, geralmente lulas. O golfinho-de-Risso (n = 9) e a baleia-piloto (n = 21) foram observados com menor frequência durante momentos com a fonte sísmica ligada (33% das detecções do golfinho-de-Risso e 38% das detecções da baleia-piloto) em relação à fonte sísmica desligada, o que poderia sugerir alguma reação comportamental de afastamento destas espécies dos ruídos da sísmica. A grande diversidade de delfinídeos presentes na Bacia de Santos e a possibilidade de observar-se respostas espécie-específicas, ou mesmo variações de respostas dentro de uma mesma espécie (respostas individuais), torna o estudo destas reações ainda mais desafiador.

Em termos de diversidade beta, os dados evidenciam a substituição de espécies em diferentes amostragens, incluindo PMC-BS, sísmica desligada e ligada. Poderia ser interpretado como reações espécie-específicas, mas também pode ser influenciado pelo baixo “n” amostral verificado para a maioria dos táxons, especialmente nas amostragens a bordo dos navios sísmicos. Portanto, as análises apresentadas aqui devem ser aprofundadas com a

inclusão de dados de outros projetos de monitoramento da biota marinha a bordo de navios sísmicos e aprofundamento das análises com espécies mais representadas na amostragem. Com mais dados e análises mais detalhadas, será possível obter informações a respeito de possíveis efeitos da sísmica sobre a comunidade de cetáceos da Bacia de Santos.

V.4.4 Processamento dos dados do PMPAS-BS

O Projeto de Monitoramento da Paisagem Acústica Submarina da Bacia de Santos (PMPAS-BS), assim como o PMC-BS, é executado para atender a demanda dos processos de licenciamento ambiental da PETROBRAS. O objetivo do PMPAS-BS é caracterizar a paisagem acústica submarina e monitorar os níveis de ruído subaquático na Bacia de Santos, incluindo regiões costeiras, áreas de exploração e produção da PETROBRAS, rotas de navegação e áreas controle. Além disso, os objetivos do PMPAS-BS passaram a incorporar as atividades de sísmica da PETROBRAS. O projeto avalia desde novembro de 2015 a intensidade de ruídos antropogênicos no ambiente por meio de medições acústicas usando equipamentos fixos (observatórios submarinos – OS e linhas de fundeio instrumentadas – LFI) e móveis (veículo submersíveis autônomos do tipo *glider* - **Figura V.4-56,** e perfilador acústico de livre deriva).

Figura V.4-56: *Dispositivo de navegação submersível autônoma do tipo glider, que pode ser equipado com um gravador para monitoramento acústico passivo, igual ao utilizado pelo PMPAS-BS para a obtenção de dados da paisagem acústica da Bacia de Santos. (Crédito da imagem: Paul Allen Philanthropies)*

Outro objetivo do PMPAS-BS é subsidiar estudos e pesquisas sobre a biota marinha e possíveis impactos provenientes das atividades de exploração e produção de óleo e gás da PETROBRAS na região. Assim, um esforço de integração entre os projetos PMC-BS e PMPAS-BS tem sido realizado no sentido de: (1) complementar dados bioacústicos de cetáceos na Bacia de Santos para a análise de repertórios acústicos e desenvolvimento de classificadores automatizados espécie-específicos; (2) aplicar os dados modelados dos níveis de ruído subaquático na paisagem acústica nas análises de uso de habitat e distribuição de cetáceos conduzidos pelo PMC-BS (ver PETROBRAS, 2023); e (3) analisar os impactos das atividades de prospecção sísmica sobre os cetáceos utilizando dados de *gliders* dedicados em campanhas sísmicas da PETROBRAS (ver ***V.4.3 Atividades sísmicas e cetáceos***).

Os dados fornecidos pelo PMPAS-BS para o PMC-BS incluem três instrumentações que captam e armazenam os dados de áudio: observatórios submarinos (OS) localizados na Baía de Guanabara, Baía de Ilha Grande, Canal de São Sebastião e Ilhas Cagarras; linhas de fundeio instrumentadas (LFI) com dados coletados a 50, 200 e 900 m de profundidade em áreas oceânicas; e campanhas com *gliders*, que são controlados remotamente por satélite, podem mergulhar a profundidades de até 1.000 metros, seguir rotas programadas pelo usuário e coletar continuamente dados oceanográficos, além de conduzir equipamento para o monitoramento acústico passivo.

No 7º Relatório Anual do PMC-BS foi realizada uma análise crítica das possíveis aplicações e potencial de uso destes conjuntos de dados para o desenvolvimento de análises. Foi observado que a ocorrência de ruídos é um fator limitante para a identificação dos sinais de cetáceos em LFI e OS, devido aos métodos de fixação dos equipamentos ou às regiões mais ruidosas em que estes instrumentos são utilizados. A conclusão foi que o uso dos *gliders* é mais vantajoso na obtenção de gravações acústicas com qualidade elegível para detecção e classificação de misticetos e, portanto, os esforços seriam direcionados para esses dados.

Assim, a presente sessão do relatório é dedicada ao primeiro objetivo estabelecido entre os projetos, e apresenta os avanços no processamento de dados e desenvolvimento de classificadores a partir dos dados disponibilizados pelo PMPAS-BS, referentes as campanhas de *glider* do primeiro ciclo do projeto. As análises foram direcionadas principalmente para a identificação de sinais acústicos de misticetos, uma vez que nas campanhas de Avistagem Embarcada e MAP executadas pelo PMC-BS, não é possível fazer o registro das vocalizações da maioria das espécies deste táxon, pois são mascaradas pelo ruído da embarcação utilizada nas coletas de monitoramento acústico passivo. Mais especificamente, o PMC-BS tem dedicado esforços neste último ano, a partir dos dados de *glider* do PMPAS-BS, para finalização das identificações de vocalizações em trechos de 1 min das campanhas do primeiro ciclo do PMPAS-BS (novembro/2015 a dezembro/2021), e

desenvolvimento de classificadores espécie-específicos, com foco inicial na baleia-sei (*Balaenoptera borealis*).

V.4.4.1 Detecção de cetáceos em dados de glider

Os dados acústicos coletados pelos *gliders* são previamente processados pela equipe do PMPAS-BS para detecção dos sinais de baixa e média frequências, utilizando detectores de assovios e gemidos (*whistles* e *moans*) do programa PAMGUARD.

O detector de assobios cria espectrogramas com FFT de 2048 pontos (resolução de 62,5 Hz, aproximadamente 16 ms) e overlap de 50% (avanço de aproximadamente 8 ms). Em cada espectro, é feita a detecção de picos com SNR > 4 dB e estes picos são combinados com os picos obtidos em espectros adjacentes, para formar contornos, ou linhas, que é o resultado da detecção. A faixa de frequência pesquisa é de 2 a 62,5 kHz.

O detector de gemidos primeiro reduz a frequência de amostragem do sinal para 6 kHz. A seguir, cria espectrogramas com FFT de 1024 pontos (resolução de 5,86 Hz, aproximadamente 171 ms) e overlap de 94% (avanço de aproximadamente 10,7 ms). Em cada espectro, é feita a detecção de picos com SNR > 6 dB e estes picos são combinados com os picos obtidos em espectros adjacentes, para formar contornos, ou linhas, que é o resultado da detecção. A faixa de frequência pesquisa é de 50 Hz a 3 kHz.

Os trechos com maior presença de sinais acústicos presumidamente de cetáceos foram extraídos em arquivos independentes e foram feitos recortes de 1 min dos trechos, sendo que os recortes possuem função principal de exemplificar e ilustrar os sinais acústicos presentes da detecção. O número de recortes de 1 min foi variável para cada trecho de detecção, sem que houvesse um critério objetivo para isso. E, ainda, foi realizado de forma que buscou fornecer amostras o mais representativas possíveis, proporcional à duração e à densidade de sinais acústicos presentes. Assim, foi fornecido ao PMC-BS

para análise, tanto os trechos completos das detecções, quanto os recortes de 1 min, para fins de validação e classificação ao menor nível taxonômico possível. Os dados foram fornecidos junto com planilhas de esforço, coordenadas geográficas e profundidade do *glider*, assim como também uma tabela com o sumário das detecções.

V.4.4.1.1 Identificação e sazonalidade de grandes cetáceos

Neste relatório foram processados e analisados trechos de 1 minuto disponibilizados pelo PMPAS-BS da 39ª a 51ª campanha de *gliders*, correspondentes ao período de janeiro de 2020 a novembro de 2021. A identificação e validação das detecções foram focadas, principalmente, nas espécies de misticetos, mas também em cachalotes. Para a baleia-sei, que não havia sido avaliada a ocorrência de vocalizações nas campanhas anteriores, todas as campanhas foram revistas em buscas de registros da ocorrência da espécie. Foi analisado um total de 43 campanhas, incluindo as campanhas que já haviam sido processadas no último ano. Para algumas campanhas, houve problemas na obtenção dos dados acústicos e, por isso, esse não é o número total de campanhas realizadas, mas sim, o total de campanhas com dados acústicos disponíveis. De forma cumulativa com o período anterior, foi totalizado 1.581 dias de coleta e 22.366 km percorridos pelo *glider*. Um total de 8.643 horas de gravação foi obtido, dos quais foram selecionadas 2.515 amostras de 1 minuto disponibilizadas para análise pelo PMC-BS. O detalhamento dos períodos amostrais e dados coletados nas campanhas de *gliders* podem ser observados na **Tabela V.4-27**.

Tabela V.4-27: *Detalhamento do esforço amostral dos* gliders *realizado pelo PMPAS-BS até a 51ª Campanha. A tabela mostra na última coluna o número de amostras de 1 minuto fornecidas para análise pelo PMC-BS.*

Ciclo	Glider	Início	Fim	Dias de coleta	Distância percorrida (km)	Merg.	Merg. / dia	Merg com gravação	Tempo de gravação (horas)	Arquivos recebidos para análise
1º	SG618	10/11/2015	20/12/2015	39	725	331	9	187	262	38
2º	SG618	08/01/2016	02/02/2016	25	444	214	8	48	54	1
3º	SG612	02/02/2016	20/04/2016	79	1324	644	8	159	244	14
5º	SG612	07/07/2016	16/08/2016	40	468	234	6	75	186	49
6º	SG612	16/08/2016	16/09/2016	32	411	136	4	60	173	55
7º	SG612	16/09/2016	15/10/2016	30	561	126	4	58	166	75
8º	SG612	21/10/2016	20/11/2016	31	291	133	4	54	167	41
9º	SG612	20/11/2016	11/01/2017	53	613	219	4	108	312	64
10º	SG612	14/01/2017	16/02/2017	34	395	153	5	39	105	10
11º	SG569	17/02/2017	24/03/2017	36	601	262	7	76	215	22
12º	SG570	24/03/2017	30/04/2017	38	748	301	8	90	178	11
15º	SG571	03/06/2017	12/07/2017	39	548	163	4	78	232	41
16º	SG612	12/07/2017	16/08/2017	36	406	152	4	71	206	96
17º	SG612	17/08/2017	04/10/2017	49	479	202	4	101	286	205
18º	SG612	04/10/2017	28/10/2017	25	234	100	4	52	145	90
19º	SG571	29/10/2017	09/12/2017	42	520	175	4	90	255	153
20º	SG612	10/12/2017	20/01/2018	42	440	193	5	99	238	50
21º	SG612	20/01/2018	22/02/2018	33	422	160	5	99	182	30
22º	SG612	22/02/2018	05/04/2018	43	297	182	4	70	170	51
24º	SG612	22/05/2018	06/07/2018	46	444	190	4	80	266	71
25º	SG612	06/07/2018	22/07/2018	17	252	76	5	97	94	41
27º	SG657	29/08/2018	03/10/2018	36	493	335	9	87	61	49
28º	SG656	03/10/2018	14/11/2018	43	709	430	10	107	260	55
29º	SG657	13/11/2018	23/12/2018	41	573	256	7	151	121	33
30º	SG657	28/12/2018	05/01/2019	9	148	48	1	28	64	4
31º	SG657	10/02/2019	14/03/2019	33	743	303	34	72	300	14
32º	SG656	23/03/2019	01/05/2019	40	703	489	15	87	279	13
34º	SG656	29/06/2019	31/07/2019	33	413	130	4	75	339	134
35º	SG657	19/08/2019	28/08/2019	27	339	124	5	59	164	152
36º	SG656	04/09/2019	10/10/2019	37	640	238	6	99	221	245
37º	SG657	15/10/2019	30/11/2019	47	638	246	5	97	237	58

Ciclo	Glider	Início	Fim	Dias de coleta	Distância percorrida (km)	Merg.	Merg. / dia	Merg com gravação	Tempo de gravação (horas)	Arquivos recebidos para análise
38º	SG657	02/12/2019	31/12/2019	31	328	199	6	69	192	38
39º	SG657	02/01/2020	16/02/2020	46	624	176	4	91	365	23
40º	SG657	18/02/2020	19/03/2020	31	456	113	4	61	193	11
41º	SG657	25/03/2020	13/04/2020	20	78	68	3	40	122	9
43º	SG657	02/08/2020	08/08/2020	7	53	28	4	14	39	42
44º	SG657	04/09/2020	27/09/2020	24	588	129	5	51	114	88
45º	SG657	22/10/2020	09/12/2020	49	1.030	287	6	111	250	93
46º	SG657	15/12/2020	29/01/2021	46	674	213	5	94	236	19
47º	SG657	09/02/2021	18/03/2021	37	751	191	5	76	196	23
48º	SG657	14/04/2021	27/05/2021	43	481	151	4	80	214	23
49º	SG657	27/05/2021	06/07/2021	40	405	187	5	82	228	48
51º	SG656	12/09/2021	04/11/2021	53	878	296	6	135	312	133
			Média	**36,8**	**520,1**	**208,9**	**6,1**	**82,7**	**201,0**	**58,5**
			Tota	**1.581,3**	**22.365,9**	**8.983,0**	**261,7**	**3.557,0**	**8.643,0**	**2.515,0**

Os dados foram processados através de gráficos do espectro médio de longa duração (*long-term spectral average* – LTSA) gerados para o conjunto de amostras de cada uma das campanhas de *glider*. Um LTSA é essencialmente um espectrograma que mostra períodos particularmente longos, possibilitando resumir amostras de dados acústicos coletados em longa duração, como dias ou até meses. Nessa representação, diversos arquivos .wav são representados sequencialmente e pode-se observar a variação da energia sonora ao longo do tempo, permitindo identificar com maior agilidade e precisão os períodos com a maior presença de sinais de interesse. Os LTSAs foram calculados usando resolução de tempo de 1 segundo e resolução de frequência de 1 Hz. Uma alta resolução de frequência e tempo foi usada para identificar todos os tipos de sinais presentes nos dados. O LTSA foi gerado no programa Triton (WIGGINS et al., 2010), escrito em MatLab. Os gráficos foram inspecionados visualmente por um analista

experiente para a identificação e classificação manual de cada tipo de sinal detectado.

Para corroborar a correta detecção e classificação dos sinais acústicos e atribuí-los a uma espécie de cetáceo, foi utilizado o banco de dados acústico do PMC-BS (Sonoteca) e do acervo de referência de sons bióticos e abióticos do *Ocean Acoustics Laboratory* (Alfred Wegener Institute), parceiro do PMC-BS. A validação dos sinais foi feita de forma aural e visual no programa RAVEN 1.5. por uma pessoa com experiência em detecção e classificação de sinais de cetáceos. Para a maioria dos táxons foi utilizado um método manual de detecção e classificação. No caso das vocalizações da baleia-minke-Antártica foi utilizado um detector automático. Segue o detalhamento dos procedimentos de detecção e classificação aplicados para cada táxon:

- Baleia-minke-Antártica (*Balaenoptera bonaerensis*): foi utilizado um detector customizado, baseado na identificação dos padrões de pulsos na banda de 50-450 Hz (**Figura V.4-57**) das vocalizações conhecidas como Bio-*duck* (FILUN et al., 2020).

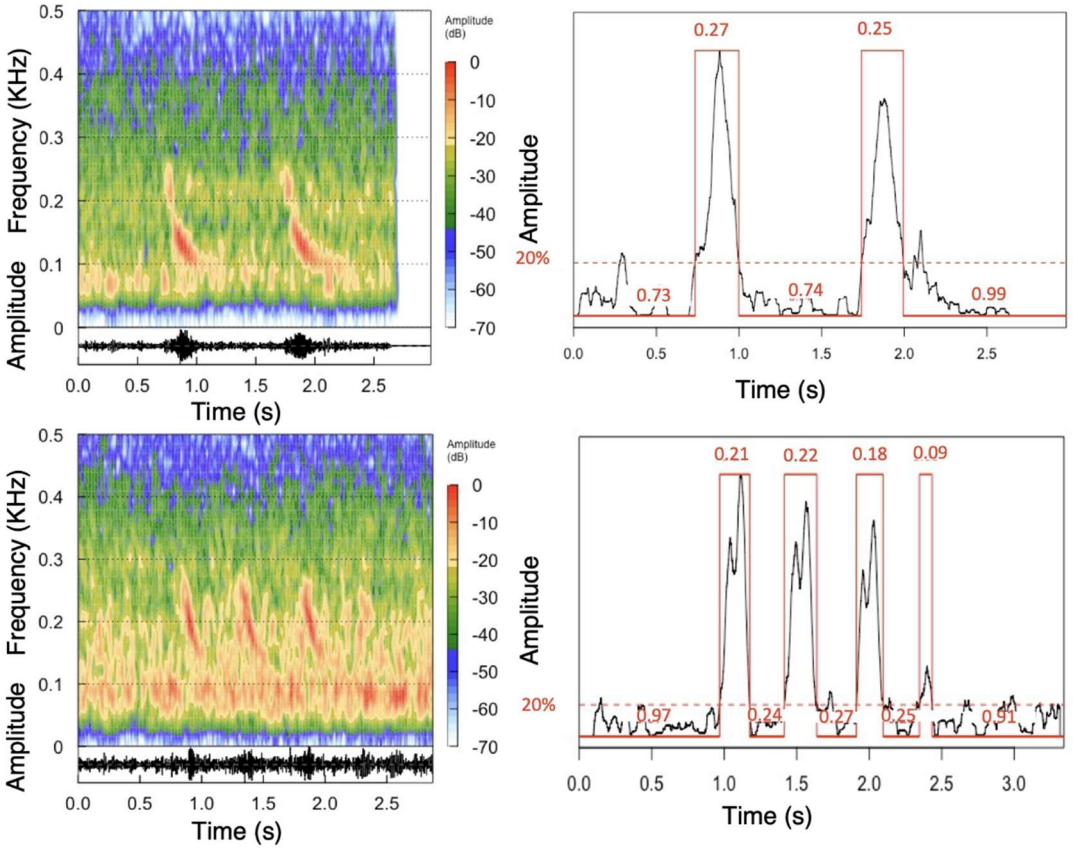


Figura V.4-57: *Espectrograma representando um exemplo do algoritmo de detecção automática em sinais do tipo "Bio-duck" da* ***Balaenoptera bonaerensis****, detectados nos arquivos de áudio de glider do PMPAS-BS.*

- Baleias-fin (*B. physalus*) e Baleias-azul (*B. musculus*): estas espécies são especializadas em sons de frequência muito baixa, dentro da banda infrassônica. Foi utilizado um detector de banda de energia, na faixa de frequências entre 5 e 100 Hz. Posteriormente, foram inspecionados visualmente os eventos de maior energia para a confirmação e classificação de espécies.

- Baleia-jubarte (*M. novaeangliae*): foram feitas inspeções manuais dos espectrogramas. As características únicas dos sons da jubarte, entre 20 Hz e 24 kHz, permitiram a fácil identificação da espécie.
- Baleia-sei (*M. borealis*): foram feitas inspeções manuais dos espectrogramas em buscas de sinais estereotipados *down-swip* abaixo de 100 Hz.
- Cachalote (*P. macrocephalus*): Foi feita a inspeção manual de espectrogramas para avaliar a presença de detecção de cliques de banda larga entre 10 e 30 kHz da espécie.

V.4.4.1.2 Resultados – Identificação e sazonalidade de grandes cetáceos

Registros associados aos cetáceos foram encontrados em todas as detecções acústicas pré-selecionadas pelo PMPAS-BS. No que se refere a caracterização dos sinais acústicos, não foi encontrada nenhuma vocalização que se diferenciava substancialmente em suas características espectrais de frequência em relação ao que foi descrito no período anterior.

Com um conjunto de dados entre 2015 e 2021, pôde-se ampliar a análise da sazonalidade, considerando a ocorrência de cada táxon identificado. A **Figura V.4-58** nos mostra a taxa relativa de ocorrência de cada táxon, ou seja, número de anos em que o táxon foi registrado em cada mês em relação ao total de anos com amostragem. É importante ressaltar que a distribuição de arquivos analisados é heterogênea entre os meses do ano, por isso optou-se por apresentar uma taxa de ocorrência geral para casa mês, ao invés de uma taxa de detecção, como foi apresentado no período anterior. Desta forma, busca-se atenuar um viés devido à falta de homogeneidade amostral. Destaca-se também que a taxa relativa de ocorrência de detecção aqui considerada é relativa ao total de anos com amostragem naquele mês, e não em relação ao total de táxons registrados no mês. Portanto, a taxa de ocorrência de um táxon não afeta a de outro táxon. É possível observar uma sazonalidade evidente de

ocorrência dos misticetos e de cachalote, enquanto no caso dos delfinídeos a ocorrência ocorre ao longo do ano todo.

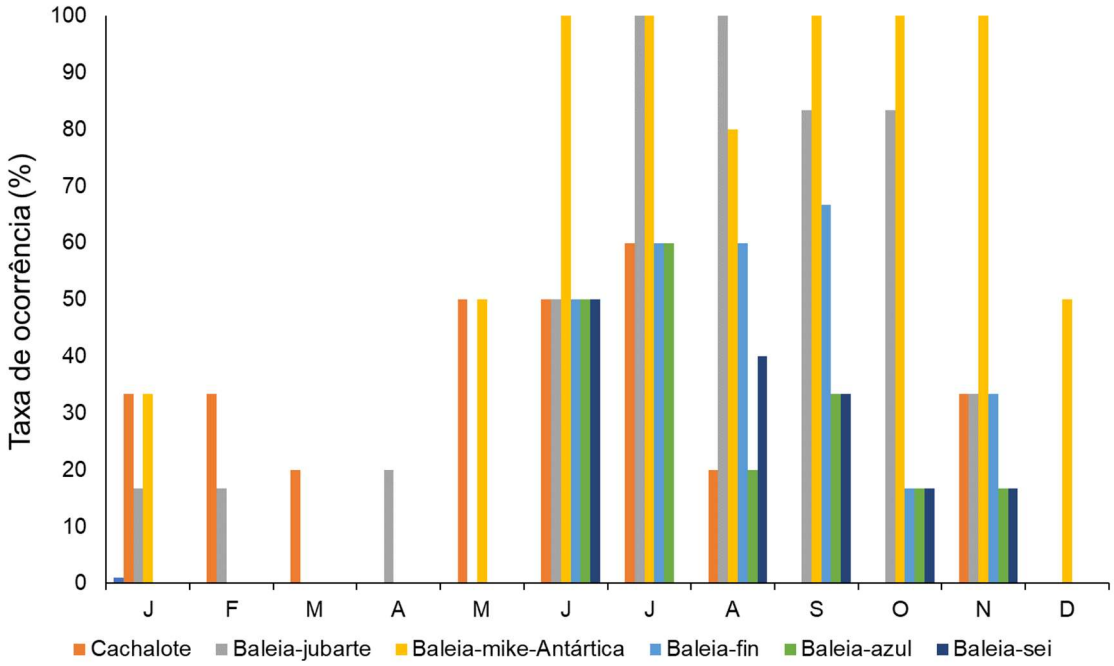


Figura V.4-58: *Taxa de ocorrência mensal de grandes cetáceos registrados pelo* glider *do PMPAS-BS na Bacia de Santos.*

As baleias-jubarte foram detectadas principalmente entre os meses de junho a novembro, mas com registros também em janeiro, fevereiro e abril, com a maior taxa de ocorrência da espécie (100%) nos meses de julho e agosto, contrariando o resultado do ano anterior que considerava uma taxa de detecção relativa, com maior detecção em setembro. As baleias-minke-Antártica segunda espécie de misticeto mais encontrada nos registros acústicos de *gliders*, apresentou ocorrência entre os meses de maio e janeiro, com taxa de ocorrência máxima (100%) nos meses de junho, julho e de setembro a novembro. As baleias-azuis foram registradas de junho a novembro, ampliando o resultado do período anterior, onde só havia registros da espécie até outubro, e o pico de registros passou a ser de junho para julho,

com 60% de taxa de ocorrência. A baleia-fin foi registrada entre junho e novembro, também ampliando o período de ocorrência, que era restrito até outubro, e o pico de registros foi em setembro (67%). A baleia-sei, que teve sua ocorrência sazonal avaliada pela primeira vez nesse conjunto de dados, foi registrada no mês de junho e de agosto a novembro, com maior pico de taxa de ocorrência (50%) em junho. O cachalote não apresentou um padrão sazonal claro, com registros feitos de janeiro a março, de maio a agosto e em novembro, com o maior pico de ocorrência (60%) em julho.

V.4.4.1.3 Discussão – Identificação e sazonalidade de grandes cetáceos

As vocalizações de baleia-jubarte foram caracterizadas, principalmente, por notas isoladas e repetidas (PAYNE; MCVAY, 1971; PAYNE; PAYNE, 1985). Esse padrão é semelhante ao descrito na literatura como *social sounds* (sons sociais), e são sons geralmente produzidos em áreas de migração, como trechos da costa da Austrália (DUNLOP et al., 2007; RECALDE-SALAS et al., 2020), onde as baleias estão de passagem para áreas de reprodução. A ocorrência destes sons nas detecções reforça a importância da Bacia de Santos como área de passagem das baleias a caminho do seu sítio reprodutivo no nordeste do Brasil (ANDRIOLO et al., 2010; WEDEKIN et al., 2010). Entretanto, também foram registrados sons de canto da espécie, principalmente nas regiões mais ao norte da Bacia de Santos, indicando que essa pode ser uma área reprodutiva para a espécie.

A baleia-minke-Antártica foi o segundo táxon mais frequente. Esta espécie foi a primeira a ser identificada pelo uso de detectores, em uma campanha de 2015 (ROSSI-SANTOS et al., 2022). A análise dos dados entre 2015-2019 revelou a ocorrência frequente desta espécie na região. Estas são informações importantes e tem demonstrado que a Bacia de Santos é uma área de ocorrência frequente para a espécie. Destaca-se que o registro acústico com múltiplos táxons simultâneos, que já havia sido reportado nos últimos anos, evidencia um possível partilhamento de nicho acústico entre as espécies

simpátricas de baleias na Bacia de Santos (VIANNA *et al*., 2022; MOSSBRIDGE; THOMAS, 1999).

O padrão de ocorrência sazonal de misticetos segue consistente com o que se conhece da biologia das espécies e seu ciclo anual de migração entre áreas de alimentação e reprodução (LODI; BOROBIA, 2013). Para o Hemisfério Sul, estudos na região da Antártica descrevem um pico de detecções para grandes baleias, como a baleia-fin (BURKHARDT et al., 2021) e a baleia-azul (BRANCH *et al*., 2007) entre janeiro e março, durante o verão austral, baixando muito entre abril e setembro. Esse fato é consistente com os dados da Bacia de Santos, onde foi detectada uma maior ocorrência das baleias no inverno austral, entre junho e setembro.

A baleia-jubarte foi detectada principalmente entre junho e novembro, sendo este o período de sua maior ocorrência conhecida na costa do Brasil (MORETE et al., 2007). Os dados sobre a presença da baleia-jubarte ao longo do tempo, com um período incluindo múltiplos anos, podem trazer informações importantes sobre o tempo (*timing*) de migração da espécie na costa brasileira, descrevendo seu tempo de chegada e partida, como demonstram outros estudos de paisagem acústica em escalas temporais (HEENEHAN et al., 2019). É interessante notar que, com o aparente aumento populacional da espécie, tem sido cada vez mais frequente o prolongamento do período de ocorrência da espécie na costa brasileira, inclusive com registros fora do período reprodutivo, sendo estes principalmente de indivíduos jovens.

A ocorrência de múltiplos táxons de baleias em áreas de concentração, e em áreas especificas e conhecidas como de grande produtividade, levantam a suspeita de que as espécies podem estar se agregando nessas áreas para fins de alimentação. Outrora acreditava-se que as baleias não se alimentavam durante sua migração reprodutiva, atualmente tem se registrado evidências de padrões de mergulho e conteúdo estomacal que levam a crer que talvez isso não seja uma regra (BORTOLOTTO et al., 2016). Por estarem compartilhando estes ambientes, presume-se um partilhamento temporal no uso do habitat

dessas espécies na Bacia de Santos, assim como ocorre na área de alimentação da Antártica (KASAMATSU et al., 2000).

Os estudos aqui apresentados cumprem o objetivo de aumentar o conhecimento sobre a ocorrência e a identificação acústica de vocalizações de espécies de misticetos na região da Bacia de Santos. Existem poucos estudos sobre sazonalidade acústica de cetáceos no Hemisfério Sul, e os dados provenientes dos *gliders* têm se mostrado promissores para o aprofundamento do conhecimento acerca dos padrões de sazonalidade e ocorrência das espécies. Vocalizações de cinco espécies de baleias (jubarte, minke, fin, sei e azul), uma a mais do que no período anterior, foram registradas nas detecções acústicas feitas pelo *glider*, demonstrando a complementaridade do monitoramento acústico do PMPAS-BS ao PMC-BS. Explorar esse conjunto de dados mais a fundo, com análises sobre o comportamento acústico das espécies, e ampliação das análises para os trechos completos de detecções fornecidos pelo PMPAS-BS, possibilitaram avançar substancialmente nesse conhecimento.

Em relação as outras metodologias de coleta de dados praticadas pelo PMPAS-BS, em específico os observatórios submarinos (OS) e as linhas de fundeio instrumentadas (LFI), a presença de ruído nas gravações ainda é um grande limitante para a aplicação dos dados em estudos da vocalização das espécies, que em algumas situações extremas observadas podem sofrer mascaramento. Ainda assim, há um potencial de uso destas plataformas para detecção dos cetáceos, podendo ser utilizadas para estudo baseados na sua ocorrência. Com a perspectiva de desenvolvimento de classificadores automatizados espécie-específicos, com potencial de inserção de algoritmos que permitem a atenuação do mascaramento acústico, estas metodologias poderão ser mais bem exploradas no futuro.

V.4.4.2 Classificador de baleia-sei

O desenvolvimento de detectores customizados espécie-específicos é de grande importância para o processamento dos dados produzidos pelas plataformas de coleta do PMPAS-BS e de monitoramento acústico passivo em geral. Tais detectores podem apresentar uma alta capacidade de reconhecimento, principalmente entre os misticetos (BAUMGARTNER; LIN, 2019; FILUN et al., 2020). A aplicação destas ferramentas é importante para viabilizar o processamento de um grande volume de dados, como é o caso do PMPAS-BS. A avaliação de diferentes métodos de detecção automatizada de sons de cetáceos, inclusive métodos customizados para determinados táxons, e esforços de desenvolvimento de classificadores espécie-específicos vem sendo realizada como um dos principais objetivos da colaboração entre PMC-BS e PMPAS-BS.

O PMC-BS tem direcionado esforços para o desenvolvimento de classificadores que possibilitem a identificação ponta-a-ponta das espécies de baleias, ou seja, desde a detecção até a classificação. Esta linha de análise tem o potencial de mudar radicalmente como os dados provenientes do PMPAS-BS vinham sendo processados até o momento, de maneira praticamente manual utilizando gráficos do espectro médio de longa duração (*long-term spectral average* – LTSA). Com a expectativa de ampliar o conjunto de dados analisados, que até então foram limitados às amostras de 1 min das campanhas de *glider*, a necessidade de ferramentas automatizadas para detecção e classificação se faz indispensável. No entanto, a detecção e classificação automáticas de sons de cetáceos enfrentam vários desafios, incluindo variabilidade de sinais, carência de dados de treinamento com confirmação visual da espécie, e ruído biológico e antropogênico (BAUMGARTNER; MUSSOLINE, 2011; HALKIAS et al., 2013).

Neste sentido, neste período de execução do projeto houve um avanço no desenvolvimento de um classificador para baleias-sei (*Balaenoptera borealis*). Embora os sinais acústicos de frequência média tenham sido atribuídos às baleias-sei (e.g., CERCHIO; WEIR, 2022; MCDONALD, 2005), o chamado

mais frequentemente descrito em todo o mundo para a espécie é um chamado modulado *downsweep* de baixa frequência (FM - **Figura V.4-59**). Essas chamadas variam em frequência de aproximadamente 20 a 220 Hz e em duração de 0,3 s a 1,9 s (CERCHIO; WEIR, 2022; ESPAÑOL-JIMÉNEZ et al., 2019; TREMBLAY et al., 2019; BAUMGARTNER et al., 2008; RANKIN; BARLOW et al., 2007).

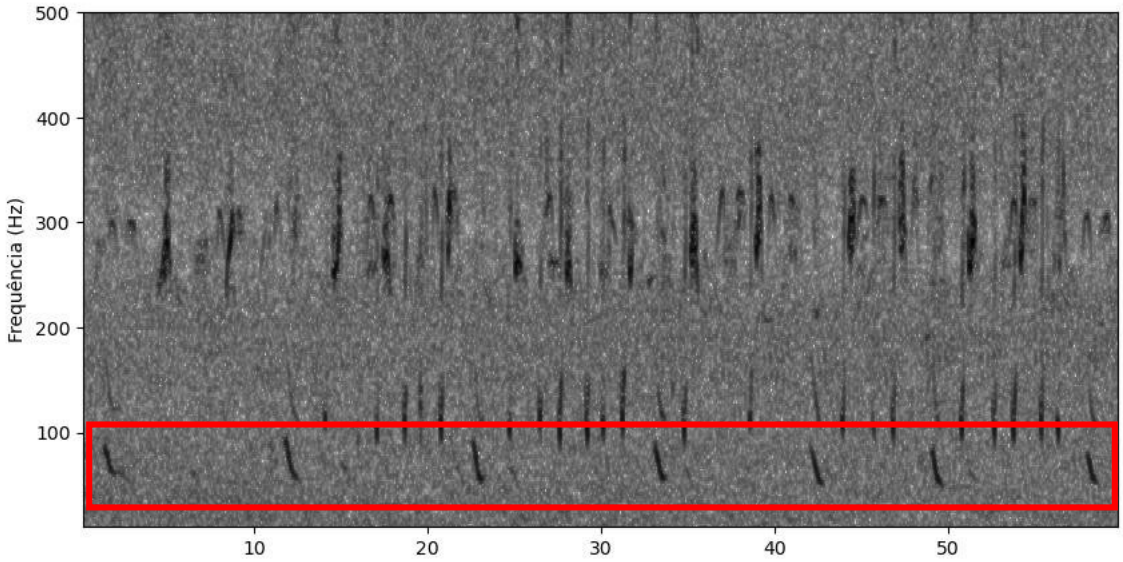


Figura V.4-59: *Chamado modulado downsweep de baixa frequência produzidos por* ***Balaenoptera borealis*** *(em destaque).*

Essa espécie foi considerada prioritária para iniciar o trabalho por ser uma espécie abundante e de ampla distribuição na Bacia de Santos, além de termos uma deficiência de informações sobre essa espécie nas primeiras análises acústicas que foram realizadas com os dados de *glider* (em trechos de 1 min), tendo sido possível complementar essa análise nesse ano. Além disso, a falta de dados acústicos coletados ativamente das espécies, ou seja, coletados de forma direta de indivíduos previamente identificados visualmente, podem ser uma limitação no campo de desenvolvimento dos classificadores. No caso da baleia-sei, o PMC-BS possui dados coletados de indivíduos por meio de DTAG acoplado ao corpo dos animais durante as atividades de Telemetria do projeto. Esses dados puderam ser usados com alta confiabilidade para

desenvolvimento de um sistema de detecção automática, utilizando técnicas de processamento de imagens e classificação binária com algoritmos de aprendizado de máquina para indicar a presença ou ausência de sinais de baixa frequência de baleias-sei.

V.4.4.2.1 Desenvolvimento do classificador

Arquivos de áudio (.WAV) contendo sinais acústicos de baleias-se foram obtidos de duas fontes de dados: (1) com transmissor de registro acústico digital do tipo DTAG; e (2) material suplementar disponibilizado online por CERCHIO et al. (2022).

O DTAG é um *tag* de marcação não invasiva colocada em mamíferos marinhos por meio de ventosas de sucção, e composto por alguns sensores e um hidrofone que grava continuamente (JOHNSON; TYACK, 2003). Um DTAG foi implantado em um indivíduo de baleia-sei pelo PMC-BS em 2016, durante a campanha de telemetria do projeto, e diversas vocalizações da espécie foram adquiridas (**Tabela V.4-28**). Para o desenvolvimento do classificador também é importante a inclusão de vocalizações de outras possíveis espécies que ocorrem na região, treinando o classificador para possíveis sinais que não são da espécie de interesse. Assim, também foi utilizado no treinamento do classificador vocalizações de baleias-franca e baleias-fin. Os arquivos de som destas espécies foram obtidos em banco de dados de acesso público: Instituto Cooperativo para Estudos de Recursos Marinhos (Universidade Estadual de Oregon e NOAA/PMEL); *Mobysound and Watkins Marine Mammal Sound Database* (WMMDB - *Woods Hole Oceanographic Institution*); e *New Bedford Whaling Museum*.

Tabela V.4-28: *Descrição da base de dados de áudio utilizada para desenvolvimento de classificador de* ***Balaenoptera borealis****.*

Espécie	Fonte de dados	Tamanho dos dados (min)	Taxa de amostragem (Hz)	Origem dos dados	Relação Sinal-Ruído (dB)
Baleia-sei	DTAG	364	196	Bacia de Santos	87,7 a 98,2
Baleia-sei	Cerchio et al. (2022)	6,5	11	Ilhas Falkland	16,3 a 53,7
Baleia-fin	Moby Sound	96	100	Atlântico Norte	1,1 a 8,5
Baleia-franca-do-sul	Moby Sound	7,2	8	África do Sul	1,5 a 5,1
Baleia-franca-do-sul	WMMDB	7,2	5.12	Argentina	1,5 a 5,1

Também foram empregadas técnicas de aumento de dados, como inversão e distorção, para melhorar a qualidade e o tamanho dos dados acústicos. Assim, um sistema de detecção modulado de baixa frequência e um classificador binário para baleias-sei foi desenvolvido. Técnicas de processamento de imagem foram usadas para detectar sinais acústicos atingindo 98,7% de detecção possível de vocalizações possíveis de baleia-sei. Algoritmos de aprendizado de máquina de Random Forest (RF), Multilayer Perceptron (MLP), Support Vecctor Machine (SVM) e Gaussian Naive Bayes (GNB) foram testados para determinar o método mais adequado para classificação binária dos sinais acústicos de baleias-sei, atingindo uma precisão que em geral excedeu 94% para RF, MLP e SVM. Todas as técnicas de processamento de imagem foram implementadas usando o software OpenCV em Python. O MLP, em particular, demonstrou desempenho ligeiramente melhor, embora ao custo de maior tempo de processamento em comparação com os outros métodos, e foi selecionado para validação.

V.4.4.2.2 Validação do classificador

A análise para validação do classificador desenvolvido foi focada nos dados brutos (completos) de 447 minutos (7,45 horas) contínuos de gravação, coletados durante a 36ª campanha do *glider,* com data de 22/09/2019 iniciando às 06h07 e encerrada as 17h39.

Foram desenvolvidos 3 códigos principais para esse trabalho. O primeiro corta as gravações com trechos de 10 minutos em gravações de 1 minuto. Este processo é feito para que reduza o tempo computacional para cálculo da FFT, consequentemente do código como um todo.

O segundo código detecta os sinais acústicos de interesse de baixa frequência salva as 15 características de tempo e frequência em formatos de dicionários (.pkl). Nestes dicionários são guardados os metadados de cada arquivo de áudio, nome das 15 características utilizadas e valores das características de tempo e frequência de cada sinal acústico detectado (por exemplo: duração sinal, frequência máxima, frequência mínima, etc.). Este código também exporta um relatório de detecção com resultados e metadados de processamento.

O terceiro código classifica os sinais acústicos detectados e informa quantos sinais foram classificados como baleia-sei e quantos foram classificados como de outras fontes (ruido ou outras baleias). Este código também busca nos metadados quais foram os nomes das gravações que contém os sinais acústicos e quantos sinais foram detectados e classificados como de baleia-sei.

V.4.4.2.3 Resultados - classificação e validação

O total de arquivos analisados (447 min) demandou um tempo de processamento para detecção e classificação de 107,21 min, analisando sinais acústicos na faixa de frequência de 10 a 510 Hz. Foi obtido um total de detecções acústicas de baixa frequência de 8.982 vocalizações de cetáceos, sendo que 89 delas foram classificadas como potencialmente pertencentes à baleia-sei (**Figura V.4-60**).

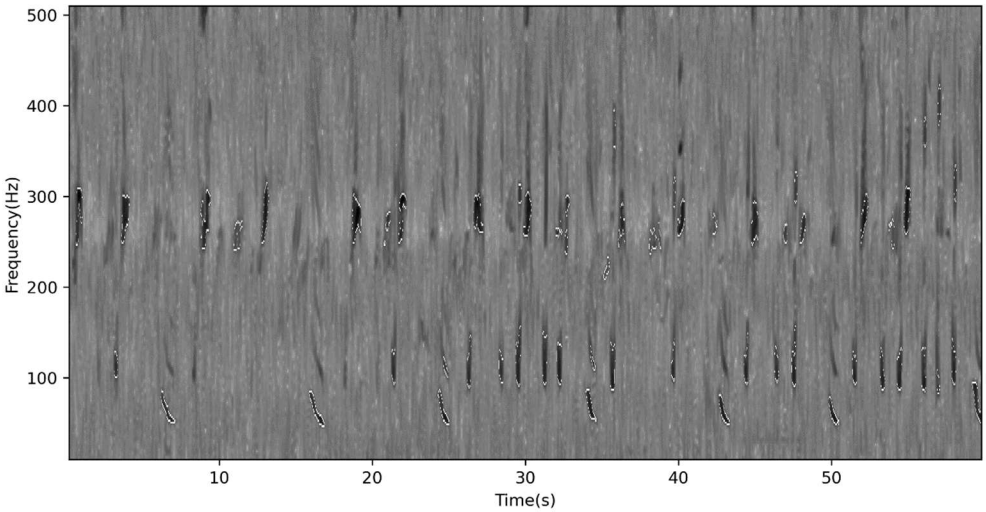


***Figura V.4-60**: Resultado da detecção automática por processamento de imagem. Cada sinal com contorno (em branco) detectado tem características de tempo e frequência extraídos gerando um conjunto de dados. Este conjunto de dados é utilizado para classificação binária de **Balaenoptera borealis**.*

Foi constatada a presença de sinais acústicos, possivelmente de jubarte, em meio a sinais acústico classificados como baleia-sei. Estas imagens foram enviadas para especialistas nas vocalizações da espécie, para confirmação dos pares e foi constatado de fato que estes sinais não pertencem ao repertório acústico da espécie. A priori, a especialista avaliou os sinais, salientados no quadrado vermelho da **Figura V.4-61**, como não pertencente a jubartes. Assim reforça a hipótese de que esses sinais pertencem a baleia-sei.

Foi realizada uma validação manual dos dados para verificar a quantidade de verdadeiros positivos, falsos positivos e falsos negativos para o conjunto de dados da campanha 36. Após a validação manual dos dados, conclui-se que dos 89 sinais acústicos classificados como de baleia-sei, 50 (56,2%) realmente pertencem a espécie (verdadeiro positivo) e 39 (43,8%) foram constatados como falso positivo. Também foram identificados 64 sinais de baleia-sei, dentre o total de 8.982 vocalizações detectadas, que o algoritmo deixou de classificar corretamente (falsos negativos). Em outras palavras, de 114 sinais verdadeiros

de baleia-sei, o classificador foi capaz de identificar corretamente 43,8% deles. Por outro lado, de um total de 8.868 sinais que não pertencem à baleia-sei, apenas 0,4% deles foi classificado incorretamente como pertencente à espécie.

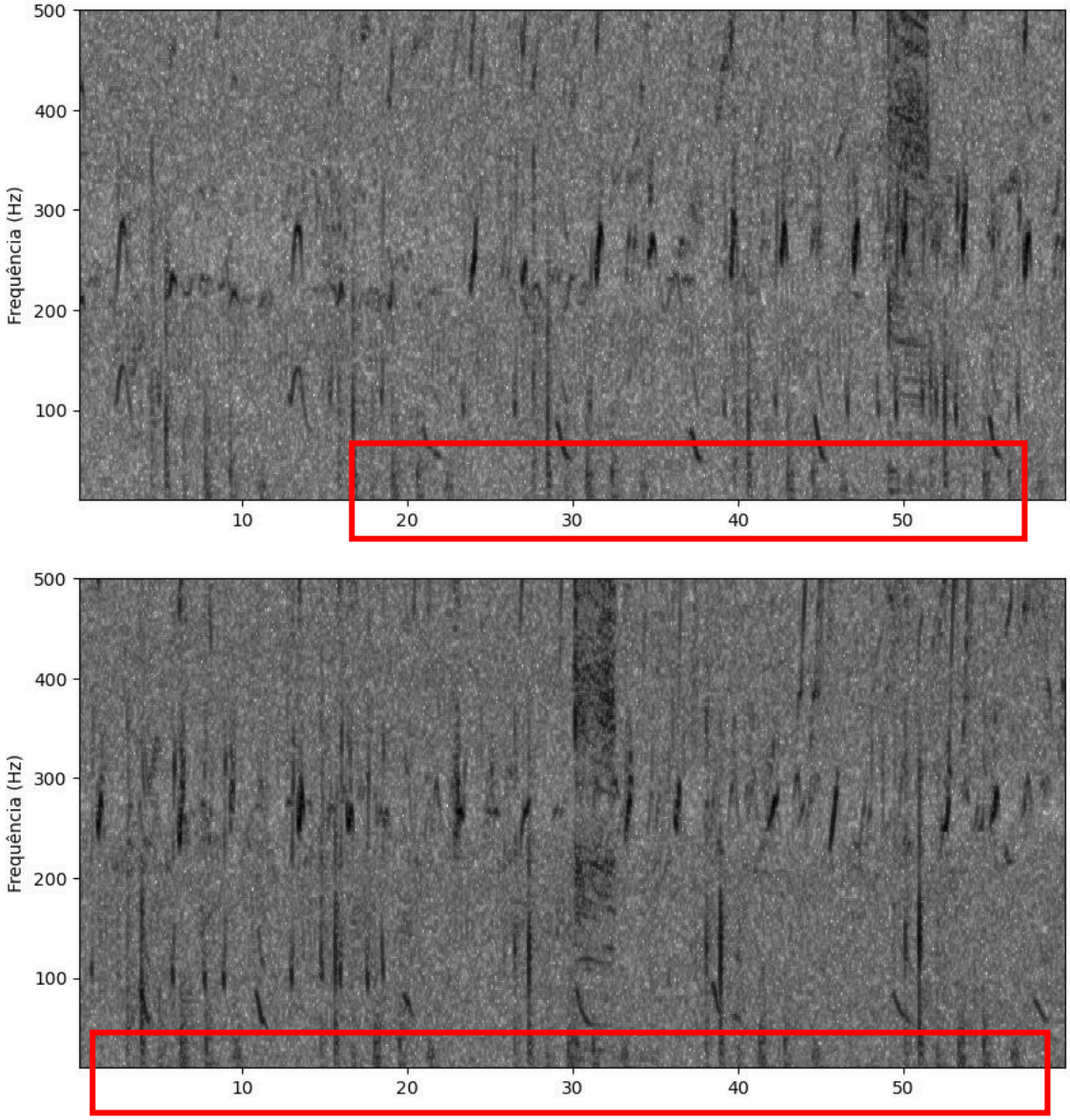


***Figura V.4-61**: Dentro do retângulo vermelho podemos ver exemplos de sinais considerados de **Balaenoptera borealis** pelo algoritmo de detecção e classificação com modelo MLP. Outros sinais em frequências mais altas, registrados simultaneamente no áudio, são pertencentes a baleia-jubarte.*

V.4.4.2.4 Conclusão – classificador customizado da baleia-sei

Após os processos de detecção, classificação e validação realizado sobre dados brutos de um dia da Campanha 36, conclui-se que o algoritmo é eficaz para detectar sinais acústicos de baixa frequência em dados de hidrofones acoplados ao *glider*. Considerando que virtualmente todos os sinais acústicos biológicos na faixa de frequência analisada foram detectados com o método proposto.

Quanto à classificação, devemos salientar que o algoritmo de rede neural (MLP) foi treinado com outras fontes de dados (DTAG e *open source database*) e outras espécies-alvo foram utilizadas para treinamento (baleia-fin e baleia-franca). Entretanto, a principal espécie presente nos dados de *glider* processados foi a baleia-jubarte, a qual não havia até então tido seus sinais acústicos inseridos para treinamento do algoritmo do modelo MLP, que prejudica a capacidade de generalização da classificação neste novo conjunto de dados. Nos dados de *glider* do PMPAS-BS é notório a grande quantidade de sinais acústicos de baleia jubarte, o que está relacionado com os parâmetros utilizados para detecção dos sinais na etapa de pré-processamento realizado pelo PMPAS-BS, que provavelmente tendenciam para essa espécie (> 50 Hz).

Ainda assim, considerando o alto número de sinais acústicos presentes nos dados analisados (8.982), o classificador foi muito robusto de modo geral, tendo acertado a classificação de 98,8% deles (50 verdadeiros positivos e 8.879 verdadeiros negativos). Para os próximos passos pretende-se realizar a inserção de sinais de baleia-jubarte, em especial aqueles classificados como falsos positivos para baleia-sei, para treinar o modelo MLP por retroalimentação. A partir disso, realizar novas rodadas de aplicação do método de deteção e classificação para outras campanhas de *glider*, e nova rodada de validação, até que se obtenha um valor de acertos de sinais verdadeiros positivos mais satisfatório. Apenas após alcançar essas melhorais

pretende-se aplicar extensivamente o classificar para os demais dados das campanhas de *glider*.

O sistema de detecção proposto, que conta com a binarização de imagens para extração de contornos, tem o potencial de detectar automaticamente vários sinais modulados em frequência tonal produzidos pelos cetáceos. Embora o foco neste primeiro momento tenha sido detectar e classificar as vocalizações de baleias-sei, o sistema pode ser adaptado para detectar sinais de outras espécies também. Os parâmetros de processamento do sistema também podem ser ajustados para lidar com diferentes fontes de dados e condições de ruído subaquático. Portanto, com ajustes de parâmetros apropriados, o sistema de detecção tem o potencial de alcançar resultados semelhantes quando aplicado a uma ampla gama de fontes de dados e espécies-alvo. Melhorias futuras podem se concentrar em aprimorar o sistema de detecção para lidar com sinais sobrepostos e estender a estrutura de classificação para identificar sinais acústicos de diferentes espécies simultaneamente.

V.5 Estado de Saúde e Grau de Contaminação

V.5.1 Análise de lesões de pele

Como em relatório anterior, os registros de lesões de pele realizados ao longo do PMC-BS foram organizados seguindo 3 níveis de classificação. Primeiro, cada lesão foi classificada quanto a aparência, e na sequência, quanto a provável origem. As lesões de origem antrópica, infecciosas e promovidas por interação com tubarão charuto foram classificadas em subcategorias que determinam o provável fator causal ou estado de cicatrização. Todas as classificações foram adaptadas de Wilson et al. (1999). A **Tabela V.5-1** sintetiza as classificações utilizadas.

Tabela V.5-1: *Categorias de lesões de pele observadas durante o PMC-BS e descrição.*

Aparência	Descrição
Cicatriz circular (CC)	Cicatrizes de formato circular ou semicircular
Deformações ou mutilações (DM)	Deformações e ausência de partes do corpo
Depressões (DEP)	Lesões arredondadas multifocais ou focais, deprimidas sem ter inflamação aparente
Ferida aberta (FA)	Ferida aberta inespecífica não cicatrizada
Marcas claras (MC)	Cicatrizes ou manchas mais claras que a pigmentação normal do animal (não são consideradas cicatrizes de origem intraespecífica)
Marcas escuras (ME)	Cicatrizes ou manchas mais escuras que a pigmentação normal do animal (não são consideradas cicatrizes de origem intraespecífica)
Marcas lineares (ML)	Cicatrizes lineares ou mutilações com corte linear
Nódulos multifocais (NOD)	Elevações de variados tamanhos, normalmente arredondados, de etiologia desconhecida
Úlceras (ULC)	Lesões arredondadas de centro mais deprimido que a borda, circunscrita única, multifocal e multifocal a coalescente

Aparência	Descrição
Provável origem	**Descrição**
Antrópica (ANT)	Lesões com indicativo de causa antropogênica Subcategorias: - Pesca (P): lesões e amputações lineares, lesões com petrechos de pesca ainda associados ao animal - Atropelamento (A): cortes paralelos multifocais e equidistantes, cortes ou deformações profundas em geral perpendiculares ao eixo do corpo do animal - *Tag* ou Biopsias (BT): lesões geradas por implantação ou tentativa de implantação de transmissores satelitais ou por coleta de biópsia
Infecciosas (INFEC)	Lesões semelhantes àquelas causadas por determinados patógenos Subcategorias: - *Lobomicose-like* (LL): lesão similar a lobomicose - *Pox-like* (PL): lesão similar a poxvírus, arredondadas, bem delimitadas, com contorno normalmente destacado em tom mais claro ou mais escuro que o interior da lesão
Tubarão charuto (TC)	Lesões abertas ou cicatrizadas geradas por predação ou tentativa de predação por tubarão charuto Subcategorias: - Recente (R): ferida aberta, arredondada - Cicatrizando (C1): cicatrização incompleta, lesão rosada ou esbranquiçada - Cicatrizada (C2): lesão cicatrizada por completo, marcas mais sutis que variam de acordo com a espécie - Sinal (S): lesão gerada por tentativa de predação, marca semicircular ou circular
Interações intraespecíficas (INTRA)	Cicatrizes oriundas de interações entre indivíduos da mesma espécie
Predação por orca (PO)	Cicatrizes geradas em tentativa de predação por orca, em geral lineares equidistantes entre si, equivalentes ao espaçamento entre os dentes de orca
Inespecífica (INESP)	Diversos tipos de lesão que não se enquadram nas

Aparência	Descrição
	origens acima ou lesões onde não foi possível assumir a provável origem

Para o acompanhamento dos diferentes tipos de lesões no tempo e entre espécies, foi utilizada uma taxa de ocorrência de cada tipo de lesão que representa o número de registros pelo número de indivíduos nos catálogos de fotoidentificação. A variação dessa taxa no tempo e entre espécies foi explorada tanto para a classificação quanto a aparência, quanto em relação a origem. No entanto, como a classificação por aparência é apenas uma etapa facilitadora que descreve cada lesão e possibilita a identificação de como ela se originou, como em relatório anterior, aqui é apresentado apenas o resultado da variação da taxa de ocorrência para a classificação por origem, com destaque especial para as lesões com possível origem antrópica e infeciosas.

A **Figura V.5-1** apresenta a taxa de ocorrência das lesões classificadas quanto a origem e como esta taxa varia entre espécies e ao longo dos ciclos. As espécies não apresentadas na figura, não apresentaram lesões. Nota-se, no geral, para todas as espécies e tipos de lesões, uma tendência de estabilização na taxa de ocorrência ao longo dos ciclos. Entre os misticetos, destaque para *Balaenoptera borealis, Balaenoptera brydei*, *Balaenoptera physalus* e *Megaptera novaeangliae* que apresentaram as maiores taxas de lesões de tubarão-charuto e inespecíficas. No geral, as lesões observadas são de etiologia desconhecida ou processos de cicatrização. Algumas merecem destaque, por se tratar de provável interação direta ou indireta com atividades antrópicas. Estas lesões antrópicas foram pouco frequentes e constantes para todas as espécies, embora um pouco mais altas em *Balaenoptera brydei, Balaenoptera physalus e Megaptera novaeangliae e Grampus griseus.*

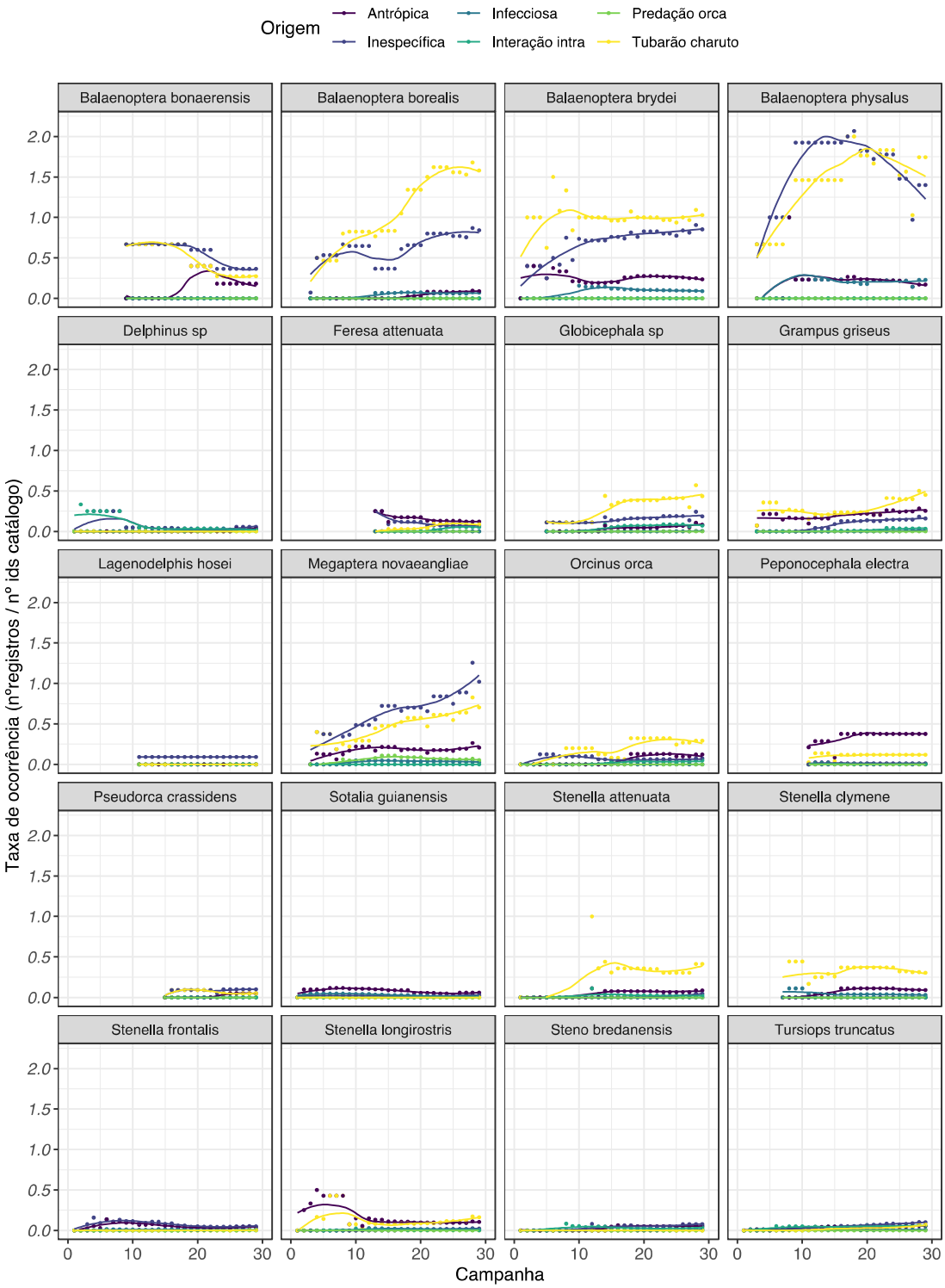


Figura V.5-1: *Variação da taxa de ocorrência de cada lesão (classificada quanto a origem) por espécie, ao longo das campanhas do PMC-BS; Origem: Antrópica (lesões com indicativo de causa antropogênica); Infecciosa (semelhantes lesões causadas por patógenos);*

Inespecíficas (não classificadas); Interação intra (lesões de provável interação com co-específicos); predação por orca (lesões características de predação); Tubarão-charuto (lesões características de interação com tubarão-charuto. Os pontos representam a taxa de cada lesão por campanha e a linha de tendência suavizada ilustra variações no padrão da taxa.

Considerando o potencial letal de interações interespecíficas diretas de origem antrópica, um acompanhamento próximo se faz necessário para inferir mais acuradamente sobre a contribuição de emalhamentos em redes de pesca ou colisões com embarcação, na mortalidade ou no estado de saúde dos indivíduos. A **Figura V.5-2** apresenta, para as espécies com dados suficientes, a taxa de ocorrência das lesões antrópicas classificadas como atropelamento e pesca e infeciosas, por *poxvírus*. Embora baixo para todas as espécies, e constante entre campanhas, destaca-se a maior taxa de lesões por atropelamento em *Balaenoptera brydei*, com declínio ao longo do tempo. Por possível interação com pesca, destaque para a taxa observada em *Balaenoptera brydei*, *Grampus griseus*, *Megaptera novaeangliae*, *Peponocephala electra*, *Stenella frontalis* e *Tursiops truncatus*, por serem espécies com grande número de indivíduos fotoidentificados, o que sugere um número considerável de indivíduos com essas lesões (n variando entre 2 e 10 registros).

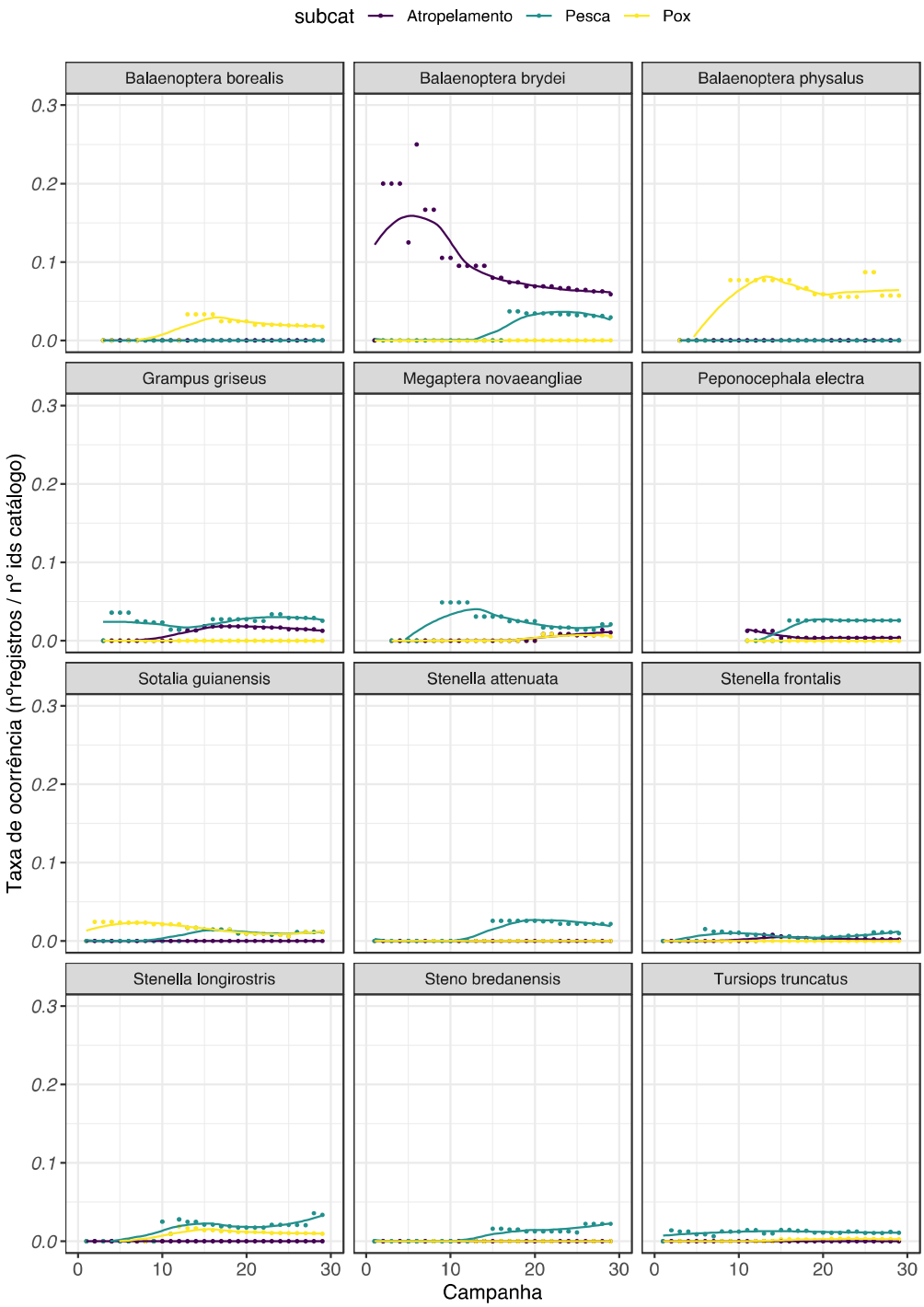


Figura V.5-2: *Variação da taxa de ocorrência de lesões antrópicas (subcat) por espécie, ao longo das campanhas; Atropelamento (provável atropelamento), Pesca (provável interação com pesca) e Infecciosas (provável poxvírus). Os pontos representam a taxa de cada lesão por campanha e a linha de tendência suavizada ilustra variações no padrão da taxa.*

A taxa de lesões semelhantes a poxvírus foi baixa para todas as espécies, porém mais alta em *Balaenoptera physalus* (n = 2). Também ocorreu em *Balaenoptera borealis, Balaenoptera brydei, Peponocephala electra, Stenella clymene, Stenella frontalis, Stenella longirostris, Grampus griseus e Tursiops truncatus* (**Figura V.5-3**). Poxvírus apresentam uma ampla gama de hospedeiros específicos: desde o vírus da varíola, que infecta o homem, ao vírus da vaccínia, que infecta várias espécies de mamíferos (MCFADDEN, 2005). Para *Balaenoptera brydei, Stenella clymene, Peponocephala electra* e *Grampus griseus*, estes são os primeiros registros.

Também vem chamando atenção uma interação interespecífica não humana: ao menos 15 espécies apresentaram lesões de prováveis mordidas de tubarão-charuto (*Isistius brasiliensis*). Para algumas espécies, entre elas *Stenella attenu*ata e *Stenella longirostris*, mordidas de tubarão-charuto foram consideradas a *causa mortis* de infantes (SOUTO et al., 2007). A taxa dessas lesões foi maior em espécies de hábitos mais oceânicos, coerente com a distribuição de *Isistius brasiliensis*, que ocorre principalmente em águas oceânicas quentes e próximas a ilhas.

Para estas lesões, antrópicas e poxvírus, também é apresentada uma distribuição espacial de suas ocorrências, por espécie (**Figura V.5-3**). Por ora, continua não sendo possível observar um padrão que indique maior área de ocorrência, embora este acompanhamento se faça necessário em uma perspectiva de monitoramento. No caso das lesões por pesca, foram registradas tanto em áreas costeiras quanto oceânicas. O mesmo para as lesões por potencial atropelamento/colisão com embarcação, embora estas tenham ocorrido principalmente na porção norte da Bacia de Santos. Os registros de lesões por poxvírus estão distribuídos em áreas costeiras, na porção norte, e em águas oceânicas.

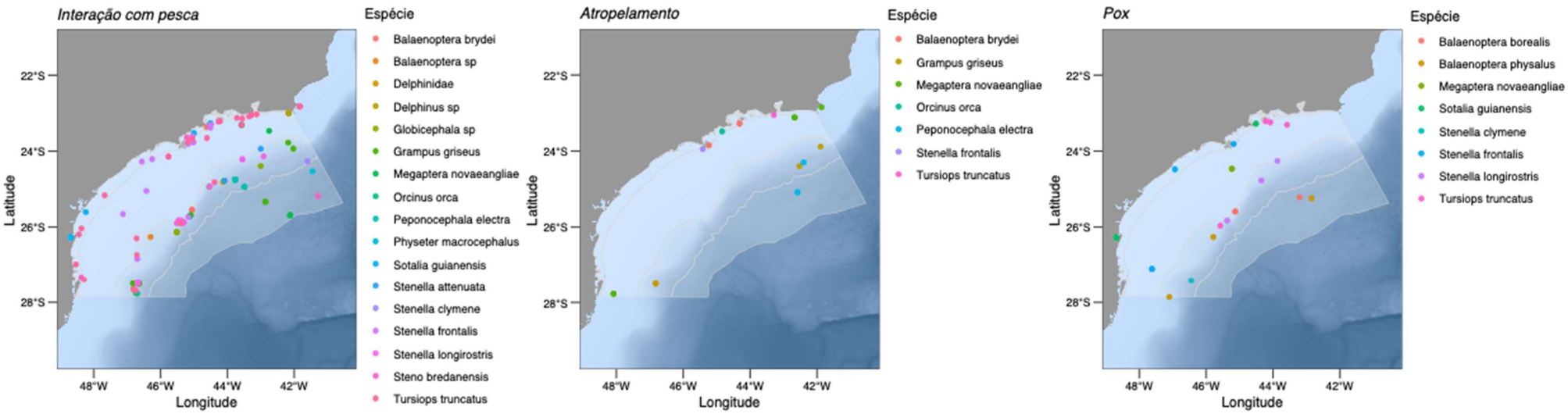


Figura V.5-3: *Distribuição espacial de lesões antrópicas: interação com pesca (mapa ao lado esquerdo), atropelamento (mapa central) e provável lesão por poxvírus (mapa direito): cada ponto representa um registro geográfico de uma lesão; variação de coloração representa a espécie em que a lesão foi observada.*

V.5.2 Isótopos Estáveis de carbono ($\delta^{13}C$) e de nitrogênio ($\delta^{15}N$) em Pele

As razões entre isótopos estáveis de alguns elementos são amplamente utilizadas em estudos ecológicos devido ao fracionamento isotópico que ocorre durante processos metabólicos diversos de animais e vegetais (NEWSOME et al., 2010; CAMPOS; SANTOS, 2021; BODE et al., 2022). No caso da razão de isótopos estáveis de carbono ($^{13}C/^{12}C$), os produtores primários tendem a produzir biomassa empobrecida no isótopo mais pesado, mas com graus de fracionamento distintos entre as diferentes rotas fotossintéticas (i.e., plantas C3, C4 e CAM). Por outro lado, há pouco fracionamento isotópico durante as transferências tróficas, de forma que a assinatura isotópica do C em tecidos biológicos pode ser utilizada para identificar a fonte de alimento e locais de forrageamento (LAYMAN et al., 2012). Já entre os isótopos estáveis de nitrogênio ($^{15}N/^{14}N$), o fracionamento ocorre quando há transferência do alimento (proteínas) de nível trófico entre os consumidores, sendo uma ferramenta poderosa para identificar a posição de um determinado animal na teia trófica (TROINA et al., 2020).

A despeito das aparentes vantagens no uso de razões de isótopos em tecidos em estudos de ecologia e meio ambiente, inúmeros fatores ambientais, fisiológicos e procedimentos experimentais influenciam na assinatura isotópica do tecido considerado, o que limita a aplicabilidade desta ferramenta para estabelecer o chamado ‘nicho isotópico’: um meio para entender interações entre organismos em diferentes níveis de organização ecológica (e.g., individual, populacional, comunitário, ecossistêmico) (SHIPLEY; MATICH, 2020).

No Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, as razões isotópicas de C ($\delta^{13}C$) e de N ($\delta^{15}N$) em amostras de biópsia de pele de animais estão sendo consideradas como uma ferramenta na avaliação das interações tróficas dos cetáceos na região, incluindo a identificação dos locais de forrageamento, a

posição do animal (seu nível) na cadeia trófica, o compartilhamento de recursos alimentares e as interações entre as espécies. Desta forma, pretende-se fornecer informações que auxiliem a compreensão da biodiversidade de cetáceos na Bacia de Santos, subsidiando assim esforços para seu manejo e conservação.

No presente 8º Relatório Anual são apresentados os resultados específicos das amostras coletadas nas campanhas realizadas entre 2022 e 2023. Foram obtidas biópsias de pele na 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP (n = 4) e na 16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP (n = 1), no total de cinco novas amostras. Também serão apresentados os resultados de análises para verificar o efeito da presença de lipídeos na determinação de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$, em atendimento ao indicado no 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023a).

V.5.2.1 Materiais e Métodos – Isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}C$) e de nitrogênio ($\delta^{15}N$)

As amostras foram recebidas no laboratório acondicionadas em recipiente isolado contendo N_2 líquido e, então, imediatamente estocadas em ultrafreezer à temperatura de -80°C até o momento de seu processamento. A pele biopsiada de cada animal foi cuidadosamente limpa para retirar o excesso de gordura aderida e, em seguida, liofilizadas por cerca de 4 dias. Ao menos duas alíquotas entre 0,20 e 0,30 mg (precisão de 0,001 mg) de pele foram pesadas em cápsulas de estanho, que foram cuidadosamente fechadas sem aprisionar ar no interior. Seguindo protocolo de Groß et al. (2021), e de acordo com o estabelecido no Procedimento Operacional 13 (**Anexo III-9**), não foi feita remoção prévia de lipídeos para a determinação de isótopos.

A determinação de carbono e nitrogênio foi realizada pelo método de combustão a seco em alta temperatura (>1.000°C), utilizando um analisador elementar (Flash EA Serie 1112) equipado com detector de condutividade térmica. Em seguida, na mesma corrida, foi feita a determinação das razões

$^{13}C/^{12}C$ e $^{15}N/^{14}N$ por meio de um espetrômetro de massas de razão isotópica (Delta V IRMS, Thermo) e considerando-se a notação delta (δ). Todos os valores (COT, NT, $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) foram reportados como a média de ao menos duas análises da pele de cada animal. As quantificações do COT e do NT foram baseadas em curva de calibração feita com o padrão de acetonitrila (C = 71,09 %, N = 10,36 %). Os gases de referência na análise isotópica foram calibrados com o material padrão certificado IAEA USGS40 ($\delta^{13}C$ = –26,39 ± 0,04 ‰, $\delta^{15}N$ = –4,52 ± 0,06 ‰).

Para controle analítico, a cada 6 amostras analisada em duplicata era analisada uma amostra do padrão IAEA USGS40 (0,200 ± 0,050 mg), que apresenta valores certificados para razão isotópica ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) e elementar (C e N), como amostra desconhecida. Estas análises foram usadas para verificar a precisão e, também, a exatidão, uma vez que não há amostra de pele com resultados certificados para este tipo de análise. A **Tabela V.5-2** apresenta os valores de referência e os obtidos no controle de qualidade das análises. Pode-se observar que os coeficientes de variação absoluto para cada parâmetro ($\delta^{13}C$, C_{org} , $\delta^{15}N$ e N_{total}) – uma medida da precisão das análises – apontaram uma variação inferior a 1% ao longo do período de análise. Em relação à exatidão, estimada pelo erro relativo, os resultados para o carbono ($\delta^{13}C$ e C_{org}) foram melhores do que os de nitrogênio ($\delta^{15}N$ e N_{total}), respectivamente da ordem de <1% e entre 1,8 e 15%, mas para os dois elementos os resultados podem ser considerados satisfatórios. Além disto, os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram considerados numericamente iguais, sendo de 0,003 mg para C e 0,01 mg para N. Para as análises da razão de isótopos, apenas valores de pulso >500 mV foram considerados.

Tabela V.5-2: *Resultados do controle de qualidade obtidos e respectivos erros relativos para isótopos ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) e composição elementar (Corg e Ntotal) do padrão USGS40 (ácido L-glutâmico), obtidos durante determinação de amostras de biópsia de pele de animais coletados na 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS. * DP = desvio-padrão e CV = coeficiente variação (absoluto).*

Injeções	$\delta^{13}C$		$\delta^{15}N$		C_{org}		N_{total}	
	Obtido (‰)	Erro relativo (%)	Obtido (‰)	Erro relativo (%)	Obtido (%)	Erro relativo (%)	Obtido (%)	Erro relativo (%)
1	-26,445	-0,21	-4,424	2,17	40,843	-0,06	11,104	-14,27
2	-26,488	-0,37	-4,875	-7,28	40,601	0,54	10,757	-11,50
3	-26,487	-0,37	-4,600	-1,74	40,864	-0,11	10,719	-11,19
4	-26,653	-0,99	-4,661	-3,03	41,137	-0,77	10,567	-9,91
Média	-26,488	–	-4,631	–	40,854	–	10,738	–
DP*	0,092	–	0,186	–	0,219	–	0,227	–
CV*	-0,003	–	-0,040	–	0,005	–	0,021	--

V.5.2.2 Resultados – Isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}C$) e de nitrogênio ($\delta^{15}N$)

No presente 8º Relatório Anual foram analisadas cinco novas amostras, coletadas na 15ª e 16ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS, detalhadas na **Tabela V.5-3**. As amostras da 14ª Campanha de Telemetria já foram incluídas no 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023a).

Tabela V.5-3: *Amostras recebidas para isótopos estáveis de C ($\delta^{13}C$) e N ($\delta^{15}N$) nas últimas campanhas realizadas no PMC-BS. Obs.: as amostras coletadas na 14ª Campanha de Telemetria já foram contempladas no 7º Relatório Anual.*

CAMPANHAS – PMC-BS	Pele (n amostras)
15ª Avistagem Embarcada e MAP	4
16ª Avistagem Embarcada e MAP	1
Total	**5**

Os resultados de isótopos ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) e a razão C/N (molar) das quatro amostras analisadas de *S. frontalis* e uma amostra de *Delphinus delphis* para este relatório são detalhados na **Tabela V.5-4**. O valor médio para *S. frontalis* foi de $\delta^{13}C$ sem correção foi de –18,47 ± 0,63‰, e o $\delta^{13}C$-corrigido foi de 18,22 ± 0,62. A correção foi aplicada em todas as amostras, pois tiveram razão C/N (molar) acima de 3,5. Para os isótopos estáveis de nitrogênio em *S. frontalis*, o valor médio para $\delta^{15}N$ foi de 11,01 ± 0,95 ‰ (**Tabela V.5-4**). Já para a espécie *Delphinus delphis*, os valores foram de –17,9 ‰ para $\delta^{13}C$ (corrigido), 12,7 ‰ para $\delta^{15}N$ e 4,3 para C/N (molar).

Tabela V.5-4: *Resultados da razão de isótopos estáveis de C ($\delta^{13}C$ e $\delta^{13}C$-corr, após equação de Post et al. (2007), de N ($\delta^{15}N$) e razão molar C/N obtidos em biópsias de pele de cetáceos amostradas na 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS.*

Nome espécie	sigla	Código biópsia	$\delta^{13}C$ (‰)	$\delta^{13}C$-corr (‰)	$\delta^{15}N$ (‰)	C/N (molar)
Stenella frontalis	St.f	600	–18,48	–18,28	9,79	3,56
Stenella frontalis	St.f	603	–18,95	–18,65	11,17	3,65
Stenella frontalis	St.f	604	–18,87	–18,63	10,98	3,60
Stenella frontalis	St.f	606	–17,57	–17,32	12,10	3,61
Delphinus delphis	D.sp	610	-18,84	-17,87	12,71	4,29

V.5.2.3 Discussão - Variação de δ13C e δ15N em cetáceos na Bacia de Santos

No presente relatório, foram acrescentados os resultados de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ e de análise elementar (razão C/N molar) para 4 amostras de pele de *Stenella frontalis,* obtidas na 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS e uma amostra de *Delphinus delphis* obtida na 16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS.

Para as amostras de pele da espécie *Stenella frontalis*, a média de $\delta^{13}C$ (corrigido) foi de –18,2 ± 0,63 ‰, de $\delta^{15}N$ de 11,0 ± 0,62 ‰ e C/N (molar) de 3,61 ± 0,04. Estes valores foram compilados com resultados apenas para *S. frontalis* (n = 9) reportados no 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023a). Na **Figura V.5-4**, pode-se observar que os valores médios de $\delta^{13}C$ foram muito próximos (em torno de –18.0 ‰) nos exemplares coletados nas três campanhas (i.e., 13ª, 14ª e 15ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP), embora com um desvio-padrão relativamente alto. Por outro lado, a média de $\delta^{15}N$ para as 4 amostras da 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP (11,0 ± 0,62 ‰) foram bem inferiores aos das outras campanhas, cuja média foi de 13,8 ± 1,45 ‰ (PETROBRAS, 2023a).

O empobrecimento em ^{15}N na pele dos quatro exemplares de *S. frontalis* obtidos na 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP sugere que estes animais tiveram um dieta prevalente de presas que ocupam níveis tróficos inferiores (QUÉROUIL et al., 2013), se comparados com a dieta dos nove exemplares desta espécie discutido no 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023a). Contudo, esses resultados são ainda incipientes e precisam de mais dados para se fazer inferências mais consistentes sobre as tendências nos hábitos alimentares de *S. frontalis* na região amostrada pelo PMC-BS.

Outros resultados de isótopos estáveis de C e N em pele de cetáceos – incluindo *S. frontalis* – encontrados nas margens continentais sul e sudeste do Brasil são encontrados na literatura. Há diferentes procedimentos de coleta (*e.g.*, animais vivos × mortos) e metodologias de análise de isótopos (*e.g.*, remoção ou não de lipídios) que exigem cautela quando se comparam

resultados mais gerais. m geral – incluindo *S. frontalis* – são encontrados na literatura. Um exemplo é o estudo de Troina et al. (2020), com 74 amostras de pele biopsiada de animais coletados entre as latitudes 24,5°S e 31°S, obtendo-se média de $\delta^{13}C$ entre –15.8 ± 0,6 ‰ e –16,6 ± 0,4 ‰. Estes valores são enriquecidos em ^{13}C em cera de 2-3 ‰ se comparados com os obtidos no PMC-BS (apenas para *S. frontalis*). Uma possível causa para a diferença de assinatura isotópica entre o trabalho de Troina et al. (2020) e os dados do PMC-BS pode ser a aplicação de uma equação de correção de $\delta^{13}C$ proposta pelos atores – e que difere do modelo propost por Post et al., (2007), e adotado no PMC-BS.

Em outro trabalho na literatura, em exemplares de *S. frontalis* coletados no Atlântico Norte (Açores e Ilha da Madeira; QUÉROUIL et al., 2013), foram obtidos $\delta^{13}C$ médios em pele em torno do –18 ‰, muito semelhantes aos do PMC-BS (Figura V.5-4). No trabalho de Quérouil et al., 2013, houve remoção prévia de lipídeos, e assim os resultados de $\delta^{13}C$ são equivalentes ao procedimento adotado no PMC-BS (ver próximo item para discussão mais detalhada sobre este assunto).

Já para o $\delta^{15}N$, Troina et al. (2020) reportam valores na faixa de 12,8 ± 0,9 ‰ e 14,8 ± 1,8 ‰, que são valores comparáveis aos reportados no 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023a) e no atual relatório do PMC-BS (**Figura V.5-4**) Esta faixa mais ampla de valores de $\delta^{15}N$ em pele reflete a rápida dinâmica dos isótopos estáveis de N no metabolismo animal (CAMPOS; SANTOS, 2021).

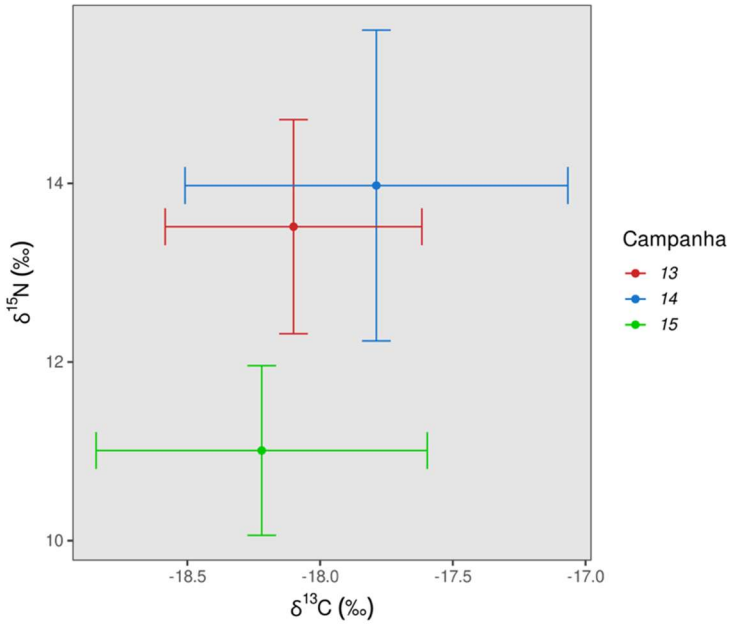


Figura V.5-4: *Gráfico bi-plot com média (±DP) de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ de amostras de pele de **Stenella frontalis** coletadas em diferentes campanhas do PMC-BS.*

V.5.2.4 Avaliação do efeito do procedimento de a remoção de lipídeos por extração com solvente sobre a assinatura isotópica de carbono (δ13C) e de nitrogênio (δ15N) em amostras de pele

A influência do percentual de lipídeos sobre a assinatura isotópica de tecidos biológicos é bastante discutida na literatura (*e.g.*, TEIXEIRA et al., 2022). Isto porque os lipídeos (gordura) produzidos pelo metabolismo animal são naturalmente empobrecidos no isótopo mais pesado do carbono (^{13}C) em comparação ao isótopo mais leve (^{12}C). O mesmo tipo de fracionamento metabólico de isótopos do carbono não ocorre na síntese de proteínas. Desta forma, dependendo da proporção entre lipídeos e proteínas na amostra biológica, pode haver um desvio para valores mais negativos do $\delta^{13}C$ (FOCKEN; BECKER, 1998; WILSON et al., 2014). Este efeito não ocorre com os resultados de $\delta^{15}N$, visto que lipídeos praticamente não contêm nitrogênio (LOGAN et al., 2008).

A proporção relativa de lipídeos e proteínas pode ser estimada através da composição elementar (C e N). Valores acima de 3,5 para a razão C/N (molar) indica tecidos ricos em lipídeos e possível interferência na assinatura isotópica do carbono (FOCKEN; BECKER, 1998; BISI et al., 2013; TROINA et al., 2020).

Algumas abordagens são relatadas para eliminar a influência de lipídeos na análise de isótopos. Uma alternativa é fazer a remoção da gordura do tecido por extração com solvente. No entanto, este procedimento pode lixiviar proteínas e, assim, alterar a assinatura isotópica do N. Alternativamente, pode-se aplicar um fator de correção no resultado de $\delta^{13}C$ obtido no tecido analisado sem remoção da gordura – e no caso de C/N (molar) acima de 3,5 (POST et al., 2007). Por fim, o procedimento que seria o ideal envolve analisar duas alíquotas da amostra: $\delta^{13}C$ em alíquota após extrair os lipídeos e $\delta^{15}N$ em outra alíquota, contendo lipídeos (GROß et al., 2021). Esta última opção tem aplicação limitada em amostras obtidas por biópsias de animais vivos, visto que geralmente a massa possível de ser coletada é muito pequena (GROß et al., 2021).

As amostras de pele coletada pelo PMC-BS foram analisadas sem remoção de lipídeos e com correção de $\delta^{13}C$ com base na equação de POST et al. (2007), a saber: $\delta^{13}C_{normalizado} = \delta^{13}C_{original} - 3{,}32 + 0{,}99 \times C/N_{(molar)}$. Esta equação é empírica e pode ser influenciada por fatores específicos nos animais considerados. Por isto, outras equações são encontradas na literatura, como a reportada por Troina et al. 2020): $\delta^{13}C_{normalizado} = \delta^{13}C_{original} - 12{,}186 + 3{,}69 \times C/N_{(molar)}$ – veja discussão no item anterior.

Apesar da decisão no PMC-BS de se trabalhar com amostras sem remoção prévia de lipídios e aplicar o fator de correção de POST et al. (2007), a título de investigação científica foi realizado um experimento modelo com amostras do PMC-BS ainda disponíveis para verificar qual equação de correção seria obtida. Para evitar variabilidade na assinatura isotópica entre as espécies, foi escolhida a espécie *T. truncatus* para este experimento, visto estarem disponíveis 8 amostras destas espécies coletadas na 13ª e 14ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP. Os resultados deste

experimento, considerando as razões isotópicas e molar C/N antes e após extração lipídica, estão apresentados na **Tabela V.5-6**.

As amostras analisadas apresentaram teor de lipídeos de cerca de 19,14 ± 7,37 % e, após a extração com solvente, as médias de $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ e razão C/N foram de –17,0 ± 0,7 ‰, 13,5 ± 1,2 ‰ e 3,6 ± 0,1, respectivamente (**Tabela V.5-6**).

Os resultados observados para $\delta^{13}C$ (**Figura V.5-5**) para o procedimento adotado, apresentaram diferença estatisticamente significativa (teste-t pareado; $p < 0,05$), refletindo a interferência dos lipídeos na assinatura isotópica do carbono. No entanto, conforme mostra a **Figura V.5-5**, a extração dos lipídeos não afetou significativamente os resultados para $\delta^{15}N$. Todos os tecidos tiveram teores de lipídeos acima do limite de 5% indicado por Post et al. (2007) como passível da causar interferência na análise de isótopos (**Tabela V.5-6**).

Tabela V.5-6: *Resultados do experimento sobre influência do procedimento de extração de lipídios sobrea a assinatura isotópica ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$) e elementar (C/N, molar) em tecidos de pele de* ***Tursiops truncatus*** *(n = 9) coletadas nas 13ª e 14ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP do PMC-BS.*

Nome Espécie	Sigla	Cód. Biópsia	$\delta^{13}C$ (‰)	$\delta^{13}C$* (‰)	$\delta^{15}N$ (‰)	$\delta^{15}N$* (‰)	C/N (molar)	C/N* (molar)	Lipídeos (%)
T. truncatus	T.t	527	-17,37	-16,19	13,63	14,28	4,72	3,64	28,50
T. truncatus	T.t	545	-17,63	-17,03	12,35	12,77	3,97	3,56	12,96
T. truncatus	T.t	555	-18,95	-18,24	12,47	12,78	4,20	3,56	30,95
T. truncatus	T.t	559	-18,14	-17,43	11,93	12,44	3,90	3,47	19,45
T. truncatus	T.t	560	-17,75	-17,35	11,82	12,18	3,81	3,57	18,02
T. truncatus	T.t	563	-16,26	15,99	15,92	15,80	4,03	3,72	13,40
T. truncatus	T.t	584	-17,37	-16,96	14,66	13,95	3,85	3,70	19,61
T. truncatus	T.t	599	-16,94	-16,94	13,54	13,66	3,79	3,66	10,20

* são resultados obtidos para $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ e C/N obtidos após extração dos lipídeos

Uma primeira observação significativa do experimento realizado é que há diferença significativa (teste *t-Student* pareado; $p < 0,05$) entre os valores

registrados para $\delta^{13}C$ com e sem a remoção prévia de lipídeos (**Figura V.5-5**). Como esperado, os resultados obtidos quando é realizada extração de lipídios são mais elevados do que quando ela não é realizada. Isto é coerente com o esperado, pois como explicado antes, os lipídios são naturalmente 'empobrecidos' em ^{13}C, e quando a presença desta fração da matéria orgânica na pele (ou outro tecido) é elevada, ela causa um efeito de diluição da assinatura isotópica do C, levando a valores mais negativos de $\delta^{13}C$. Por outro lado, os resultados de $\delta^{15}N$ nos dois procedimentos (com e sem remoção de lipídios) são estatisticamente semelhantes entre si (teste *t-Student* pareado, $p < 0,05$), o que sugere que o procedimento de remoção de lipídios não interfere na assinatura isotópica do N nas amostras de pele analisadas.

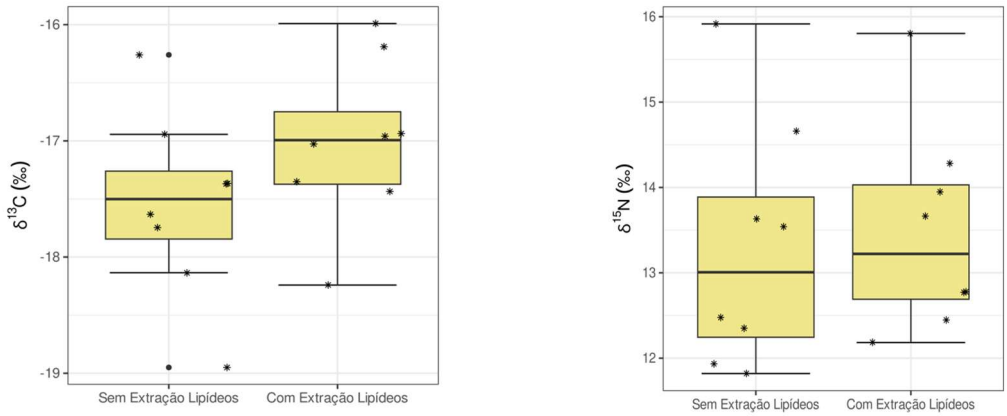


Figura V.5-5: *Comparação entre os resultados de análises para quantificação de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ em amostras de cetáceos coletadas pelo PMC-BS com e sem a extração de lipídeos. O teste t-Student pareado (mesmas amostras) indica diferença estatisticamente significativa entre as quantificações para $\delta^{13}C$, mas não para $\delta^{15}N$.*

A partir da relação entre a diferença de $\delta^{13}C$ do tecido com e sem extração de lipídeos e a razão C/N antes da extração (**Figura V.5-6**), foi possível calcular uma equação empírica que poderia ser aplicada para corrigir os $\delta^{13}C$ obtidos para o tecido com gordura, visto que as duas variáveis apresentaram correlação alta e significativa ($r = 0,64$; $p = 0,01$). A **Equação 1** obtida é muito semelhante à **Equação 2**, determinada por Post et al. (2007).

$$\delta^{13}C_{corr} = \delta^{13}C - 3{,}29 + 1{,}11 \cdot \frac{C}{N}$$ **Equação1**

$$\delta^{13}C_{corr} = \delta^{13}C - 3{,}32 + 0{,}99 \cdot \frac{C}{N}$$ **Equação 2** (Post et al., 2007)

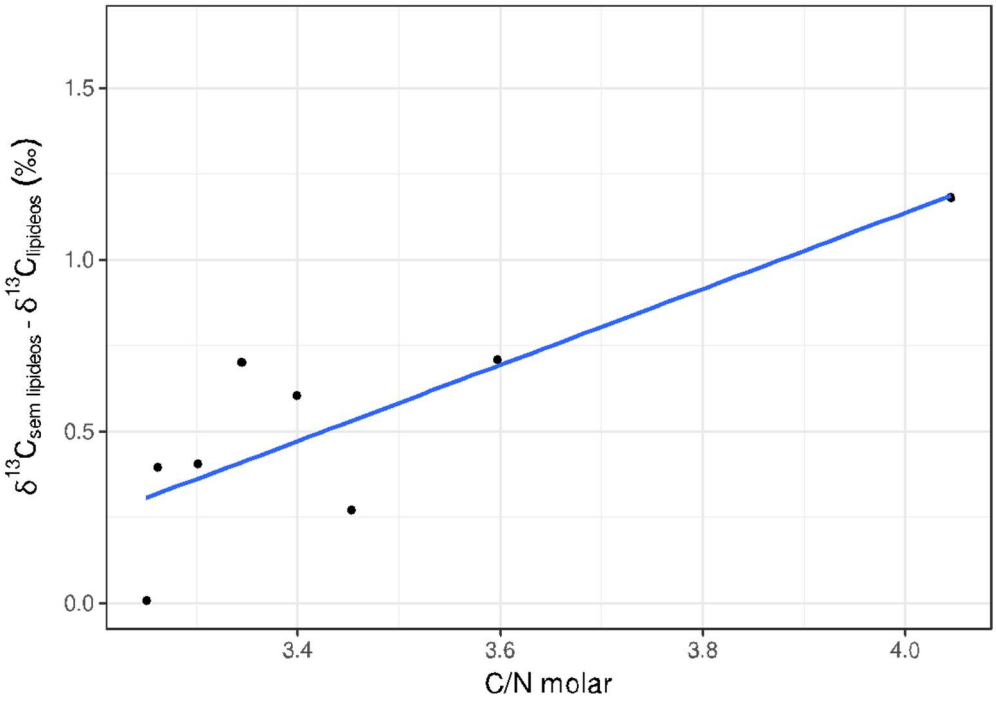


Figura V.5-6: *Correlação entre δ^{13}C após extração dos lipídeos e a razão C/N molar antes da extração nas oito amostras de* ***Tursiops truncatus*** *coletadas pelo PMC-BS.*

As fórmulas obtidas (**Equações 1** e **2**) são muito parecidas, fornecendo, obviamente, resultados próximos (**Figura V.5-7-a**). No entanto, os valores corrigidos pela fórmula empírica obtida no experimento ora reportado são cerca de +0,5 ‰ se comparados com aqueles calculados pela fórmula de Post et al. (2007) (**Figura V.5-7-b**). Apesar disto, a comparação entre os três conjuntos de dados, ou seja, os valores de δ^{13}C determinados pela correção de Post et al. (2007), os valores obtidos pela fórmula ora apresentada neste 8º Relatório

Anual e os valores obtidos após a extração dos lipídeos (**Tabela V.5-7** e **Figura V.5-8**) foram estatisticamente semelhantes (teste *t-Student* pareado; $p < 0,05$). Novas análises serão realizadas em outras amostras de pele de *T. truncatus* coletadas nas próximas Campanhas, buscando-se consolidar a relação obtida no experimento realizado (**Equação 1**). Por fim, destacamos que a Equação 1 é específica para a espécie testada (*T. truncatus)*, enquanto a equação de POST et al (2007) é genérica, ou seja, pode ser aplicada para um amplo conjunto de espécies de cetáceos. Desta forma, no 8º Relatório Anual do PMC (assim como já ocorrera no 7º Relatório Anual), os valores de $\delta^{13}C$ reportados aqui foram corrigidos pela fórmula de POST et al. (2007).

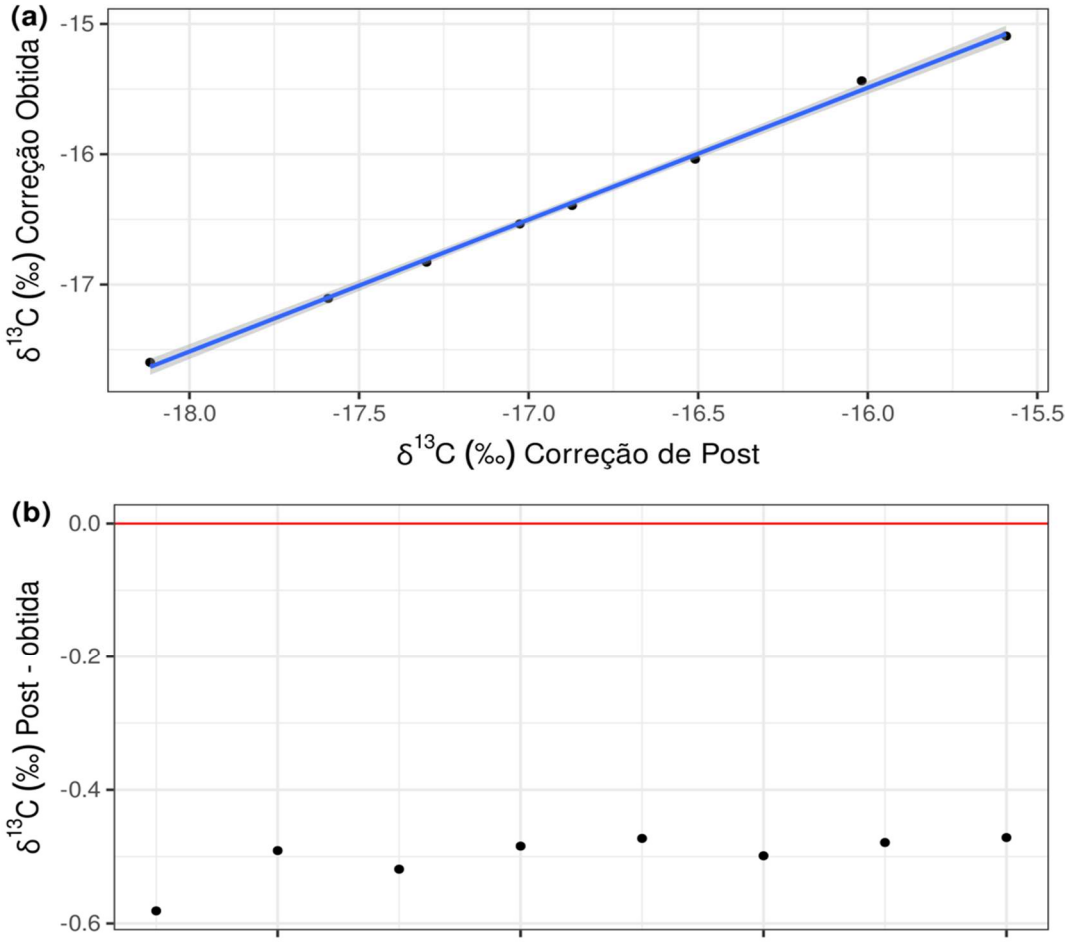


Figura V.5-7: *Comparação entre os valores de $\delta^{13}C$ obtidos pela correção conforme a* ***Equação 2****, Post et al. (2007) e aqueles obtidos pela correção conforme a* ***Equação 1****, apresentada neste 8º Relatório Anual (***a***) e as diferenças absolutas entre esses valores (***b***).*

Tabela V.5-7: *Resultados da razão de isótopo estável de C ($\delta^{13}C$) em biópsias de pele de* ***Tursiops truncatus*** *amostradas pelo PMC-BS: anterior à extração dos lipídeos; aplicando-se a equação de correção proposta por Post et al. (2007); aplicando-se a equação de correção proposta neste 8º Relatório Anual do PMC-BS; e após a extração de lipídeos.*

Nome Espécie	Sigla	Cód. Biópsia	$\delta^{13}C$ (‰) Correção de Post *et al*, (2007)	$\delta^{13}C$ (‰) Correção PMC-BS	$\delta^{13}C$ (‰) Após Extração Lipídeos
T. truncatus	T.t	527	-16,02	-15,44	-16,19
T. truncatus	T.t	545	-17,03	-16,53	-17,03
T. truncatus	T.t	555	-18,12	-17,60	-18,24
T. truncatus	T.t	559	-17,59	-17,11	-17,43
T. truncatus	T.t	560	-17,30	-16,83	-17,35
T. truncatus	T.t	563	-15,59	-15,09	-15,99
T. truncatus	T.t	584	-16,87	-16,39	-16,96
T. truncatus	T.t	599	-16,51	-16,04	-16,94

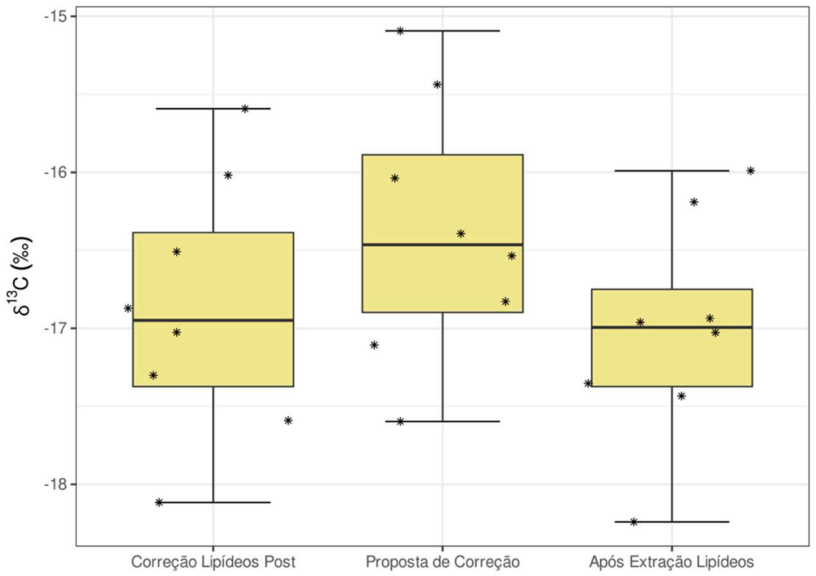


Figura V.5-8: *Comparação por box-plot dos resultados da razão de isótopo estável de C (δ13C) em biópsias de pele de* ***Tursiops truncatus*** *amostradas pelo PMC-BS: aplicando-se a equação de correção proposta por Post et al. (2007); aplicando-se a equação de correção*

proposta neste 8º Relatório Anual do PMC-BS; e após a extração de lipídeos. Não há diferença estatisticamente relevante ($p < 0,05$) entre os três conjuntos de dados (teste t-Student pareado)

V.5.2.5 Considerações finais – Isótopos estáveis de carbono (δ13C) e de nitrogênio (δ15N)

No presente 8º Relatório Anual foram apresentados os resultados de análises de quantificação de isótopos estáveis de C ($\delta^{13}C$) e de N ($\delta^{15}N$) em quatro amostras de pele de *Stenella frontalis* coletadas na 15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP e uma amostra de *Delphinus delphis* coletada na 16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP. Os valores obtidos foram semelhantes aos reportados no 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023a) e, como ainda são incipientes, não permitem maiores inferências sobre a ecologia trófica dos cetáceos da Bacia de Santos. Por outro lado, a partir de experimento com amostras de pele de *T. truncatus* foi possível avaliar o efeito de submeter as amostras à remoção prévia de lipídios sobre a determinação de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$, sendo encontrado um modelo (uma relação matemática) de correção de resultados muito semelhante ao modelo de Post et al. (2007), que é frequentemente utilizado na literatura.

V.5.3 Compostos Orgânicos - Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) e Organohalogenados em Tecido Adiposo

Uma das consequências diretas da presença de contaminantes orgânicos naturais ou sintéticos no meio ambiente é a sua concentração e posterior acúmulo em tecidos de organismos marinhos, em processo conhecido como bioacumulação. A bioacumulação ocorre em etapas (bioconcentração e biomagnificação) e é governada por múltiplos fatores, como grau de exposição,

capacidade de depuração metabólica do animal considerado e propriedades químicas dos diversos contaminantes orgânicos, entre outros. Além disto, os riscos ambientais também estarão associados com a toxicidade e persistência do contaminante considerado.

No caso dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), por exemplo, a toxicidade tende a ser proporcional ao seu peso molecular, ao contrário de sua solubilidade. Assim, embora comparativamente menos tóxicos, os HPAs de menor peso molecular tendem a apresentar a maior tendência de bioacumulação por serem mais solúveis em água (DJOMO et al., 1996). Os compostos organoclorados exercem sua influência no sistema nervoso central do organismo humano, afetando a condução dos impulsos nervosos tanto nos neurônios motores quanto nos sensoriais. Isso resulta em uma série de perturbações na capacidade do indivíduo, causando diversas alterações em seu funcionamento normal, bem como alguns tipos de câncer (CULLEN et al., 2019; YANG et al., 2020).

A depuração de contaminantes – i.e., a capacidade do organismo em ‘eliminar’ contaminantes por via metabólica –, tem eficácia que depende do nível trófico e da classe de contaminante considerada. Para os organoclorados – pesticidas e bifenilas policloradas (PCBs), por exemplo –, as taxas de remoção são muito baixas (HALL et al., 2018). Desta forma, além de bioacumular em organismos marinhos, a concentração de organoclorados aumenta de forma exponencial no tecido animal devido à sua transferência ao longo da cadeia trófica (i.e., biomagnificação). Por outro lado, para os HPAs, se observa que a capacidade em biotransformar ou metabolizar cresce com a posição da espécie na teia trófica. Portanto, há tendência de menor acúmulo de HPAs em organismos conhecidos como “topo de cadeia” se comparados com o que ocorre com o organohalogenados (MEADOR et al., 1995; NEFF, 2002).

A transferência dos chamados poluentes orgânicos persistentes (POPs), como as múltiplas classes de compostos organoclorados (e.g., pesticidas, bifenilas policloradas), é efetiva através de toda a cadeia alimentar – desde o

fitoplâncton até os mamíferos (BALMER et al., 2019). Os POPs são classificados, pela Convenção de Estocolmo, como substâncias orgânicas que possuem uma combinação particular de propriedades físicas e químicas. Estes compostos, uma vez libertados no ambiente, permanecem intactos durante longos períodos, tornam-se amplamente distribuídos por todo o ambiente, acumulam-se nos tecidos adiposos, são encontrados em concentrações mais elevadas na cadeia alimentar e são tóxicos tanto para os seres humanos como para a vida selvagem (ERDOGRUL et al., 2005; SUN et al., 2018).

Além dos organoclorados, os éteres difenílicos polibromados (PBDEs, na sigla em inglês) são POPs que também possuem potencial para biomagnificação. Por outro lado, os PBDEs pertencem ao grupo dos chamados 'contaminantes emergentes', no sentido de serem substâncias potencialmente tóxicas sobre as quais os efeitos e/ou a presença no ambiente são ainda pouco conhecidos. Em virtude dos efeitos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente, as formulações Penta-BDE e Octa-BDE foram banidas do mercado europeu no ano de 1998 e nos Estados Unidos a proibição ocorreu em 2004 (MUENHOR et al., 2010). Já a formulação deca-BDE só foi proibida na União Europeia no ano de 2008 e no mercado dos Estados Unidos em 2013 (ALONSO et al., 2014).

Os cetáceos são os principais predadores nos ecossistemas marinhos e, portanto, estão propensos a acumular elevadas concentrações de poluentes orgânicos devido à biomagnificação (HITES, 2004; COVACI et al., 2006; LAW et al., 2006), especialmente em águas costeiras contaminadas (AGUILAR et al., 2002). Assim, os níveis e distribuição de poluentes orgânicos nos cetáceos são importantes indicadores do estado de contaminação e do impacto ambiental nas águas costeiras (KO et al., 2014).

Este item compreende a avaliação e a interpretação de resultados de contaminantes orgânicos em biópsias de tecido adiposo de cetáceos realizadas na Bacia de Santos, coletadas seguindo o Procedimento Operacional n. 2, incluindo amostras coletada na 15ª e 16ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP, e a 15ª Campanha de Telemetria, realizadas

durante o ciclo de médio prazo do PMC-BS. O objetivo específico aqui é "avaliar o grau de contaminação existente em diferentes espécies de cetáceos por diferentes agentes químicos", como estabelecido no projeto executivo para execução do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS.

V.5.3.1 Método Analítico

As análises foram realizadas na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, Laboratório de Estudos Marinhos e Ambientais (LabMAM), sob coordenação do Prof. Renato S. Carreira, conforme os procedimentos descritos em detalhe no Volume II. A **Tabela V.5-8** contém as informações de coleta e recebimento das amostras no laboratório.

Tabela V.5-8: *Informações de coleta e recebimento das amostras para análises de contaminantes do PMC-BS entre 2022 e 2023. Tipo de campanha do PMC-BS: AEMAP – Avistagem Embarcada e MAPA; TELE = Telemetria.*

Data de coleta	Data de entrada	Espécie	Matriz	Lacre	Campanha	Descrição
27/08/2022	30/01/2023	*Tursiops truncatus*	Tecido adiposo	C601	15ª AEMAP	Animal adulto
11/09/2022	30/01/2023	*Stenella frontalis*	Tecido adiposo	C602	15ª AEMAP	
11/09/2022	30/01/2023	*Stenella frontalis*	Tecido adiposo	C603	15ª AEMAP	
11/09/2022	30/01/2023	*Stenella frontalis*	Tecido adiposo	C604	15ª AEMAP	Animal adulto.

Data de coleta	Data de entrada	Espécie	Matriz	Lacre	Campanha	Descrição
22/09/2022	30/01/2023	*Stenella frontalis*	Tecido adiposo	C605	15ª AEMAP	
22/09/2022	30/01/2023	*Stenella frontalis*	Tecido adiposo	C606	15ª AEMAP	
20/01/2023	18/04/2023	*Stenella frontalis*	Tecido adiposo	C607	16ª AEMAP	Animal Juvenil. FOTOID
02/02/2023	27/03/2023	*Delphinus delphis*	Tecido adiposo	C608	16ª AEMAP	
02/02/2023	27/03/2023	*Delphinus delphis*	Tecido adiposo	C609	16ª AEMAP	
02/02/2023	18/04/2023	*Delphinus delphis*	Tecido adiposo	C610	16ª AEMAP	Animal adulto.
16/02/2023	27/03/2023	*Orcinus orca*	Tecido adiposo	C611	16ª AEMAP	
25/06/2023	06/09/2023	*Stenella frontalis*	Tecido adiposo	C612	15ª TELE	
27/06/2023	06/09/2023	*Balaenoptera physalus*	Tecido adiposo	C613	15ª TELE	
30/06/2023	06/09/2023	*Tursiops truncatus*	Tecido adiposo	C614	15ª TELE	
30/06/2023	06/09/2023	*Tursiops truncatus*	Tecido adiposo	C615	15ª TELE	

Data de coleta	Data de entrada	Espécie	Matriz	Lacre	Campanha	Descrição
05/07/2023	06/09/2023	*Balaenoptera physalus*	Tecido adiposo	C616	15ª TELE	2 biópsias: 1° caiu amostra na água e foi coletada = somente isótopo / 2° BCG 1 pedaço de pele no dardo: duplicada de genética G616D
11/07/2023	06/09/2023	*Orcinus orca*	Tecido adiposo	C617	15ª TELE	Biópsia do indivíduo tagueado: PTT23534
12/07/2023	06/09/2023	*Orcinus orca*	Tecido adiposo	C619	15ª TELE	
12/07/2023	06/09/2023	*Orcinus orca*	Tecido adiposo	C620	15ª TELE	macho que foi tagueado
16/07/2023	06/09/2023	*Megaptera novaeangliae*	Tecido adiposo	C622	15ª TELE	
17/07/2023	06/09/2023	*Stenella frontalis*	Tecido adiposo	C624	15ª TELE	
17/07/2023	06/09/2023	*Megaptera novaeangliae*	Tecido adiposo	C625	15ª TELE	
17/07/2023	06/09/2023	*Pseudorca crassidens*	Tecido adiposo	C626	15ª TELE	Indivíduo adulto, grande.

Data de coleta	Data de entrada	Espécie	Matriz	Lacre	Campanha	Descrição
23/07/2023	06/09/2023	*Eubalaena australis*	Tecido adiposo	C627	15ª TELE	Animais estavam separados, se juntaram e se separaram novamente
25/07/2023	06/09/2023	*Megaptera novaeangliae*	Tecido adiposo	C629	15ª TELE	Indivíduo tagueado e biopsiado.

V.5.3.1.1 Extração e determinação do teor lipídico

A extração das amostras foi baseada no método USEPA 3540C. Cerca de 0,01 g à 0,25 g (precisão ± 0,001 g) de amostra de tecido adiposo úmida foi homogeneizada com 10 g de sulfato de sódio e acondicionada em aparelho Soxhlet. Após adição do padrão sub-rogado (100 ng de p-terfenil-d14 e 100 ng de PCB 103), a extração foi realizada com 200 mL de mistura diclorometano:hexano (1:1), durante 8 horas. O volume do extrato bruto foi reduzido em evaporador rotatório com banho-maria a temperatura inferior a 40 °C, e avolumado a 1 mL em balão volumétrico (USEPA 8290, adaptado de MAGALHÃES et al., 2017).

O teor de umidade das amostras foi determinado por gravimetria. Uma alíquota de amostra (média de 0,150 g de cada amostra remanescente após separação de 0,250 g para análise de contaminantes), foi transferida para um frasco de vidro previamente pesado em balança analítica, e mantida em estufa aberta na temperatura de 60°C até verificação de peso constante. A diferença de peso entre a massa da amostra úmida e a massa da amostra seca foi considerada como o teor de umidade, expresso como porcentagem em relação ao peso inicial (úmido) da amostra.

V.5.3.1.2 Purificação

O extrato bruto restante da etapa II.1. (i.e., 0,9 ml) foi purificado, inicialmente, por cromatografia de adsorção. Foi usada uma coluna de vidro (20 cm de altura × 8 mm de diâmetro interno) preenchida – da base para o topo, com auxílio de n-hexano – com 16 g de alumina e 8 g de sílica (ambas desativadas com 5% do peso proporcional de água), além de 1 g de sulfato de sódio. O extrato foi cuidadosamente colocado no topo da coluna e a purificação se deu por eluição com 80 mL de solução diclorometano:hexano (1:1). O extrato purificado foi concentrado a 1 mL.

Em seguida, o excesso de lipídios ainda presente no extrato foi removido por cromatografia por exclusão de tamanho. Foi utilizado um cromatógrafo em fase líquida de alta eficiência (CLAE) equipado com um detector de UV/Visível e montado com uma pré-coluna Phenogel 03B-2090K0 Guard 10 µm, 50 × 7,8 mm conectada em série a uma coluna Phenogel 10µ, 100 Å, 22,5 × 250 mm. A eluição foi realizada com diclorometano, a um fluxo de 5 mL min-1. A fração eluída até 30 minutos foi descartada e a fração eluída entre 30 e 40 minutos foi coletada, em frasco descontaminado, para a análise de HPA, Pesticidas, PCBs e PBDEs. Esses tempos para a coleta da fração de interesse foram determinados pela injeção de mistura de padrões e monitoramento do sinal. A fração recolhida foi concentrada em evaporador rotatório, avolumada a 1 mL e adicionada mistura de padrões internos para quantificação (HPAs - naftaleno-d8, acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12 e perileno-d12; PCBs/PBDEs - TCMX), cada um em concentração fixa igual a 100 ng mL-1.

V.5.3.1.3 Análise instrumental - identificação e quantificação dos HPAs

A análise instrumental para os HPA seguiu o protocolo USEPA 8270E, que tem como base a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). As condições instrumentais estão listadas na Tabela II.3.1. A calibração do equipamento foi feita com curva de calibração com 12 concentrações (0,50; 1,0; 2,0; 5,0; 10; 20; 50; 100; 200; 400; 1000 e 2000 ng mL-1) de solução contendo os 16 HPA controlados pelo método — naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(ghi)perileno) — além de dibenzotiofeno, perileno e benzo(e)pireno. Em cada solução da curva de calibração há ainda os padrões internos deuterados (naftaleno-d8, acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12 e perileno-d12), cada um em concentração fixa igual a 100 ng mL-1, nos quais a quantificação foi baseada. O método também inclui os seguintes compostos alquilados: 1-metil-naftaleno, 2-metilnaftaleno, C2 naftalenos, C3 naftalenos, C4 naftalenos, C1 fluorenos, C2 fluorenos, C3 fluorenos, C1 dibenzotiofenos, C2 dibenzotiofenos, C3 dibenzotiofenos, C1 (fenantrenos + antracenos), C2 (fenantrenos + antracenos), C3 (fenantrenos + antracenos), C4 (fenantrenos+antracenos), C1 (fluorantenos + pirenos), C2 (fluorantenos+pirenos), C1 crisenos e C2 crisenos. Os compostos alquilados foram identificados com base no perfil de compostos em uma amostra de petróleo e quantificados com base na curva do seu composto parental correspondente. No total, o método identifica e quantifica 37 HPAs individuais ou grupos de HPAs.

O limite de detecção do método foi determinado como sendo o triplo do desvio padrão de 7 replicatas de brancos de método. Já o limite de quantificação foi estabelecido como o menor ponto da curva de calibração dividido pela massa extraída.

O controle de qualidade do procedimento analítico envolveu a realização dos seguintes procedimentos: (i) inclusão de dois brancos do método (análise

de 10 g de sulfato de sódio), (ii) de duas amostras fortificadas com um padrão contendo os 16 HPAs prioritários e (iii) um controle de curva de calibração (padrão de HPAs de um lote diferente daquele usado para fazer a curva) para cada lote de 20 amostras analisadas.

Um dos brancos analisados teve todos os compostos abaixo do limite de quantificação e o outro apresentou apenas naftaleno na concentração de 8,92 ng g-1, comprovando a não contaminação ao longo da análise. Nas amostras fortificadas cada batelada era aprovada se o valor obtido estiver entre 40 – 100% (para HPAs com 3 anéis) ou entre 60 – 120% (HPAs entre 4 e 6 anéis), e se o desvio-padrão para cada composto adicionado ficasse abaixo de 20% entre as réplicas. O aceite do controle de curva de calibração para cada batelada de amostras se dá quando o valor obtido estiver entre 80 e 120% do esperado.

Além desses controles analíticos, também foi adotado a avaliação do branco do sistema cromatográfico através da injeção de n-hexano no início de cada lote de análise e a cada 20 análises, a fim de verificar a presença de interferentes no sistema que comprometam a quantificação da amostra. Não foram observados interferentes.

O critério de aceitação para a recuperação do padrão sub-rogado (p-terfenil-d14), adicionado no início da extração, entre 40 e 120%. Todas as amostras obtiveram recuperação satisfatória.

Tabela V.5-9: *Equipamentos e condições utilizadas para análise de HPA em tecido adiposo de cetáceos oriundos do PMC-BS*

Equipamento	EM - Finnigan modelo ISQ
	CG – Finnigan modelo TraceGC
Coluna	J&W DB-5msMSD (30 m, 0,25 mm de DI e 0,25 µm de filme)
Programa de temperatura	50 °C durante 5 min
	50 °C min-1 até 80 °C

	6 °C min-1 até 280 °C durante 20 min
	12 °C min-1 até 305 °C durante 10 min
Gás de arraste	hélio a 1,2 ml min-1
Volume de Injeção	1 µL

V.5.3.1.4 Análise instrumental: identificação e quantificação dos PCBs e PBDEs

A análise instrumental para os PCB e PBDE seguiu o protocolo USEPA 8270E, que tem como base a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). As condições instrumentais estão listadas na Tabela III.4.1. A calibração do equipamento foi feita com curva de calibração com 9 concentrações (1,0; 5,0; 10; 20; 50; 80; 100; 150 e 200 ng mL-1) de solução contendo os seguintes PCBs - PCB 49, PCB 52, PCB 66, PCB77, PCB 81, PCB 95, PCB 101, PCB 110, PCB 114, PCB 118, PCB 123, PCB 138, PCB 141, PCB 149, PCB 151, PCB 153, PCB 156, PCB 157, PCB 169, PCB 174, PCB177, PCB 180, PCB 189, PCB 194, PCB 195 e PCB 206. Na mesma solução e com a mesma concentração também estão o PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE153, PBDE 154 e PBDE 183. Em cada solução da curva de calibração há ainda o padrão interno TCMX em concentração fixa igual a 100 ng mL-1, nos quais a quantificação foi baseada.

O limite de detecção do método (LD) foi determinado como sendo o triplo do desvio padrão de 7 replicatas de brancos de método. Já o limite de quantificação (LQ) foi estabelecido como o menor ponto da curva de calibração dividido pela massa extraída (elevado LQ ocorreu devido à baixa massa de amostra extraída).

Tabela V.5-9: *Equipamentos e condições utilizadas para análise de PCBs e PBDEs em tecido adiposo de cetáceos oriundos do PMC-BS.*

Equipamento	EM - Finnigan modelo ISQ

	CG – Finnigan modelo TraceGC
Coluna	J&W DB-5msMSD (30 m, 0,25 mm de DI e 0,25 µm de filme)
Programa de temperatura	75 °C durante 3 min
	15 °C min-1 até 150 °C
	2 °C min-1 até 260 °C
	10 °C min-1 até 300 °C durante 10 min
Gás de arraste	hélio a 1,2 ml min-1
Volume de Injeção	1 µL

V.5.3.1.5 Análise instrumental: identificação e quantificação dos pesticidas organoclorados

A análise instrumental para os Pesticidas seguiu o protocolo USEPA 8081E, que tem como base a cromatografia em fase gasosa com detector de captura de elétrons (CG-DCE). As condições instrumentais estão listadas na Tabela III.5.1. A calibração do equipamento foi feita com curva de calibração com 9 concentrações (1,0; 5,0; 10; 20; 50; 80; 100; 150 e 200 ng mL-1) de solução contendo os seguintes pesticidas — alfa-HCH, beta-HCH, gama-HCH, delta-HCH, aldrin, isodrin, deldrin, endrin, heptacloro, heptacloro epóxido A, heptacloro epóxido B, oxiclordana, gama-clordana, alfa-clordana, op'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD, p,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT, endosulfan I, endosulfan II, metoxicloro, mirex. A quantificação foi baseada na padronização interna, utilizando-se como padrão interno o TCMX em concentração fixa igual a 100 ng mL-1.

Tabela V.5-10: *Equipamentos e condições utilizadas para análise de pesticidas em tecido adiposo de cetáceos oriundos do PMC-BS*

Equipamento	CG – DCE
Coluna	J&W DB-5MS (30 m; 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de filme)

Programa de temperatura	60 °C durante 3 min 5 °C min-1 até 150 °C durante 5 min 1 °C min-1 até 200 °C 8 °C min-1 até 300 °C durante 4,5 min
Gás de arraste	Hélio a 1,2 mL min-1
Volume de injeção	1 µL

Em cada solução da curva de calibração há ainda o padrão interno TCMX em concentração fixa igual a 100 ng mL-1, nos quais a quantificação foi baseada. O limite de detecção do método foi determinado como sendo o triplo do desvio padrão de 7 replicatas de brancos de método. Já o limite de quantificação foi estabelecido como o menor ponto da curva de calibração dividido pela massa extraída.

O controle de qualidade do procedimento analítico envolveu a realização de dois brancos do método (análise de 10 g de sulfato de sódio) e de duas amostras fortificadas com padrões contendo os Pesticidas. Todos os compostos nas amostras de branco estiveram abaixo do limite de quantificação. Nas amostras fortificadas cada batelada era aprovada se o valor obtido estiver entre 60 e 120% do valor esperado. O critério de aceitação para a recuperação do padrão sub-rogado (PCB 103), adicionado no início da extração, entre 60 e 120%. Todas as amostras obtiveram recuperação satisfatória.

V.5.3.2 Resultados

Os resultados das análises no tecido adiposo dos cetáceos são apresentados a seguir, de acordo com as classes de contaminantes consideradas no PMC-BS: HPA e compostos organohalogenados – PCB, PBDE e pesticidas organoclorados. Todos os resultados de contaminantes serão normalizados pela massa de gordura considerando o seu teor de umidade (ng g-1, peso úmido). A representação das concentrações dos contaminantes normalizadas pelo teor de lipídios (ng g-1 lipídios) – como usualmente encontrado na literatura – não poderá ser apresentada, visto que pela massa muito pequena disponível de praticamente todas as amostras, não foi possível fazer a quantificação do teor de lipídio.

Para este relatório, são incluídos resultados de 23 das 25 amostras de biópsias de tecido adiposo, englobando nove espécies diferentes (**Tabela V.1-11**) – em duas amostras (códigos 613 e 615), a massa foi inferior ao mínimo necessário para análise. As amostras foram obtidas em agosto/2022 (15ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP), em janeiro/2023 (16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP) e junho/2023 (15ª Campanha de Telemetria).

Tabela V.5-11: *Número de biópsias (n) para cada espécies de cetáceo amostrada pelo PMC-BS no período 2022 e 2023, com vistas à quantificação de HPAs e organohalogenados. Do total de 25 biópsias, duas (códigos 613 e 625, marcadas em vermelho) não tiveram massa suficiente para serem analisadas (i.e., <0,100 mg).*

Nome Comum	Espécie	Sigla	Código biópsia	n
Baleia-sei	*Balaenoptera bonaerensis*	Ba.bo	613	1
Baleia-fin	*Balaenoptera physalus*	Ba.ph	616	1
Golfinho-comum	*Delphinus delphis*	D.sp	608, 609, 610	3

Nome Comum	Espécie	Sigla	Código biópsia	n
Baleia-franca-austral	*Eubalaena australis*	Ba.au	627	1
Baleia-jubarte	*Megaptera novaeangliae*	Ba.mn	622, 625, 629	3
Orca	*Orcinus orca*	Or.o	611, 617, 619, 620	4
Falsa-orca	*Pseudorca crassidens*	Ps.c	626	1
Golfinho-pintado-do-Atlântico	*Stenella frontalis*	St.f	602, 603, 604, 605, 606,607,612,624	8
Golfinho-nariz-de-garrafa	*Tursiops truncatus*	T.t	601, 614, 615	3

*Das 25 amostras recebidas, duas apresentavam massa inferior à necessária para extração (0,100 g).

Em nove (Σ16HPAs, Σ37HPAs, HCH, drins, clordana, endosulfans, metoxicloro e mirex) das onze categorias de contaminantes analisadas, a frequência de valores abaixo do limite de quantificação de cada metodologia variou entre 96 e 100%. Apenas para PCB e DDT a incidência foi um pouco mais alta, mas ainda assim com 78 % e 74% das amostras, respectivamente, com resultados abaixo do limite de quantificação (Tabela III.2). Com isto, as medianas de PCB e DDT são inferiores ao limite de quantificação, embora com médias de 3,28 ± 6,4 ng g-1 e 13,6 ±25,8 ng g-1 (peso úmido), respectivamente.

Tabela V.5-12: *Sumário estatístico dos resultados das análises de HPA e compostos organohalogenados realizadas nas amostras coletadas pelo PMC-BS na 15ª e 16ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP e na 15ª Campanha de Telemetria, nos anos de 2022 e 2023. Todos os valores em ng g^{-1} (peso úmido).*

Classe de contaminante	n	Média	DP*	Mínimo	Q1*	Mediana	Q3*	Máximo	<LQ* %
∑16HPAs	23	-	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,9	96
∑37HPAs	23	-	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,9	96
PCBs	23	3,28	6,4	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	17,5	78
PBDEs	23	-	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	38,8	96
HCHs	23	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
DDTs	23	13,6	25,8	<LQ	<LQ	<LQ	7,67	82,5	74
drins totais	23	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
clordanas	23	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
endosulfans	23	-	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	5,85	96
metoxicloro	23	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
mirex	23	-	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	95,4	96

** DP = desvio-padrão da média; Q1 = primeiro percentil; Q3 = terceiro percentil; % <LQ = percentual de amostras abaixo do limite de quantificação de cada metodologia: $\sum_{16}$HPAs = 10 ng g^{-1}; $\sum_{37}$HPAs = 10 ng g^{-1}:PCBs, PBDES e pesticidas: 9,25 ± 7,31 ng g^{-1}(função da massa de cada amostra).*

 # médias e respectivos desvios-padrão indicados com traço não foram considerados, porque apenas uma amostra teve concentração do parâmetro acima do limite de quantificação.

V.5.3.3 Discussão

As amostras coletadas nas 15ª e 16ª Campanhas de Avistagem Embarcada e MAP e na 15ª Campanha de Telemetria do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS apresentaram medianas de concentração para nove dos onze grupos de contaminantes com valores iguais aos respectivos limites de quantificação. Desta forma, a discussão dos resultados sobre os contaminantes considerados no PMC-BS – HPAs (Σ16HPAs e Σ37HPAs),

PCBs, PBDEs e pesticidas organoclorados (DDTs totais, soma HCH, drins totais, clordanas totais, endosulfan, metoxicloro e mirex – será realizada com base em todas as amostras coletas durante os Ciclos de Curto e de Médio prazo do projeto.

V.5.3.3.1 Distribuição e ocorrência de HPAs

Há um total de 236 amostras que foram analisadas para HPAs ao longo dos dois ciclos do PMC-BS (**Tabela V.5-13**). Entre os 19 táxons já coletados ao longo do projeto, os HPAs foram detectados em 78,9% deles (15 entre 19) com incidência acima de 50% das amostras nas espécies: *Globicephala macrorhynchus* (Gl.m, n = 9, detectados em todas), *Steno bredanensis* (St.b, n = 10, 90% acima LQ), *Stenella longirostris* (n = 21, 76% acima do LQ), *Balaenoptera borealis* (Ba.b, n = 14, 57% acima do LQ), *Tursiops truncatus* (n = 48, 54% acima do LQ), *Stenella frontalis* (St.f, n = 65, 49% acima do LQ) e *Megaptera novaeangliae* (Ba.mn, n = 23, 48% acima do LQ) – a espécie *Balaenoptera musculus* (Ba.m) não foi incluída na lista, pois somente duas amostras foram coletadas, sendo detectados HPAs em uma delas.

Nestas espécies com ocorrência frequente de HPAs, as concentrações médias do ∑37HPAs variaram entre 110 ± 242 ng g-1 (peso úmido) para *Megaptera novaeangliae* até 236 ± 681 ng g-1 (peso úmido) para *Steno brendanensis*. As concentrações do ∑16HPAs são muito semelhantes a esses valores, o que revela que a presença de HPAs alquilados – que faz a grande diferente entre ∑37HPAs e ∑16HPAs – é menos significativa nos cetáceos analisados na Bacia de Santos. Outra característica relevante para os HPAs é o grande desvio-padrão da média em todos os casos, indicativo da heterogeneidade na ocorrência de HPAs entre os animais analisados. De fato, quando se considera a mediana de concentração, os valores para o ∑37HPAs são inferiores aos da média, oscilando entre 5,34 e 49,8 ng g-1 (peso úmido) (**Tabela V.5-13**). Isto revela que a ocorrência de HPAs entre os animais analisados é bastante heterogênea, e de fato as medianas de concentrações de ∑37HPAs nas seis espécies mais recorrentes variaram entre <LQ e 48,8 ng

g-1 (peso úmido), que são bem inferiores do que a média de cada um. Entre estas espécies com mais HPAs, há uma tendência de maiores concentrações para os odontocetos (*Steno bredanensis*, *Stenella longirostris*, *Stenella frontalis* e *Tursiops truncatus)*. Como já destacado no relatório consolidado do Ciclo de Curto Prazo (PETROBRAS, 2021), a maior concentração de HPAs em odontocetos pode estar associada com os hábitos alimentares deste táxon, composta preferencialmente por peixes, lulas, polvos e crustáceos, enquanto os misticetos se alimentam basicamente de organismos planctônicos.

A bioacumulação de compostos orgânicos é bastante complexa em organismos marinhos. Numerosos fatores influenciam a taxa e a progressão da bioacumulação em organismos aquáticos (ALEGBELEYE et al., 2017), incluindo propriedades físico-químicas, teor de carbono orgânico, tempo de contato (envelhecimento), taxa de dessorção, fonte dos HPAs, toxicocinética, modo de alimentação, metabolismo, fatores de acumulação, fisiologia do organismo, além de tamanho e comportamento do organismo (Meador, 2008).

No caso de mamíferos, o potencial para bioacumulação de HPAs é bem reduzido (EMURA et al., 2006), fato que fica evidenciado nas poucas observações e concentrações encontradas desta classe de compostos nas amostras analisadas no atual relatório. Apenas em ambientes sob exposição crônica de longa duração a concentração destes compostos em cetáceos se torna muito acima dos limites de quantificação (SANGANYADO et al., 2018).

As concentrações de HPAs encontradas para as amostras coletadas pelo PCR-BS entre dez/2015 e julho/2023, com mediana geral (n = 262) de 8,9 ng g-1 (peso úmido) e média de 91,4 ± 312,8 ng g-1 (peso úmido), podem ser consideradas baixas (LOURENÇO et al., 2021). Os dados obtidos nas amostras analisadas até o presente são comparáveis a outros trabalhos de tecido adiposo de cetáceos realizados por CG-EM em áreas pristinas, como os valores reportados em *Neophocaena phocaenoides* (<0,04 ng g-1; 14 HPAs) no Mar do Japão (NAKATA et al., 2003), os dados das focas *Phoca largha* e *Pusa hispida* (6,7 ± 7,8 ng g-1 a 48 ng g-1; 45 HPAs) no Estreito de Bering (STIMMELMAYR et al., 2018) e aos dados para *Sousa chinensis* (0,13–18 ng

g-1 a 82 ng g-1; 16 HPAs) em Queensland, Australia (WEIJS et al., 2016), todos em peso úmido. Em contraponto, em áreas contaminadas as concentrações de HPAs são significativamente mais altas, como a média geométrica para 37 animais de 2.400 ng g^{-1} para ∑16HPAs obtidos por Gui et al. (2018), ou a média de 4513 ± 3366 ng g^{-1} para ∑16HPAs obtidos por Sun et al. (2020) para a espécie *Sousa chinensis*, encontrada no estuário do Rio Pearl, China – todos valores relativos a peso úmido, comparável aos resultados do PMC-BS

***Tabela V.5-13**: Resultados dos HPAs em ng g-1 (peso úmido), Σ 16 HPAs prioritários e Σ 37 HPAs (total), para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada do PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023).*

Táxons	Sigla	n	∑16HPAs (ng g-1, peso úmido)								∑37HPAs (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
Eubalaena australis	Ba.au	3	13,9	24,1	<LQ	<LQ	<LQ	20,9	41,7	67	15,8	27,3	<LQ	<LQ	<LQ	23,7	47,3	67
Balaenoptera borealis	Ba.b	14	201	491	<LQ	<LQ	9,94	40,4	1660	43	205	501	<LQ	<LQ	9,94	53,0	1710	43
Balaenoptera bonarensis	Ba.bo	2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera brydei	Ba.by	7	5,90	11,0	<LQ	<LQ	<LQ	6,49	28,4	71	5,9	11	<LQ	<LQ	<LQ	6,49	28,4	71
Balaenoptera musculus	Ba.m	2	5,34	7,55	<LQ	2,67	5,34	8,01	10,7	50	5,34	7,55	<LQ	2,67	5,34	8,01	10,7	50
Megaptera novaeangliae	Ba.mn	23	108	237	<LQ	<LQ	<LQ	39,3	758	52	110	242	<LQ	<LQ	<LQ	42,2	781	52
Balaenoptera physalus	Ba.ph	3	128	221	<LQ	<LQ	<LQ	191	383	67	128	221	<LQ	<LQ	<LQ	191	383	67
Delphinus sp.	D.sp	8	2,25	4,27	<LQ	<LQ	<LQ	1,80	10,8	75	2,25	4,27	<LQ	<LQ	<LQ	1,80	10,8	75

Táxons	Sigla	n	∑16HPAs (ng g-1, peso úmido)								∑37HPAs (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
G. macrorhynchus	Gl.m	9	25,9	10,8	8	21,3	24,4	33,2	42,2	0	25,9	10,8	8,00	21,3	24,4	33,2	42,2	0
Orcinus orca	Or.o	9	10,4	17,8	<LQ	<LQ	<LQ	19,2	51,1	67	10,4	17,8	<LQ	<LQ	<LQ	19,2	51,1	67
Peponecephala electra	Pe.e	5	6,06	9,19	<LQ	<LQ	<LQ	9,53	20,8	60	6,06	9,19	<LQ	<LQ	<LQ	9,53	20,8	60
Physeter macrocephalus	Ph.m	1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Pseudorca crassidens	Ps.c	1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella attenuata	St.a	2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Steno bredanensis	St.b	10	229	661	<LQ	17,0	19,2	33,3	2110	10	236	681	<LQ	17,0	19,2	33,3	2170	10
Stenella clymene	St.c	3	9,34	16,2	<LQ	<LQ	<LQ	14,0	28,0	67	9,34	16,2	<LQ	<LQ	<LQ	14,0	28,0	67

Táxons	Sigla	n	∑16HPAs (ng g-1, peso úmido)								∑37HPAs (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
Stenella frontalis	St.f	65	14,1	22,1	<LQ	<LQ	<LQ	20,2	132	51	14,3	22,4	<LQ	<LQ	<LQ	20,2	132	51
Stenella longirostris	St.l	21	120	137	<LQ	22,6	42,8	201	445	24	122	139	<LQ	22,6	48,8	201	453	24
Tursiops truncatus	T.t	48	179	480	<LQ	<LQ	10,2	40,7	2930	48	196	507	<LQ	<LQ	13,8	61,2	3050	46

V.5.3.3.2 Distribuição e ocorrência de PCBs e PBDEs

Um total de 117 amostras de cetáceos foram analisadas até agosto/2023 no PMC-BS, incluindo os Ciclos de Curto e de Médio Prazo, para PCBs e PBDEs.

No caso de PCBs, em apenas 40% dos 15 táxons amostrados (**Tabela V.5-14**) esta classe de contaminantes foi detectada, nas seguintes espécies: *Balaenoptera brydei* (n = 6; 83% acima do LQ), *Tursiops truncatus* (n = 42; 83% acima do LQ), *Stenella longirostris* (n = 22; 77% acima do LQ), *Delphinus* sp. (n = 4; 75% acima do LQ), *Stenella frontalis* (n = 20; 40% acima do LQ) e *Orcinus orca* (n = 5; 20% acima do LQ).

Do total de espécies com PCBs detectados com alguma frequência, três se destacam no somatório dos diversos congêneres analisados: *T. truncatus* (804 ± 1.040 ng g-1, peso úmido), *Stenella frontalis* (181 ± 357 ng g-1, peso úmido) e *Stenella longirostris* (174 ± 195 ng g-1, peso úmido). Em menor proporção tem a *Balaenoptera brydei*, com total de PCBs de 65,2 ± 90,5 ng g-1, peso úmido. Aqui também, como já observado para os HPAs, há certa heterogeneidade na presença de PCBs entre as amostras analisadas. É o caso da *Stenella frontalis*, cuja mediana de concentração foi <LQ, apesar do valor médio descrito acima. Por outro lado, nas espécies *S. longirostris* e *T. truncatus*, as medianas de concentração para total de PCBs, respectivamente 109 ng g-1 (peso úmido) e 352 ng g-1 (peso úmido), que são valores não muito distantes das suas respectivas médias. Além disto, nestas duas espécies foram encontrados máximos de concentração de 804 ng g-1 e 4240 ng g-1 (ambas peso úmido), respectivamente.

Tabela V.5-14: *Resultados de PCBs e PBDEs, em ng g-1 (peso úmido) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023).*

Táxons	Sigla	n	PCB (ng g-1, peso úmido)								PBDE (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
Eubalaena australis	Ba.au	2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera borealis	Ba.b	3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera bonarensis	Ba.bo	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera brydei	Ba.by	6	65,2	90,5	<LQ	14,1	24,5	76,4	238	17	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Megaptera novaeangliae	Ba.mn	5	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	8,54	19,1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	42,7	80
Balaenoptera physalus	Ba.ph	2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Delphinus delphis	D.sp	4	11,2	7,53	<LQ	10,6	14,6	15,2	15,8	25	9,71	19,4	<LQ	<LQ	<LQ	9,71	38,8	75
Orcinus orca	Or.o	5	3,49	7,8	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	17,5	80	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100

Táxons	Sigla	n	PCB (ng g-1, peso úmido)								PBDE (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
Pseudorca crassidens	Ps.c	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella attenuata	St.a	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Steno bredanensis	St.b	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella clymene	St.c	2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	8,32	11,8	<LQ	4,16	8,32	12,5	16,7	50
Stenella frontalis	St.f	20	181	357	<LQ	<LQ	<LQ	255	1200	60	23,3	64,8	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	237	80
Stenella longirostris	St.l	22	174	195	<LQ	19,1	109	277	804	23	6,99	12,2	<LQ	<LQ	<LQ	5,91	39,3	59
Tursiops truncatus	T.t	42	804	1040	0	26,9	352	1180	4240	17	23,5	41,6	<LQ	<LQ	<LQ	33,9	218	55

A distribuição é bastante semelhante nas três espécies com maiores concentrações de PCBs, com PCB 153 > PCB 138 > PCB 180 (**Figura V.5-9**), o que é muito semelhante com dados de golfinhos da costa brasileira (LAVANDIER et al., 2016). Há também semelhança quando se considera o número de cloros na estrutura do PCB, com prevalência de compostos hexaclorados e distribuição normal entre compostos penta e heptaclorados. Este perfil possui similaridades com as misturas Aroclor 1254 e Aroclor 1260, que foram as formulações de PCB mais amplamente comercializadas e utilizadas no Brasil (YOGUI, 2002). A mistura Aroclor 1254 era constituída principalmente por congêneres penta, hexa e tetraclorados, respectivamente, mas também possuía em menores proporções os congêneres heptaclorados. Por outro lado, a mistura Aroclor 1260 possuía predominância dos congêneres hexa e heptaclorados, que correspondiam a 70% ou mais de sua composição (PENTEADO; VAZ, 2001; YOGUI, 2002; LAVANDIER et al., 2015).

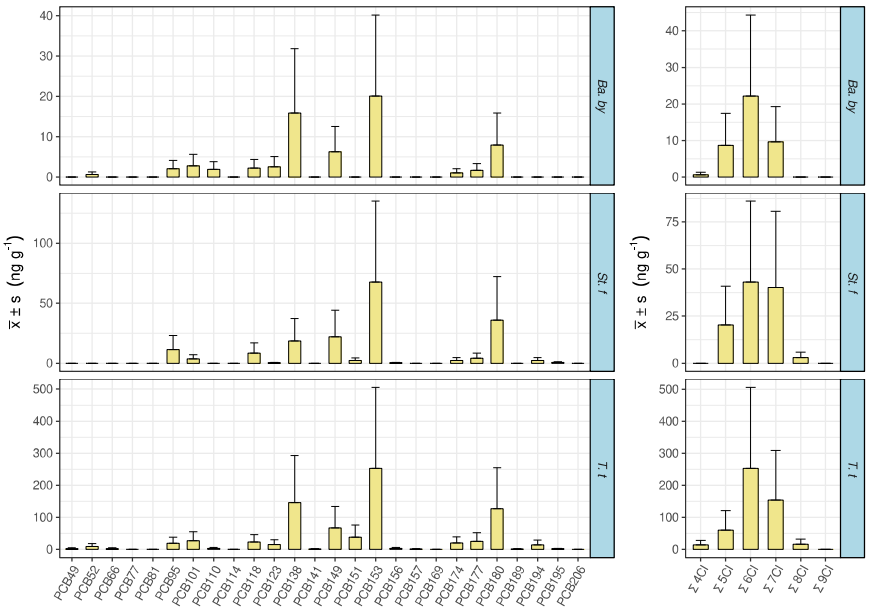


Figura V.5-9: *Distribuição dos diversos congêneres de PCBs (média e desvio padrão) em ng g^{-1} (peso úmido) para o conjunto de amostras de* ***Balanaoptera brydei*** *(Ba.by; n = 6),* ***Stenella frontalis*** *(St.f; n = 20) e* ***Tursiops truncatus*** *(T.t; n = 42) coletadas nos Ciclos de Curto e de Médio Prazo do PMC-BS (até agosto/2023).*

Para o PBDE, somente 3 espécies entre as 15 analisadas para esta classe de contaminantes tiveram ocorrência mais significativa: *Stenella longirostris* (n = 22; 41 % acima do LQ) e *Tursiops truncatus* (n = 42; 45% acima do LQ). O PBDE também foi detectado na espécie *Stenella frontalis* (4 em 20 amostras), *Megaptera novaeangliae* (1 de 5 amostras), *Delphinus* sp. (1 em 4 amostras) e *Stenella clymene* (1 em 2 amostras).

As médias de concentração de PBDE nestas espécies oscilaram na ordem de 10 ng g-1 (peso úmido) até cerca de 23 ng g-1 (peso úmido), sendo em todos os casos o desvio-padrão muito superior à média. De fato, a mediana de concentração de PBDE em todos estes casos ficou abaixo do LQ, com exceção de *Stenella clymene*, mas com apenas duas amostras analisadas.

Existem, em função do número e posição de átomos de bromo na estrutura, 209 congêneres possíveis de PBDE, mas apenas 7 congêneres são comercialmente utilizados em misturas que contêm de 4 a 10 bromos (ALONSO et al., 2014). Há uma relação inversa entre volatilidade e o número de bromos, de forma que os PBDEs contendo 4 a 5 átomos do elemento têm uma maior dispersão no meio ambiente (BARTALINI et al., 2022). Os resultados do PMC-BS são consistentes com esta tendência, pois os tetra-PBDE e penta-PBDE foram os mais abundantes nas espécies *Stenella frontalis* e *Tursiops truncatus* (**Figura V.5-10**), assim como ao já encontrado em mamíferos marinhos do litoral de SP e RJ (DORNELES et al., 2010; YOGUI et al., 2011).

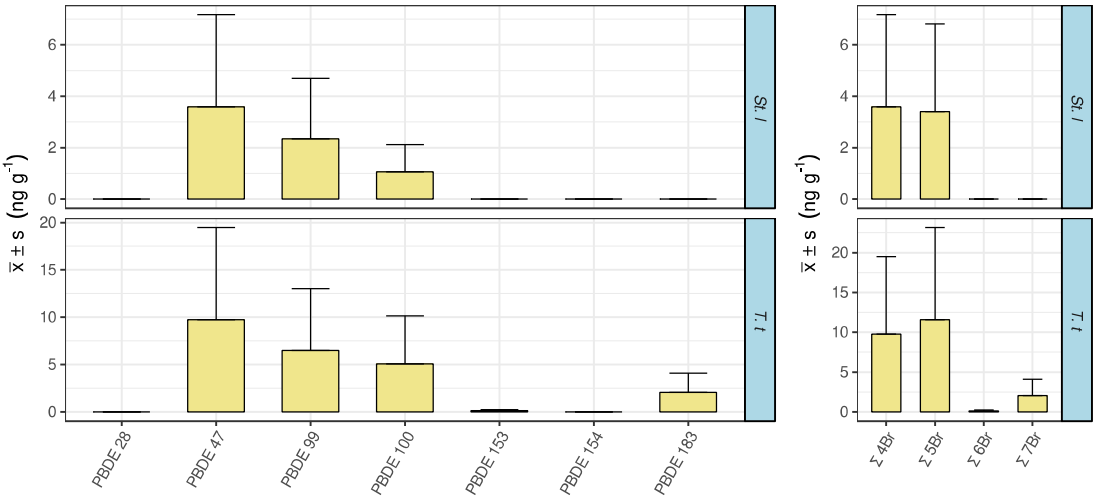


Figura V.5-10: *Distribuição dos diversos congêneres de PBDEs (média e desvio padrão) em ng g^{-1} (peso úmido) para o conjunto de amostras de* ***Stenella frontalis*** *(St.f; n = 20) e* ***Tursiops truncatus*** *(T.t; n = 42) coletadas nos Ciclos de Curto e de Médio Prazo do PMC-BS (até agosto/2023).*

As concentrações de PCBs (n = 117; média = 356,1 ± 727 ng g-1, mediana = 22,7 ng g-1; faixa de <LQ – 4241 ng g-1; peso úmido) e de PBDEs (n = 117, média = 14,6 ± 38,1 ng g-1; mediana = <LQ; faixa de <LQ – 237 ng g-1; peso úmido) obtidas até o presente (agosto/2023) no PMC-BS podem ser consideradas baixas se comparadas com dados de literatura. Por exemplo, Meng et al (2009) reporta concentrações de Σ PBDEs para o leão-marinho-da-Califórnia (n = 63), com concentrações do total de PCBs de 40 a 33.700 ng g-1 em peso úmido (MENG et al., 2009), A média de concentração (5.240 ng g-1) foi muito superior à encontrada no mesmo estudo em focas-do-porto (n = 9) e elefantes-marinhos-do-Norte (n = 16), que foram de 960 e 90 ng g-1 (peso úmido), respectivamente. Em outro trabalho, Tuerk et al. (2005) reportam para ∑PBDE em tecido adiposo (soma de PBDE 47, 99, 100, 153, e 154) concentrações mais elevadas em juvenis de *L. acutus* (2410 ± 1200 ng g-1 massa úmida), e menores concentrações em fêmeas adultas de *S. bredanensis* (510 ± 600 ng g-1 em massa úmida). Law et al. (2002) analisaram 60 toninhas do porto de Inglaterra e País de Gales, amostrados durante o

período 1996-2000, com concentrações variando desde abaixo do limite de detecção até 6.900 ng g-1 de peso úmido na gordura.

V.5.3.3.3 Distribuição e ocorrência de pesticidas organoclorados

Diversas classes de pesticidas foram identificadas e quantificadas, incluindo ∑DDT, ∑HCH, ∑drins, ∑clordanas, ∑endosulfans, além do metoxicloro e mirex (Tabelas IV.3.1 a IV.3.4).

O DDT (o,p'-DDT e p,p'-DDT) e seus metabólitos (p,p'-DDE, o,p'-DDD, p,p'-DDD) foram os POPs mais recorrentes entre os pesticidas organoclorados, com registro em cinco das doze espécies (**Tabela V.5-15**), assim como também foram os compostos mais abundantes entre os pesticidas. O destaque é a espécie *T. truncatus* (n = 32; 78% das amostras acima do LQ), com os seguintes valores para o total de DDTs (todos os valores em peso úmido): média = 203 ± 244 ng g-1; mediana = 111 ng g-1; faixa de <LQ a 831 ng g-1. Em todas as demais espécies amostradas (*Balaenoptera brydei*, *Megaptera novaeangliae*, *Orcinus orca* e *Stenella frontalis*), todas com número amostral reduzido (inferior a 10 indivíduos), as concentrações médias do ∑DDT ficaram entre 9,17 ± 27,5 ng g-1 (peso úmido) a 32,5 ± 30 ng g-1 (peso úmido).

Os resultados para DDTs do PMC-BS situam-se na faixa inferior em comparação com dados de literatura para cetáceos em geral. Por exemplo, Stockin et al. (2007) reportam concentrações para o ∑DDTs entre 17 e 337 ng g-1 e entre 654 e 4430 ng g-1, peso úmido, para fêmeas e machos, respectivamente, em espécimes de *Delphinus* sp. da Nova Zelândia. Em zonas mais contaminadas, estes compostos encontram-se mais concentrados em até três ordens de grandeza, na faixa de micrograma por grama de tecido adiposo (µg g-1). Por exemplo, no Mar Mediterrâneo são reportadas concentrações de ΣDDTs em *Tursiops truncatus* na faixa de 0,92 a 141 µg g-1, peso úmido (SHOHAM-FRIDER et al., 2009). Aguilar; Borell (2005), também para o Mar Mediterrâneo, reportam uma ampla faixa de concentração para o ΣDDTs, entre 3,52 e 111 µg g-1, em peso úmido, para amostras de tecido adiposo de *Stenella coeruleoalba* coletadas no período de 1987 a 2002.

Tabela V.5-15: *Resultados de DDTs totais e HCH totais, em ng g-1 (peso úmido,) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023).*

Táxons	Sigla	DDTs totais (ng g-1, peso úmido)								HCHs totais (ng g-1, peso úmido)							
		Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx	<LQ (%)
Eubalaena australis	Ba.au	15,3	-	15,3	15,3	15,3	15,3	15,3	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera borealis	Ba.b	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
B. bonarensis	Ba.bo	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
B. brydei	Ba.by	10,6	13,5	<LQ	1,22	6,31	13,6	35,4	33,3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Megaptera novaeangliae	Ba.mn	32,5	30	<LQ	19,2	38,3	48,7	59,1	33,3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
B. physalus	Ba.ph	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Delphinus delphis	D.sp	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Orcinus orca	Or.o	14,7	29,5	<LQ	<LQ	<LQ	14,7	58,9	75	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Pseudorca crassidens	Ps.c	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella frontalis	St.f	9,17	27,5	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	82,5	88,9	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100

Táxons	Sigla	DDTs totais (ng g-1, peso úmido)								HCHs totais (ng g-1, peso úmido)							
		Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx	<LQ (%)
S. longirostris	St.l	75,4	68,6	6,61	34,3	59,3	103	304	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Tursiops truncatus	T.t	203	244	<LQ	10,5	111	279	831	21,9	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100

O hexaclorohexano (HCH) não foi detectado em nenhuma das 117 amostras de tecido adiposo de cetáceos analisadas até agosto/2023 pelo PMC-BS (**Tabela V.5-15**). Já para ∑drins, ∑clordanas, ∑endosulfan e metoxicloro, as ocorrências foram em número reduzido de amostras, geralmente com a espécie *Tursiops truncatus* (**Tabela V.5-16** e **Tabela V.5-17**. Por exemplo, em 5 de 32 amostras de *T. truncatus* a concentração média de ∑drins foi de 3,59 ± 8,57 ng g-1 (peso úmido) e em 2 de 32 amostras da mesma espécie a concentração média de metoxicloro foi de 3,66 ± 14,6 ng g-1 (peso úmido).

Para mirex, duas espécies apresentaram concentrações detectáveis (**Tabela V.5-18**): *Stenella frontalis* (12 de 17 amostras, média de 13,0 ± 14,2 ng g-1, faixa de <LQ a 56 ng g-1, peso úmido) e *Tursiops truncatus* (15 de 32 amostras, média de 34,3 ± 74,6 ng g-1, faixa de <LQ a 398 ng g-1, peso úmido). Para esta última espécie, os valores encontrados no PMC-BS são comparáveis, por exemplo, à faixa entre 14 e 312 ng g-1 (peso úmido) de mirex reportada em *Sotalia guianensis* do estuário de Cananéia/SP por Yogi et al. (2003).

Tabela V.5-16: *Resultados de Drins totais e Clordanas totais, em ng g-1 (peso úmido,) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023).*

Táxons	Sigla	n	Drins totais (ng g-1, peso úmido)								Clordanas totais (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
Eubalaena australis	Ba.au	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera borealis	Ba.b	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera bonarensis	Ba.bo	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera brydei	Ba.by	6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Megaptera novaeangliae	Ba.mn	3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera physalus	Ba.ph	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Delphinus delphis	D.sp	3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Orcinus orca	Or.o	4	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100

Táxons	Sigla	n	Drins totais (ng g-1, peso úmido)								Clordanas totais (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)	Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
Pseudorca crassidens	Ps.c	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella frontalis	St.f	9	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella longirostris	St.l	17	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Tursiops truncatus	T.t	32	3,59	8,57	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	27,6	84,4	0,21	1,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	6,71	96,9

Tabela V.5-17: *Resultados de endosulfans totais e metoxicloro, em ng g-1 (peso úmido,) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023).*

Táxons	Sigla	n	Endosulfans totais (ng g-1, peso úmido)									Metoxicloro (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)		Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
Eubalaena australis	Ba.au	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera borealis	Ba.b	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera bonarensis	Ba.bo	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera brydei	Ba.by	6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Megaptera novaeangliae	Ba.mn	3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera physalus	Ba.ph	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Delphinus delphis	D.sp	3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Orcinus orca	Or.o	4	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100

Táxons	Sigla	n	Endosulfans totais (ng g-1, peso úmido)									Metoxicloro (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)		Média	Desvio	Mín.	Q1	Mediana	Q3	Máx.	<LQ (%)
Pseudorca crassidens	Ps.c	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella frontalis	St.f	9	0,65	1,95	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	5,85	88,9		<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella longirostris	St.l	17	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Tursiops truncatus	T.t	32	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100		3,66	14,6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	68,7	93,8

Tabela V.5-18: *Resultados de mirex, em ng g-1 (peso úmido,) para todas as biópsias analisadas, por espécie amostrada pelo PMC-BS ao longo dos Ciclos de Curto e de Médio Prazos (até agosto/2023).*

Táxons	Sigla	n	Mirex (ng g-1, peso úmido)							
			Média	Desvio	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo	<LQ (%)
Eubalaena australis	Ba.au	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera borealis	Ba.b	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera bonarensis	Ba.bo	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Balaenoptera brydei	Ba.by	6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Megaptera novaeangliae	Ba.mn	3	31,8	55,1	<LQ	<LQ	<LQ	47,7	95,4	66,7
Balaenoptera physalus	Ba.ph	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Delphinus delphis	D.sp	3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Orcinus orca	Or.o	4	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Pseudorca crassidens	Ps.c	1	<LQ	-	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella frontalis	St.f	9	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	100
Stenella longirostris	St.l	17	13	14,2	<LQ	<LQ	9,36	20,4	56	29,4
Tursiops truncatus	T.t	32	34,3	74,6	<LQ	<LQ	<LQ	32,8	398	53,1

V.5.3.4 Comentários Finais

A realização do PMC-BS, incluindo o Ciclo de Curto Prazo (2015-2021) e o Ciclo de Médio Prazo (iniciado em 2021), permitiu a análise de um número expressivo de amostras de tecido adiposo de cetáceos: 236 amostras anlisadas para ∑HPAs englobando 19 espécies; 117 amostras de 12 espécies analisadas para PCB e PBDE e 79 amostras, também de 12 espécies cetáceos, analisadas para pesticidas organoclorados.

Os HPAs são o grupo de contaminantes com ocorrência mais frequente entre as espécies, estando presentes em 14 do total de 19 espécies de cetáceos amostrados. Na ordem decrescente de ocorrência, vem o ∑DDT (5 em 12 táxons) e PCB (6 de 15 táxons). PBDE e mirex foram encontrados em duas espécies, enquanto os demais grupos de pesticidas (HCH, ∑drins, ∑clordanas, ∑endosulfans e metoxicloro) foram virtualmente ausentes.

No entanto, como o número amostral por espécie é bastante diverso, o ∑DDT é o contaminante mais recorrente, sendo detectado acima do limite de quantificação em 65,2% do total de 79 amostras analisadas). Em seguida vêm PCBs (59,7 % das 117 amostras analisadas) e HPAs (52,3% de 236 amostras analisadas). PBDEs (31,1 % de 117 amostras) e metoxicloro (35,5% de 79 amostras) são menos frequentes, e os demais (HCH, ∑drins, ∑clordanas e mirex) tiveram ocorrência inferior a 10% do total de amostras até agora analisadas no PMC-BS.

Em termos de concentração, por outro lado, a sequência em ordem decrescente para todas as amostras coletadas no PMC-BS foi a seguinte (todos os valores em peso úmido): PCB (356 ± 727 ng g-1) > ∑DDT (103,1 ± 179,6 ng g-1) > Σ37HPAs (92,4 ± 312 ng g-1) > mirex (17,9 ± 50,6 ng g-1) > ∑Drins (1,5 ± 5,7 ng g-1) ≈ metoxicloro (1,5 ± 9,4 ng g-1) > endosulfan (0,1 ± 0,7 ng g-1) ≈ ∑clordana (0,1 ± 0,8 ng g-1), sendo que o HCH não foi detectado em nenhuma amostra.

As baixas concentrações de HPAs, e a presença quase exclusiva de naftalenos, não permite avaliar o perfil e/ou inferir qualquer fonte destes hidrocarbonetos, assim como entre espécies. As concentrações de HPAs encontradas nas amostras foram baixas e são comparáveis às concentrações de áreas pristinas reportadas na literatura e a estudos pretéritos na área de

amostragem. Para PCBs, PBDE e as diversas classes de pesticida clorados analisadas, os valores obtidos são condizentes com os reportados para áreas costeiras e com os obtidos em estudos pretéritos na área.

De uma forma geral, há uma tendência de maiores concentrações das diversas classes de contaminantes orgânicos analisados no PMC-BS em espécies com comportamento próximo à costa, particularmente para *Stenella* sp. e *Tursiops truncatus*. Isto evidencia o maior aporte de HPAs e outros POPs a partir de fontes terrestres, particularmente em regiões de maior concentração humana e desenvolvimento econômico.

Por fim, não se observa nenhuma tendência de variação temporal na concentração de HPAs, PCB, PBDE e pesticidas organoclorados ao longo dos oito anos de coleta do PMC-BS.

V.5.4 Biomarcadores

V.5.4.1 Apresentação

Este item apresenta as atividades desenvolvidas e os principais resultados das análises de biomarcadores bioquímicos e moleculares realizadas em amostras (biópsias) de pele de quatro espécies de cetáceos marinhos coletadas pelo PMC-BS. Essas quatro espécies, ditas "prioritárias" por sua seleção para tais análises de biomarcadores, são: *Balaenoptera brydei, Stenella longirostris* e *Tursiops truncatus*, que foram analisadas também no Ciclo de Curto Prazo, além de *Megaptera noveangliae*, espécie incluída como prioritária a partir do Ciclo de Médio Prazo. As análises e a interpretação dos resultados foram desenvolvidas pelo Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica (LABCAI) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sob a coordenação do prof. Dr. Afonso C.D. Bainy.

Especificamente, são descritas as atividades finalizadas até setembro de 2023, conforme segue: (i) dentre os biomarcadores bioquímicos, foram realizadas as padronizações do ensaio para a quantificação da atividade GST, imunodetecção de CYP1A e quantificação dos níveis de proteínas carboniladas em tecido tegumentar de *M. noveangliae*; (ii) dentre as padronizações de biomarcadores moleculares, foram desenhados e testados iniciadores para avaliação dos níveis de transcritos do gene *GSTα* na baleia *B. brydei*, e nos golfinhos *S. longirostris* e *T. truncatus*. Além disso, foram realizadas extrações de RNA total de tecido tegumentar de *M. noveangliae*, que será utilizado no sequenciamento, montagem e análise funcional do transcriptoma para identificação de genes alvo na espécie.

V.5.4.2 Recebimento e guarda de amostras

Até a conclusão da elaboração deste item do 8º Relatório Anual, foram recebidas pelo LABCAI amostras de 487 espécimes de 22 espécies de cetáceos marinhos destinadas à análise de biomarcadores bioquímicos e moleculares (**Tabela V.5-19**). A descrição resumida do quantitativo das amostras é proveniente

das fichas de custódia do PMC-BS, localizadas no LABCAI. Todas as amostras estão armazenadas em freezer -80°C no LABCAI.

***Tabela V.5-19**: Amostras provenientes do Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS) destinadas à análise de biomarcadores. As espécies prioritárias para análise de biomarcadores bioquímicos e moleculares estão sinalizadas em azul e sublinhadas.*

Amostras recebidas até 09/10/2023		
Grupo taxonômico	**Espécie**	**Número de espécimes**
Odontoceti	*Stenella frontalis*	126
	Tursiops truncatus	87
	Stenella longirostris	65
	Stenella attenuata	20
	Delphinus delphis	22
	Steno bredanensis	14
	Stenella clymene	13
	Globicephala sp.	13
	Orcinus orca	10
	Physeter macrocephalus	06
	Peponocephala electra	05
	Pseudorca crassidens	02
	Sotalia guianensis	01
Mysticeti	*Balaenoptera borealis*	37
	Megaptera noveangliae	31
	Balaenoptera brydei	10
	Balaenoptera physalus	09
	Balaenoptera bonaerensis	07
	Balaenoptera musculus	03
	Eubalaena australis	04
	Balaenoptera acutorostrata	01
Não identificado		01
TOTAL: 22 espécies **TOTAL: 487 espécimes**		

Dessas 487 amostras coletadas pelas equipes do PMC-BS, 5 (cinco) foram

consideradas inadequadas para análise de biomarcadores, pois foram recebidas fora dos microtubos originais, não sendo possível distinguir de qual animal provinham.

V.5.4.2.1 Distribuição Espacial das Amostras Recebidas

A distribuição geográfica das amostras das espécies prioritárias (*B. brydei, M. noveangliae, S. longirostris* e *T. truncatus*) coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas ao LABCAI, está indicada nas **Figuras V.5-11** a **V.5-14**.

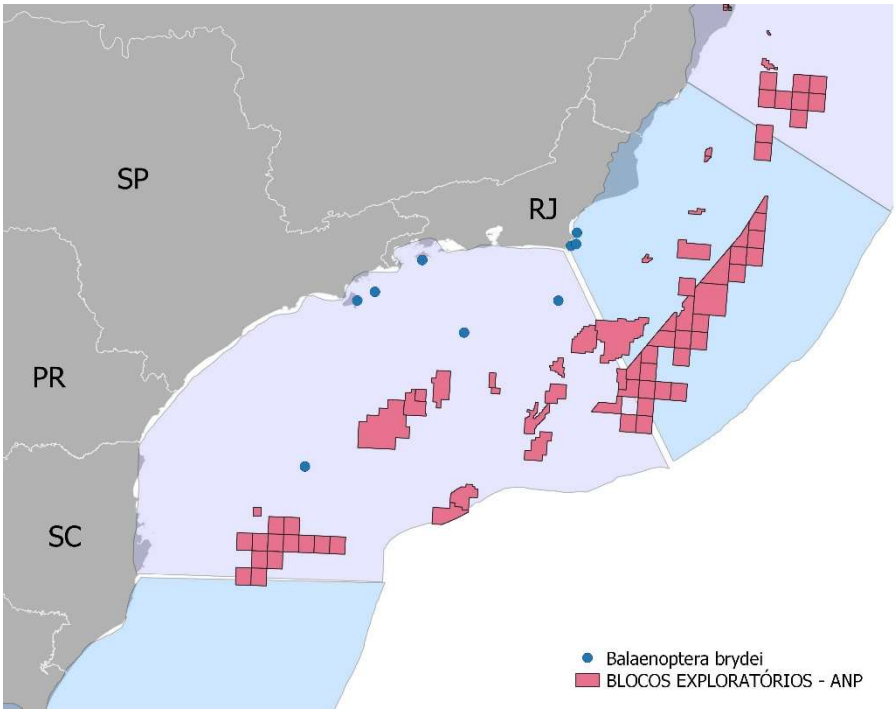


Figura V.5-11: *Distribuição georeferenciada das amostras de* ***Balaenoptera brydei*** *coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas para análises de biomarcadores.*

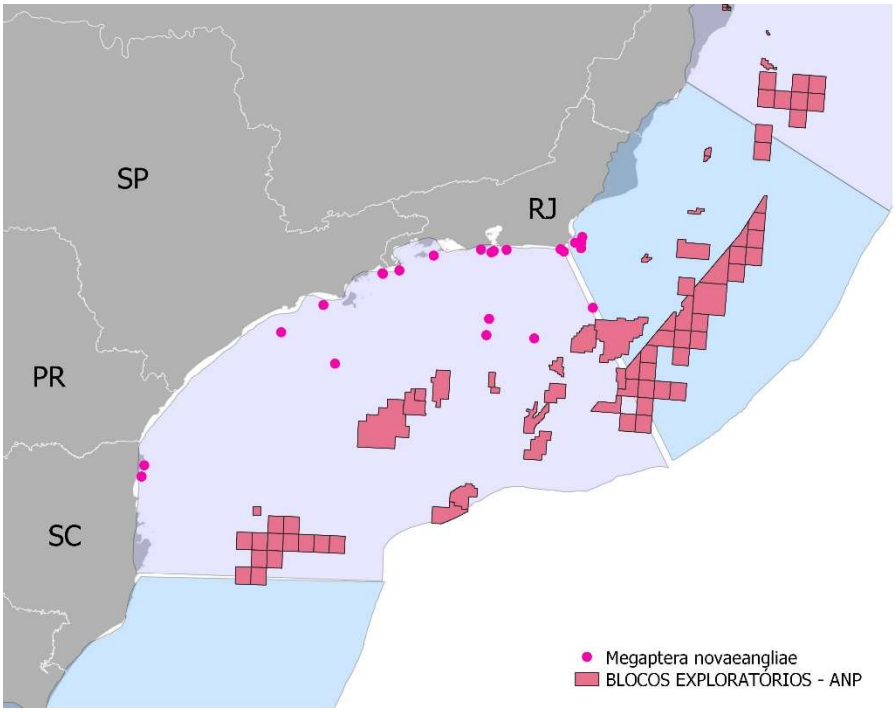


Figura V.5-12: *Distribuição georeferenciada das amostras de* ***Megaptera novaeangliae*** *coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas para análises de biomarcadores.*

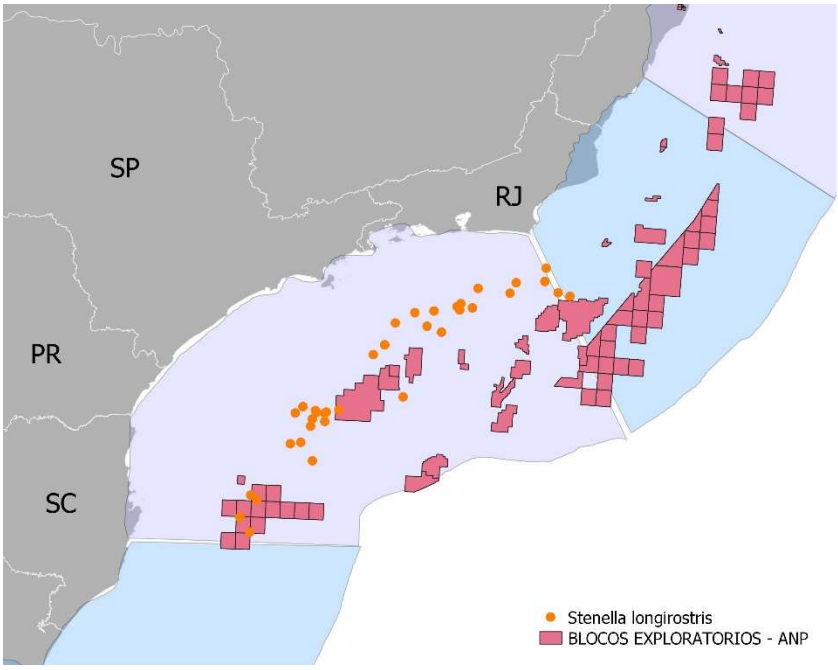


Figura V.5-13: *Distribuição georeferenciada das amostras de* ***Stenella longirostris*** *coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas para análises de biomarcadores.*

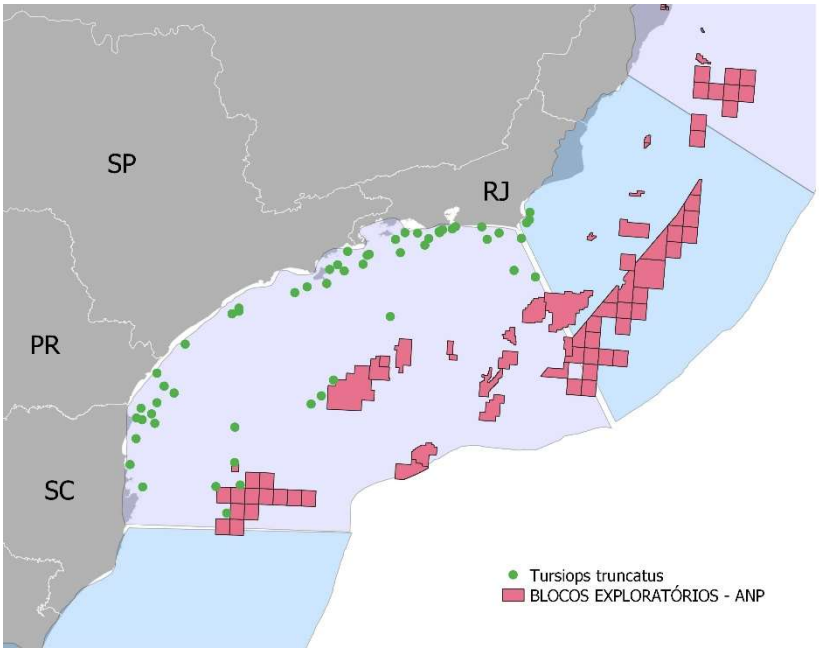


Figura V.5-14: *Distribuição georeferenciada das amostras de* ***Tursiops truncatus*** *coletadas no âmbito do PMC-BS e encaminhadas para análises de biomarcadores.*

V.5.4.3 Padronizações de biomarcadores bioquímicos

As atividades de padronização de análises bioquímicas descritas neste relatório compreendem: (a) a padronização do ensaio de atividade da enzima GST; estabelecimento do limite de detecção; e a avaliação dos parâmetros reprodutibilidade e repetibilidade deste ensaio em amostras de tecido tegumentar de *M. noveangliae*; (b) a padronização da quantificação dos níveis proteicos de CYP1A no mesmo tecido de *M. noveangliae*.

Para estas etapas de padronização foram utilizados *pools*, formados por volumes iguais de amostras individuais obtidas dos espécimes apresentados na **Tabela V.5-20**.

Tabela V.5-20: *Identificação dos espécimes de* ***Megaptera noveangliae*** *cujas amostras foram utilizadas para a padronização das análises de biomarcadores bioquímicos.*

Identificação de espécimes – padronização biomarcadores bioquímicos				
Espécie	**Código LABCAI**	**Nº da biópsia (PMC-BS)**	**Instituição de origem**	**Tecido biológico**
Megaptera noveangliae	MN01	62	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN02	78	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN03	52	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN04	51	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN05	585	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN06	571	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN07	468	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN08	455	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN09	186	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN10	466	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN11	151	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN12	272	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN13	275	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN14	142	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN15	370	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN16	368	Socioambiental	Tegumentar

Identificação de espécimes – padronização biomarcadores bioquímicos				
Espécie	**Código LABCAI**	**Nº da biópsia (PMC-BS)**	**Instituição de origem**	**Tecido biológico**
Megaptera noveangliae	MN17	369	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN18	467	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN19	277	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN20	157	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN21	183	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN22	184	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN23	185	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN24	280	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN25	279	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN26	135	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN27	144	Socioambiental	Tegumentar
Megaptera noveangliae	MN28	147	Socioambiental	Tegumentar

V.5.4.3.1 Padronização do método para ensaio de atividade glutationa s-transferase em amostras tegumentares de Megaptera noveangliae

- ***Homogeneização das amostras***

Amostras de tecido tegumentar de *M. noveangliae*, contendo aproximadamente 100 mg, foram homogeneizadas individualmente em cinco vezes o volume de tampão de homogeneização Tris-HCl (50 mM, pH 7,4), contendo 150 mM KCl, 1 mM DTT e 0,5 mM do inibidor de proteases PMSF. Os tecidos foram

homogeneizados com o homogeneizador TissueTearor™ (BioSpec™). Durante todo o procedimento, as amostras foram mantidas sobre o gelo.

O homogeneizado foi centrifugado a 9.000 xg por 30 minutos a 4°C para obtenção da fração citosólica (fração S9). A preparação da fração microssomal, que corresponde à membrana do retículo endoplasmático, foi realizada através de uma segunda centrifugação da fração S9 a 100.000 xg por 60 minutos a 4°C utilizando uma ultracentrífuga Hitachi CP100WX. A fração sobrenadante desta segunda centrifugação resultante foi acondicionada em novo microtubo e armazenada em ultrafreezer a -80°C, e a fração microssomal (MIC) foi ressuspendida em tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7,4), contendo 1 mM EDTA, 0,1 M KCl e glicerol 20%. A fração citosólica foi utilizada para a padronização da atividade GST, e a microssomal para a padronização da quantificação dos níveis de CYP1A.

- ***Determinação de proteínas totais***

A determinação da concentração de proteínas na fração citosólica das amostras de *M. noveangliae* foi realizada por meio do método de Bradford (BRADFORD, 1976). O método utiliza o corante Coomassie Brilliant Blue (G-250), que reage com os aminoácidos das proteínas, mostrando uma coloração que varia do tom marrom para o azulado. A intensidade da cor da reação varia de acordo com a concentração de proteínas.

A determinação de proteínas totais foi realizada com o kit Bio-RadProteinAssay® (Bio-Rad®) de acordo com as instruções do fabricante. Em uma microplaca com 96 poços foram adicionados, em duplicata, de 0,75 a 1,5 µL de cada amostra, e 200 µL do reagente de Bradford filtrado, totalizando um volume final de até 201,5 µL. Após incubação de cinco minutos, foi realizada uma leitura simples das amostras a 595 nm utilizando o espectrofotômetro de placas SpectraMax® M5 (Molecular Devices®). As absorbâncias das amostras foram comparadas a uma curva padrão de albumina sérica bovina produzida no mesmo ensaio das amostras. A concentração de proteínas totais está expressa em $mg.mL^{-1}$.

- ***Determinação das condições de ensaio da atividade glutationa s-transferase***

Para determinar as condições do ensaio GST em tecido tegumentar foram construídas duas curvas de cinética enzimática para *M. novaeangliae*. As curvas cinéticas foram utilizadas para determinar os parâmetros cinéticos de velocidade máxima (Vmax) e a constante de Michaelis-Menten aparente (Kmapp) para os substratos CDNB e GSH. A determinação da atividade GST seguiu o método descrito por Habig et al. (1974), com modificações para microplaca, onde o *pool* de amostras foi incubado a 37°C com 100 µL do meio de GSH. Após a incubação de 5 minutos, 100 µL do meio de CDNB foi adicionado à reação, e a formação do produto GS-DNB foi acompanhada durante 5 minutos em 340 nm no espectrofotômetro (SpectraMax M5, Molecular Devices®). Para ambos os ensaios foi utilizado um *pool* formado a partir de volumes iguais de frações sobrenadantes das amostras previamente homogeneizadas (**Tabela V.5-20**).

Primeiramente foram realizados os ensaios de atividade GST utilizando uma concentração fixa de CDNB (2,5 mM) e concentrações crescentes de GSH (0,0117; 0,0234; 0,0469; 0,0938; 0,1875; 0,375; 0,75; 1,5; 3 e 6 mM). Uma segunda curva de cinética enzimática da GST foi construída com concentração fixa de GSH no meio de reação, determinada a partir dos cálculos de cinética enzimática da primeira curva (3,5 mM) e concentrações crescentes de CDNB (0,00976; 0,0195; 0,0390; 0,0781; 0,156; 0,312; 0,625; 1,25 e 2,5 mM). A concentração final de etanol no ensaio foi de 7,5%. Para obtenção de Kmapp e Vmax, ambas as curvas de cinética enzimática foram submetidas à regressão não linear com a equação de Michaelis-Menten por meio do programa GraphPad Prism 9.4.

A atividade GST foi calculada através da fórmula:

$$\mathbf{mU.mgprt^{-1}} = (\mathrm{mAbs.min}) \times (\mathrm{Vol.total})/(\mathrm{Vol.amostra}) \times (\mathrm{mg.prt}) \times \varepsilon$$

Onde,

mU.mgprt^{-1} = atividade GST por massa (mg) de proteína

mAbs.min = taxa de formação de GS-DNB (ε = 9,6 mM.cm^{-1})

Vol. total = volume total da reação

Vol. amostra = volume da amostra

mg.prt = concentração de proteína em $mg.mL^{-1}$

ε = coeficiente de extinção molar

- ***Estabelecimento do limite de detecção e do intervalo ótimo de quantificação para ensaio de atividade glutationa s-transferase***

1) Estabelecimento do limite de detecção teórico

O **limite de detecção teórico** das condições de ensaio para tecido tegumentar de *M. noveangliae* foi estabelecido com base nos valores dos brancos, conforme descrito por Gagné (2014). Segundo o autor, o limite de detecção teórico pode ser calculado como o valor médio dos brancos somado a duas vezes o desvio padrão.

O valor médio de brancos foi calculado com base em uma octuplicata de brancos com tampão de homogeneização, submetidas às condições ótimas de ensaio definidas a partir dos experimentos descritos na seção anterior e seguindo a metodologia previamente descrita. A formação do produto conjugado GS-DNB foi acompanhada durante 10 min no espectrofotômetro (SpectraMax® M5, Molecular Devices®), e a leitura foi feita a 37ºC. O cálculo da média e do desvio padrão foi realizado com base nos valores de $mAbs.min^{-1}$.

2) Estabelecimento do intervalo ótimo de quantificação do método

Além da determinação do **limite de detecção teórico**, foi realizado um ensaio de atividade GST com concentrações crescentes de amostras de 0,625 a 100 µg de proteínas totais, sob as mesmas condições descritas anteriormente. Essa curva não é propriamente uma curva de calibração, pois a massa endógena de GST na amostra de proteínas totais da pele não é conhecida (*i.e.* não há padrão puro). Entretanto, a variação do sinal da GST ($mAbs.min^{-1}$) é proporcional à massa de proteínas totais, pois a enzima GST também é uma proteína. A vantagem do uso dessa matriz complexa é incluir na avaliação da metodologia o efeito da matriz.

Este ensaio permite determinar o **limite de detecção operacional da metodologia** a ser utilizado em futuras análises. O limite de detecção operacional da metodologia é baseado na relação linear entre o sinal do biomarcador e a massa

de proteínas. Mais especificamente, a ruptura da linearidade no limite inferior da reta, mas acima do limite de detecção teórico, mostra o **limite de detecção operacional da metodologia**, e a ruptura da linearidade no limite superior da reta indica o **limite superior de quantificação**. Entre esses dois limites está o **intervalo ótimo de quantificação**, em que a relação mAbs.min^{-1} varia linearmente com a massa de proteínas da amostra. Portanto, nesse ensaio é avaliada a linearidade da relação entre a massa de proteínas e os valores de mAbs.min^{-1} por meio de uma análise de regressão linear. Os valores de mAbs.min^{-1} abaixo do limite de detecção operacional da metodologia e acima do limite superior de quantificação não devem representar fielmente valores de atividade das amostras avaliadas. Desta forma, análises futuras devem considerar apenas valores de mAbs.min^{-1} entre esses dois limites (GAGNÉ, 2014). O critério de linearidade foi o parâmetro r^2 acima de 0,97, e aqueles pontos, que quando incluídos implicavam em desvio da linearidade para abaixo de 0,97, foram excluídos do intervalo ótimo de quantificação.

Tais limites estabelecidos são válidos para futuras análises na mesma matriz tecidual e sob as mesmas condições de ensaio. Desta forma, valores de mAbs.min^{-1} que se situem dentro do intervalo ótimo de quantificação e acima do limite de detecção são considerados adequados.

- ***Avaliação dos valores de precisão do método para o ensaio de atividade glutationa s-transferase***

Para garantir a obtenção de dados confiáveis, é necessário que o método utilizado seja robusto para assegurar que o mesmo resultado possa ser obtido independentemente do momento de análise (GAGNÉ, 2014). Portanto, para a avaliação da robustez dos métodos de ensaio de determinação da atividade GST em tecido tegumentar de *M. noveangliae* foram utilizados valores de precisão intra-ensaio (repetibilidade) e entre ensaios (reprodutibilidade). Para o cálculo da **precisão da repetibilidade** os testes foram realizados com o *pool* das frações citosólicas obtido após a homogeneização individual das amostras listadas na **Tabela V.5-20**.

Para o estabelecimento dos valores da **precisão da repetibilidade** do ensaio GST foram analisados os valores de mAbs.min^{-1} de oito réplicas técnicas de um mesmo *pool* de amostras. Esses ensaios permitem avaliar um eventual erro

embutido na análise de uma amostra, decorrente de procedimentos de manipulação das amostras e pipetagem durante o ensaio. O ensaio foi realizado seguindo as condições já determinadas para a espécie e os protocolos padronizados e apresentados neste relatório.

Para o cálculo da **precisão da reprodutibilidade** do ensaio, foram realizados oito experimentos distintos, com reagentes pesados de forma independente e meios de reação preparados separadamente, sempre seguindo as condições e procedimentos previamente padronizados para a espécie. Esses ensaios representam, hipoteticamente, a realização de análises em momentos diferentes da presente prestação de serviço, e permitem avaliar um potencial erro embutido no procedimento de pesagem e preparação de reagentes, além de diferenças na calibração dos equipamentos.

O valor de precisão foi calculado de acordo com Gagné (2014), utilizando a fórmula abaixo:

$$P = 100 – [(dp/md)*100)]$$

Sendo,

P = valor de precisão do método

dp = desvio padrão

md = média aritmética

- ***Resultados e discussão da padronização do método para o ensaio de atividade glutationa s-transferase***

As curvas cinéticas de atividade GST em função do substrato GSH obtidas em amostras tegumentares de *M. noveangliae* mostram visualmente um platô em torno de 3,5 mM (**Figura V.5-15-A**), enquanto as curvas de atividade GST em função do substrato CDNB não indicam ocorrência de um platô (**Figura V.5-15-B**), sugerindo que a concentração máxima utilizada ainda não seria saturante.

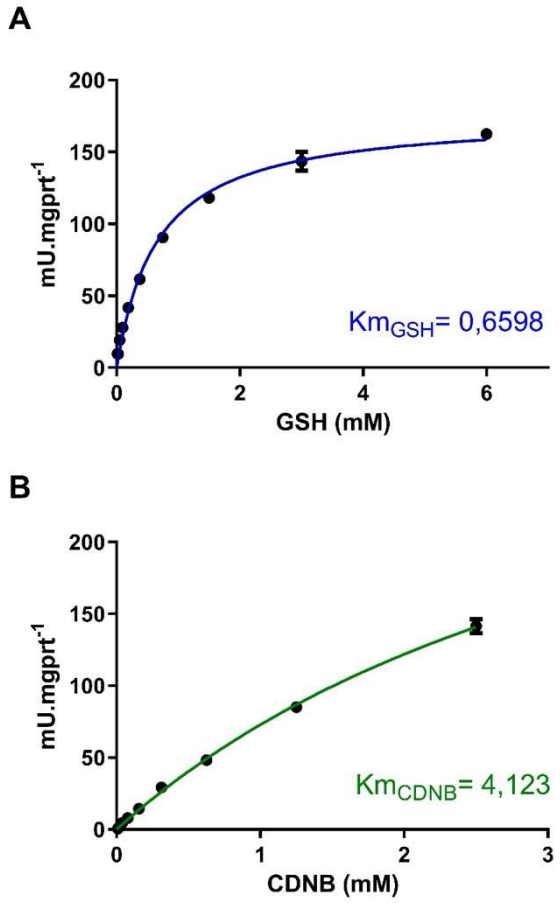


Figura V.5-15: *Curvas cinéticas de atividade GST em tecido tegumentar de* ***Megaptera novaeangliae*** *construídas com concentrações crescentes dos substratos (A) glutationa reduzida (GSH) e (B) 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB). Condições do ensaio: tampão fosfato de potássio (0,1 M, pH 7,0), 37°C. Kmapp e Vmax obtidos por meio de regressão não linear dos dados ajustados ao modelo de Michaelis-Menten.*

Os valores de Kmapp e Vmax obtidos por meio de regressão não linear dos dados ajustados ao modelo de Michaelis-Menten para o substrato GSH e para o substrato CDNB são apresentados na **Tabela V.5-21**.

Tabela V.5-21: *Valores de Kmapp e Vmax para os substratos glutationa reduzida (GSH) e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) em tecido tegumentar de* ***Megaptera noveangliae****.*

Cinética enzimática (GST)		
Substrato	**Kmapp (mM)**	**Vmax (U/mg proteína)**
Glutationa reduzida (GSH)	0,6598	176,0
1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB)	4,1230	373,0

Para enzimas que se ajustam ao modelo de Michaelis-Menten, concentrações ótimas para o ensaio enzimático podem ser estimadas a partir dos Km aparentes (Kmapp) obtidos para ambas as curvas cinéticas. Wilkinson (1971) recomenda que para o estabelecimento de condições de ensaio enzimático, o substrato seja utilizado em concentrações de cinco a dez vezes o valor de Km.

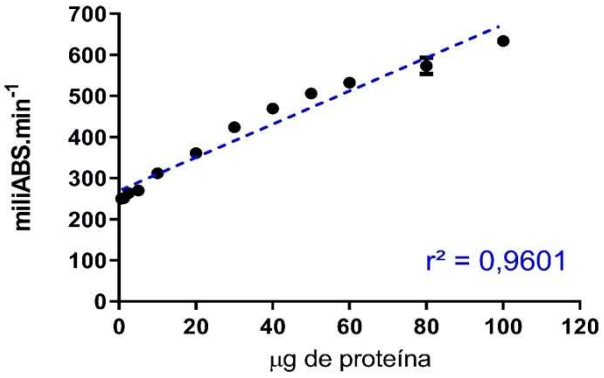
Com base nessas diretrizes, na avaliação gráfica e nos valores de Km estimados neste estudo, sugere-se a utilização do substrato GSH em concentração de 3,5 mM para amostras de pele de *M. novaeangliae*.

Em relação ao CDNB, a concentração final de etanol necessária para solubilizar o substrato e atingir a concentração saturante requerida seria maior que 7,5% de etanol. Essa concentração é muito superior aos 5% de etanol utilizado nos ensaios de Keen, Habig e Jakoby (1976) e Habig e Jakoby (1981) e poderia inibir a própria atividade GST. Dessa forma, para a espécie avaliada no presente relatório, a concentração de CDNB sugerida para os próximos ensaios é a máxima possível, de 2,5 mM.

Além da determinação das concentrações ideais de substratos, os ensaios aqui descritos também permitiram determinar os limites de detecção teórico e operacional do método, bem como avaliar os valores de precisão intra e entre ensaios.

Com base nas oito réplicas técnicas do branco, foi possível determinar o limite de detecção teórico do ensaio de atividade GST para *M. novaeangliae*. Esse limite de detecção teórico indica que qualquer valor abaixo do limite de detecção teórico pode ser confundido tecnicamente com o branco de reação (**Tabela V.5-22**).

O ensaio com massa crescente de proteína mostrou uma quebra de linearidade entre os valores de mAbs.min^{-1} e a carga de proteínas totais a partir do ponto de 50 µg de proteínas totais (r^2 = 0,96, **Figura V.5-16, imagem superior**). No entanto, ao serem removidos os pontos de 50, 60, 80 e 100 µg, verificou-se a existência de relação linear entre os valores de mAbs.min^{-1} e a massa de proteínas entre 0,625 e 40 µg de proteínas totais (r^2 = 0,99, **Figura V.5-16, imagem inferior**).



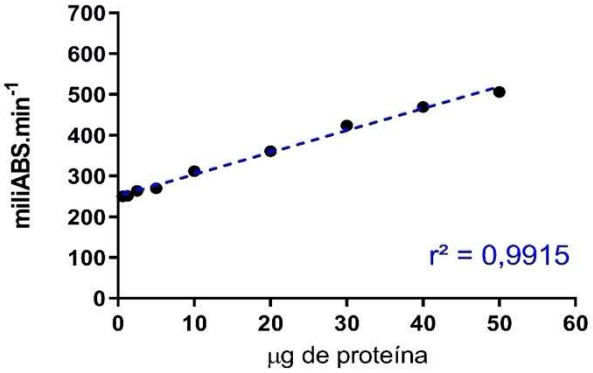


Figura V.5-16: *Relação entre a absorbância por minuto (mAbs.min^{-1}) em decorrência da formação do conjugado GS-DNB e a massa de proteínas totais (µg) de tecido tegumentar de* ***Megaptera noveangliae****. Linha sólida representa regressão linear. Na imagem inferior foram excluídos os pontos referentes às maiores concentrações de proteínas.*

Com base nos resultados obtidos nos ensaios descritos acima, foram propostos limites teóricos e operacionais de quantificação, apresentados na **Tabela**

V.5-22.

Tabela V.5-22: *Valores de detecção teórico, intervalo de quantificação e valor de precisão intra-ensaio (repetibilidade) e entre-ensaios (reprodutibilidade) para o ensaio de atividade GST em tecido tegumentar de* ***Megaptera noveangliae****.*

Limites de detecção (GST)				
Espécie	Limite teórico ($mAbs.min^{-1}$)	Intervalo de quantificação ($mAbs.min^{-1}$)	Repetibilidade (%)	Reprodutibilidade (%)
Megaptera noveangliae	136,85	145,28 – 793,34	96,39	90,54

Além do estabelecimento dos limites de detecção teóricos e operacionais, os ensaios desenvolvidos e apresentados no presente relatório permitiram identificar os valores de precisão intra-ensaio (repetibilidade) e os valores de precisão entre ensaios (reprodutibilidade) (**Tabela V.5-22**). Em geral, estudos hematológicos e imunológicos consideram valores de precisão intra-ensaio acima de 90% e entre ensaios acima de 85% satisfatórios (COZMA et al., 2015). Assim, os valores de precisão obtidos para os ensaios de atividade GST em tecido hepático *M. novaeangliae* encontram-se dentro do estabelecido.

Com base nas etapas e resultados de padronização descritos acima, as condições finais de ensaio para a determinação de atividade GST em tecido tegumentar de *M. novaeangliae* são apresentadas na **Tabela V.5-23**.

Tabela V.5-23: *Condições ótimas de ensaio para determinação de atividade GST em tecido tegumentar de* ***Megaptera novaeangliae****.*

Condições finais do ensaio (GST)					
Espécie	**Tampão**	**GSH (mM)**	**CDNB (mM)**	**Massa proteína (µg)**	**Temperatura (°C)**
Megaptera novaeangliae	Fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,0	3,5	2,5	20	37

V.5.4.3.2 Padronização do método para imunodetecção de cyp1a em amostras tegumentares de Megaptera noveangliae

A padronização do método de imunodetecção de CYP1A foi realizada em três etapas. Primeiramente, foi avaliada a reatividade dos anticorpos disponíveis no LABCAI, UFSC – e já utilizados com sucesso para *T. truncatus, S. longirostris* e *B. brydei* – com as proteínas CYP1A de tecido tegumentar de *M. novaeangliae*.

Em uma segunda etapa, os anticorpos que se mostraram suficientemente reativos foram utilizados para o estabelecimento da carga ideal de proteína microssomal a ser utilizada nos futuros ensaios.

Na terceira etapa, foram testadas combinações de concentrações dos anticorpos primário e secundário visando a determinação das condições ideais de ensaio.

Os procedimentos detalhados da padronização do método de imunodetecção de CYP1A em tecido tegumentar de *M. novaeangliae* são apresentados nas seções seguintes.

- ***Homogeneização das amostras***

Amostras de tecido tegumentar de *M. noveangliae* foram homogeneizadas de acordo com procedimento detalhado na seção **III.1.1** deste relatório, sendo utilizada a fração microssomal (MIC) para a padronização da técnica de imunodetecção de CYP1A.

- ***Determinação de proteínas totais***

A determinação da concentração de proteínas na fração MIC das amostras de *M. noveangliae* foi realizada por meio do método de Bradford (BRADFORD, 1976). O detalhamento do método foi apresentado na seção **III.1.2** deste relatório.

- ***Teste de reatividade de anticorpos primários***

A quantificação dos níveis de CYP1A em tecido tegumentar de *M. novaeangliae* é realizada pela técnica de *Western blotting*.

Resumidamente, o procedimento da técnica é dividido em quatro etapas: 1) separação de proteínas através de eletroforese desnaturante em gel de poliacrilamida (*SDS-PAGE*); 2) transferência das proteínas para uma membrana de nitrocelulose (*blotting*); 3) incubação da membrana com os anticorpos primário e secundário (imunodetecção); e 4) revelação e fotodocumentação da membrana, evidenciando a proteína de interesse.

Para o teste de reatividade de anticorpos primários, inicialmente, 10 µg de proteínas microssomais de *M. novaeangliae* do *pool* de amostras (**Tabela V.5-19**) foram submetidas à eletroforese, realizada em voltagem constante de 300 V por 30 min ou até que as amostras atingissem o final do gel. Um marcador de peso molecular (Full-Range Rainbow™, Amersham) foi incluído em cada corrida para a determinação do peso molecular das bandas proteicas das amostras. As membranas foram mantidas *overnight* (~15 h) em solução de bloqueio.

Após lavagem das membranas, as mesmas foram incubadas por 60 min com o anticorpo primário anti-CYP1A de camundongo produzido em cabra (Abcam, código ab126887), na concentração de 0,15 µg/mL. As membranas foram novamente lavadas e, em seguida, incubadas por 60 min com o anticorpo secundário anti-cabra (Abcam, código 205723), na concentração de 0,1 µg/mL.

A detecção das proteínas foi realizada pelo método de quimioluminescência, no qual as membranas incubadas com o anticorpo secundário foram expostas a uma solução do kit comercial Clarity Max™ Western ECL Substrate (Bio-Rad®).

- ***Determinação da massa de proteínas a ser utilizada no ensaio***

Para determinação da massa de proteínas microssomais para detecção de CYP1A em tecido tegumentar de *M. novaeangliae* foram testadas concentrações crescentes de proteínas totais variando de 2,5 a 60 µg.

O procedimento foi realizado de acordo com o descrito no item **III.2.3**, utilizando os mesmos anticorpos nas mesmas concentrações, uma vez que estas condições se mostraram apropriadas para detecção de CYP1A em *M. novaeangliae*.

- ***Determinação das concentrações ótimas de anticorpos primário e secundário***

Para determinação das concentrações ótimas dos anticorpos primário e secundário, 10 µg de proteínas microssomais de *M. novaeangliae* do *pool* de amostras foram submetidas ao procedimento descrito na seção **III.2.3** deste relatório.

As membranas foram incubadas por 60 min com o anticorpo primário anti-CYP1A de camundongo produzido em cabra (Abcam, código ab126887), nas concentrações apresentadas na **Tabela V.5-24**. As membranas foram novamente lavadas e, em seguida, incubadas por 60 min com o anticorpo secundário anti-cabra (Abcam, código 205723) (**Tabela V.5-24**).

Tabela V.5-24: *Resumo das combinações de concentrações de anticorpos primário e secundário testadas para detecção de CYP1A em tecido tegumentar de* ***Megaptera novaeangliae****.*

Nº da combinação	[ ] Anticorpo primário anti-CYP1A (Abcam, código ab126887)	[ ] Anticorpo secundário (anti-cabra; Abcam, código ab205723)
1	0,30 µg/mL	0,20 µg/mL
2	0,30 µg/mL	0,10 µg/mL
3	0,30 µg/mL	0,05 µg/mL
4	0,15 µg/mL	0,20 µg/mL
5	0,15 µg/mL	0,10 µg/mL
6	0,15 µg/mL	0,05 µg/mL
7	0,05 µg/mL	0,20 µg/mL
8	0,05 µg/mL	0,10 µg/mL
9	0,05 µg/mL	0,05 µg/mL

A detecção das proteínas foi realizada pelo método de quimioluminescência, no qual as membranas incubadas com o anticorpo secundário foram expostas a uma solução do kit comercial Clarity Max™ Western ECL Substrate (Bio-Rad®).

- ***Resultados e discussão da padronização do método para a detecção de imunodetecção de CYP1A em <u>Megaptera novaeangliae</u>***

Na primeira etapa de padronização foi realizado o teste de reatividade do anticorpo primário anti-CYP1A de camundongo (Abcam, código ab126887). O anticorpo testado foi capaz de detectar duas bandas proteicas nas amostras de tecido tegumentar de *M. novaeangliae*, sendo a banda superior considerada a banda referente à proteína alvo do estudo, CYP1A (**Figura V.5-17**). Resultado similar foi obtido em amostras hepáticas de *Sotalia guinanensis*, coletadas no âmbito do projeto PMP-BS, evidenciando a especificidade do anticorpo à CYP1A de cetáceos marinhos.

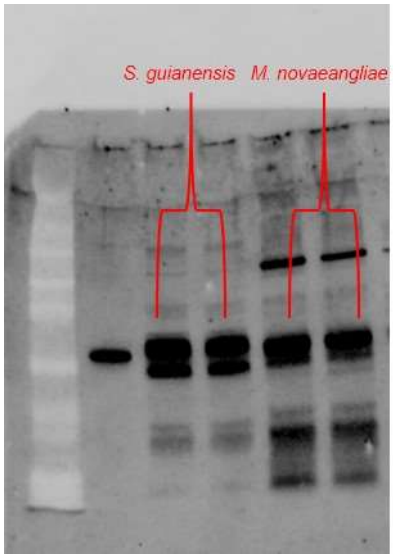


Figura V.5-17: *Imunodetecção de CYP1A em tecido tegumentar de* ***Megaptera novaeangliae*** *utilizando anticorpo primário ab126887 (Abcam).*

Considerando que o anticorpo primário reagiu satisfatoriamente com a proteína de interesse, ele foi utilizado nas mesmas condições na segunda etapa de padronização, que objetivou a determinação de massa ideal de proteínas a ser

utilizada nos futuros ensaios. Dessa forma, foi avaliada a linearidade da relação entre o sinal quimioluminescente e a concentração de proteína utilizada.

Para *M. novaeangliae* foram detectadas duas bandas nas cargas proteicas testadas, com detecção da segunda banda menos reativa quando foi utilizado 10 µg de proteína ou mais (**Figura V.5-18**).

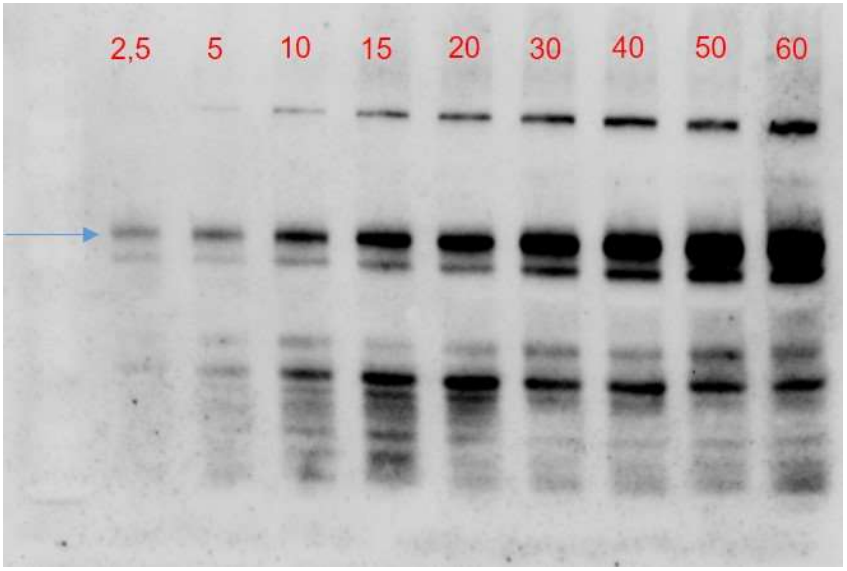


Figura V.5-18: *Imunodetecção CYP1A em tecido tegumentar de* ***Megaptera novaeangliae*** *utilizando massas proteicas crescentes, de 2,5 a 60 µg. Banda de interesse sinalizada com uma seta azul.*

A razão entre os valores de sinal quimioluminescente e a carga proteica utilizada apresentou um aumento linear do sinal até o ponto de 30 µg (R^2 = 0,9895, **Figura V.5-19-C**). Após este ponto, foi observada observamos uma maior inclinação da reta, indicando possivelmente uma saturação do sinal quimioluminescente (**Figura V.5-19-A** e **B**). Desta forma, não seria recomendada a utilização de concentrações proteicas superiores a 30 µg para imunodetecção de CYP1A em *M. novaeangliae*.

Adicionalmente, é possível observar que a relação entre o sinal quimioluminescente e o sinal colorimétrico, que indica a quantidade de proteína presente na coluna (*e.g.* “lane”) do gel após a separação eletroforética, se manteve estável (em torno de 0,9) quando foram utilizados de 5 a 20 µg de proteínas microssomais (**Figura V.5-19-D**). Este resultado indica que a utilização das demais concentrações poderia sub- ou superestimar os níveis de CYP1A presentes na

amostra, uma vez que a primeira etapa de cálculo dos níveis da proteína envolve justamente a normalização pelo sinal colorimétrico.

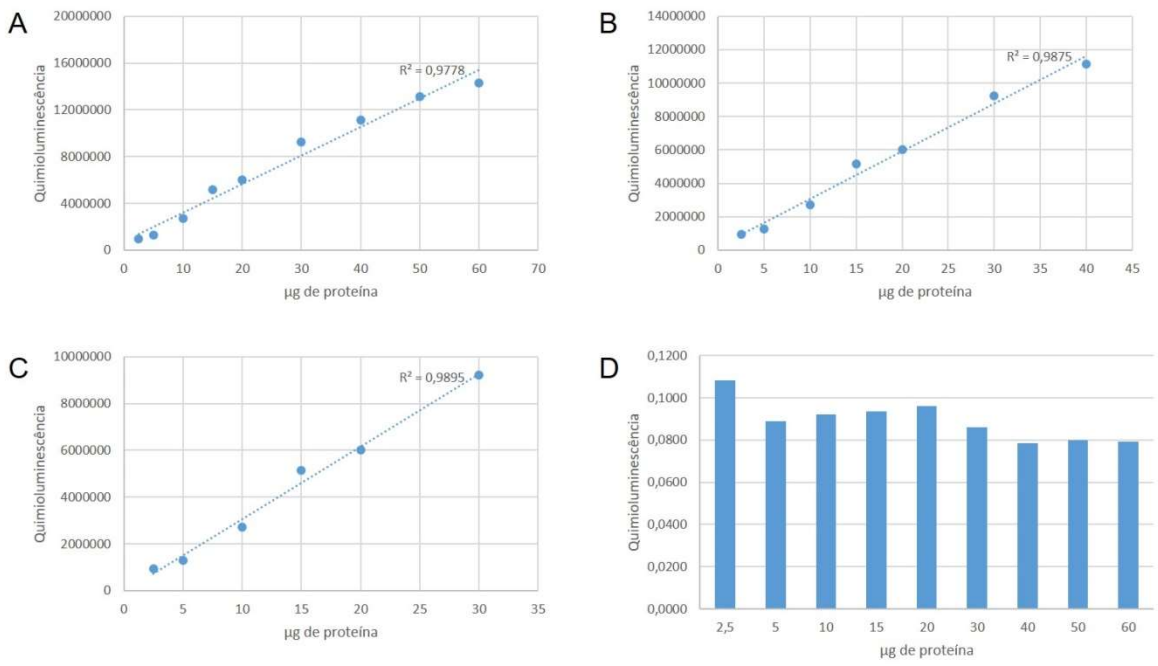


Figura V.5-19: *Análises gráficas do sinal quimioluminescente emitido e as massas de proteínas microssomais utilizadas no ensaio de imunodetecção de CYP1A em amostra de tecido tegumentar de* ***Megaptera novaeangliae****.*

Tendo em vista tais resultados, optou-se pela utilização de um valor central entre as concentrações de 5 e 20 µg de proteínas, sendo escolhido 10 µg de proteínas microssomais, para a próxima etapa de padronização, que envolve testes com diferentes concentrações dos anticorpos primário e secundário.

Os resultados destes testes são apresentados na **Figura V.5-20**. Foram avaliadas as diferentes concentrações de anticorpo primário e secundário quanto à intensidade do sinal quimioluminescente, à formação de bandas inespecíficas e à intensidade do "*background*".

Foi observado que a membrana D (**Figura V.5-20**) apresentou os resultados mais satisfatórios, com menor "*background*" e maior nitidez da banda específica, sendo, portanto, sugeridas as concentrações de 0,15 e 0,20 µg/mL dos anticorpos

primário (ab126887) e secundário (ab205723), respectivamente, para futuros ensaios em tecido hepátido de *S. guianensis* e epidérmico de *M. novaeangliae*.

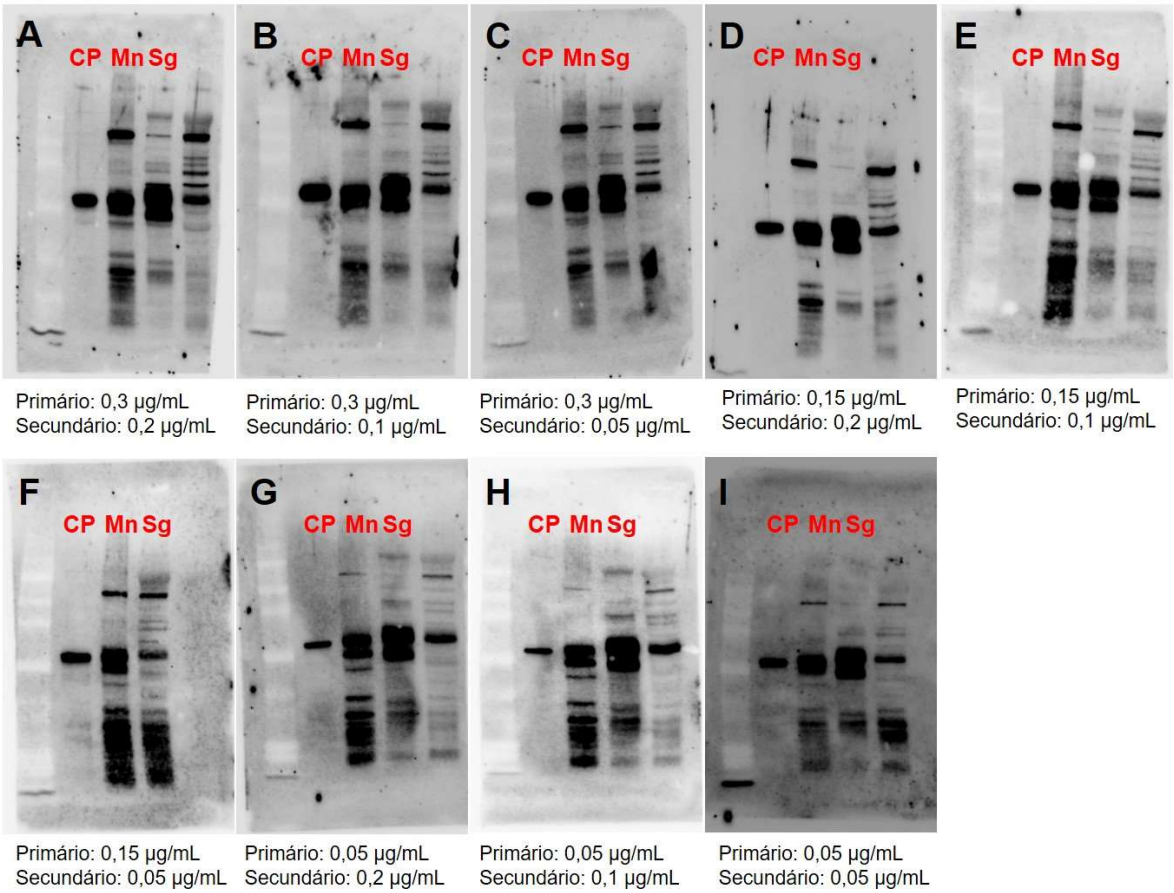


Figura V.5-20: *Membranas de Western blotting com amostras de microssoma de tecido hepático de* ***Sotalia guianensis*** *(Sg) e tecido tegumentar de* ***Megaptera novaeangliae*** *(Mn), incubadas com diferentes concentrações de anticorpo primário anti-CYP1A (Abcam, código ab126887) e secundário (anti-cabra; Abcam, código ab205723). CP, controle positivo.*

No entanto, como nesta concentração são detectadas duas bandas bastante intensas, tornando difícil a quantificação das mesmas isoladamente, será realizada uma nova etapa de testes, utilizando uma massa proteica menor, de 5 µg de proteínas totais.

V.5.4.4 Padronização da análise de biomarcadores moleculares

As atividades de padronização de análises moleculares descritas neste RTAP compreendem: (a) o desenho e teste de iniciadores para o novo gene-alvo *Glutationa S-transferase alfa* (*GSTα*) em tecido tegumentar de *B. brydei, S. longirostris* e *T.s truncatus*; (b) a extração, limpeza e avaliação da qualidade do RNA total de *M. noveangliae* para realização do sequenciamento e análises de transcriptoma.

V.5.4.4.1 Desenho e teste de iniciadores para glutationa s-transferase alfa (GSTα)

- ***Desenho de iniciadores***

Para a padronização e realização da PCR quantitativa (qPCR), técnica utilizada para a análise de biomarcadores moleculares, são necessários iniciadores específicos para a amplificação dos genes apresentados na Especificação Técnica do contrato nº 5900.0119834.21.2.

O desenho de iniciadores foi realizado utilizando o software PrimerQuest, da *Integrated DNA Technologies*, disponível no endereço eletrônico https://www.idtdna.com. Os parâmetros especificados para o desenho os iniciadores foram: tamanho do produto (amplicon) em 120 pb, tamanho do iniciador entre 20 e 26 pb e temperatura de anelamento entre 58 e 60ºC.

A fim de garantir que a amplificação seja restrita a fragmentos do mRNA e não haja amplificação de DNA genômico, sempre que possível os iniciadores foram desenhados em exons distintos ou em regiões de junção exon/exon da sequência gênica, conforme sinalizadas nas sequências disponíveis para acesso no GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Este procedimento não pôde ser realizado em sequências oriundas do sequenciamento de transcriptomas provenientes do primeiro ciclo da prestação de serviços, pois a identificação de exons não é possível através desta técnica.

Todos os possíveis pares de iniciadores gerados foram testados no programa OligoAnalyser, também da *Integrated DNA Technologies*, avaliando-se a força de formação de dobramentos ('*hairpin*'), dímeros próprios e não-próprios e similaridade entre temperatura de dissociação (Tm) do iniciador senso e anti-senso. A qualidade dos iniciadores desenhados também foi avaliada pelo programa FastPCR 6.5 (Primer Digital). Os iniciadores desenhados encontram-se sumarizados na **Tabela IV-1**.

Tabela V.5-25: *Sequências de iniciadores selecionadas para amplificação do gene Glutationa S-transferase alfa (GSTα4) em tecido tegumentar de* ***Tursiops truncatus****,* ***Stenella longirostris*** *e* ***Balaenoptera brydei****.*

Iniciadores – *GSTα*				
Espécie	**Gene de interesse**	**Iniciadores**	**Tm (ºC)**	**%GC**
Tursiops truncatus	*Glutationa S-transferase alfa 4 (GSTa4)*	F: CCCAAACTCCACTATCCAAATG	61,1	45,5
		R: GTTACCATCCTGCAACTTCTG	60,9	47,6
Stenella longirostris	*Glutationa S-transferase alfa 4 (GSTa4)*	F: GGGTCATGGACAAAGGTTTCTTGTTGG	59,8	48,1
		R: GGTGAGGAAAGGCAGACAGGATATTAGG	59,8	50,0
		F: CCTTTCCTCAAACCAGATGA	59,6	45,0
		R: GCTGATTACCAACAAGAAACC	59,6	42,9
Balaenoptera brydei	*Glutationa S-transferase alfa 4 (GSTa4)*	F: GTCATGGACAAAGGTTTCTTG	59,6	42,9
		R: AAAGGCAGACAGGATATTAGG	59,4	42,9
		F: TAATATCCTGTCTGCCTTTCC	59,4	42,9
		R: CGGTTCTCACGTAGATGTC	59,2	52,6

- ***Extração de RNA***

A extração de RNA em amostras de pele de *T. truncatus*, *S. longirostris* e *B. brydei* foi realizada com o kit comercial RNeasy® Fibrous Tissue (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante. Foi utilizado até 30 mg de tecido tegumentar para a extração de RNA de cada amostra. A homogeneização foi realizada com o homogeneizador mecânico Tissue-Tearor (BioSpec).

O RNA extraído foi ressuspendido com água própria para aplicações de biologia molecular. Todos os reagentes, tubos e ponteiras utilizados no protocolo eram próprios para biologia molecular (livres de RNase, DNase e pirógenos).

- ***Avaliação de concentração e pureza do RNA***

O RNA obtido foi avaliado por espectrofotometria com o equipamento NanoDrop® 1000 (Thermo Fisher Scientific). O limite de detecção do equipamento é 2 ng/µL e o limite superior de detecção é 3.000 ng/µL. As leituras foram realizadas em 260, 280 e 230 nm, que são, respectivamente, os picos de absorção de ácidos nucleicos, aminoácidos aromáticos presentes nas proteínas, e contaminantes (fenol, carboidratos, EDTA, guanidina e outros). Dessa forma, a absorbância em 260 nm foi utilizada para estimar a concentração de RNA, a razão 260/280 para estimar a pureza com relação à contaminação por proteínas, com faixas aceitáveis entre 1,8 e 2,0, e a razão 260/230 para avaliar a pureza relativa a outros contaminantes, com valores aceitáveis acima de 1,7 (WIECZOREK; DELAURIERE; SCHAGAT, 2012).

Tendo em vista a importância da qualidade da amostra de RNA para obtenção de resultados moleculares confiáveis, a qualidade do RNA também foi avaliada por fluorimetria, utilizando o fluorímetro QUBiT 4.0 (Thermo Fisher Scientific), sendo considerado satisfatório um valor de IQ > 7,5.

- ***Síntese de DNA complementar (CDNA)***

Para síntese de cDNA, o RNA total extraído de amostras de tecido tegumentar de *T. truncatus*, *S. longirostris* e *B. brydei* foi tratado com DNAse e submetido à reação de transcrição reversa para obtenção do cDNA com o uso do kit QuantiTect® Reverse Transcription (Qiagen).

- ***Avaliação da especificidade dos iniciadores***

Para avaliar a especificidade e eficiência dos iniciadores desenhados para cada gene de cada espécie (**Tabela V.5-21**) foram realizadas reações de qPCR com curvas padrões de um *pool* de cDNA, formado por volumes iguais de amostras

das espécies prioritárias, com concentrações conhecidas de cDNA (800, 400, 200, 150, 100 e 50 ng), no termociclador Rotor-Gene® Q (Qiagen). Todas as reações utilizaram o corante intercalante de DNA SYBR Green (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante. O programa de amplificação para cada gene alvo consistiu em um ciclo de 2 min a 95°C para ativação enzimática, seguido de 35 ciclos de 95°C por 5 s e 60°C por 10 s.

Após a amplificação, um limiar de quantificação ("*threshold*") foi estabelecido para cada par de iniciadores. Este limiar foi determinado pela curva padrão do gene de interesse, considerando o R^2 da curva e a eficiência da reação (0,95 até 1,05). A eficiência igual a 1 equivale a uma reação em que a quantidade de produto duplica a cada ciclo (100% eficiente), que é o comportamento esperado para uma reação de PCR.

A verificação da especificidade dos produtos de PCR formados (amplicons) para cada gene foi obtida por meio do monitoramento da fluorescência dos amplicons em função do aumento da temperatura (50 a 95ºC) no termociclador Rotor-Gene® Q (Qiagen). Estes dados compreendem a curva de dissociação, do inglês melting curve.

- ***Resultado da avaliação da especificidade dos iniciadores***

Os perfis obtidos para o gene alvo (*GSTα4*) na curva de dissociação podem ser observados nas **Figuras V.5-21** e **V.5-22**.

Para todos os pares de iniciadores desenhados, foram obtidos apenas um pico de dissociação, o que sugere a formação de um único produto e reforça a especificidade dos iniciadores desenhados.

No entanto, *GSTα4* de *S. longirostris*, quando amplificada com o par de iniciadores b (**Figura V.5-22**), não apresentou uma eficiência tão boa quanto quando utilizamos o par de iniciadores a (**Tabela V.5-22**). Sendo assim, para esta espécie, será utilizado o par de iniciadores a para futuras análises.

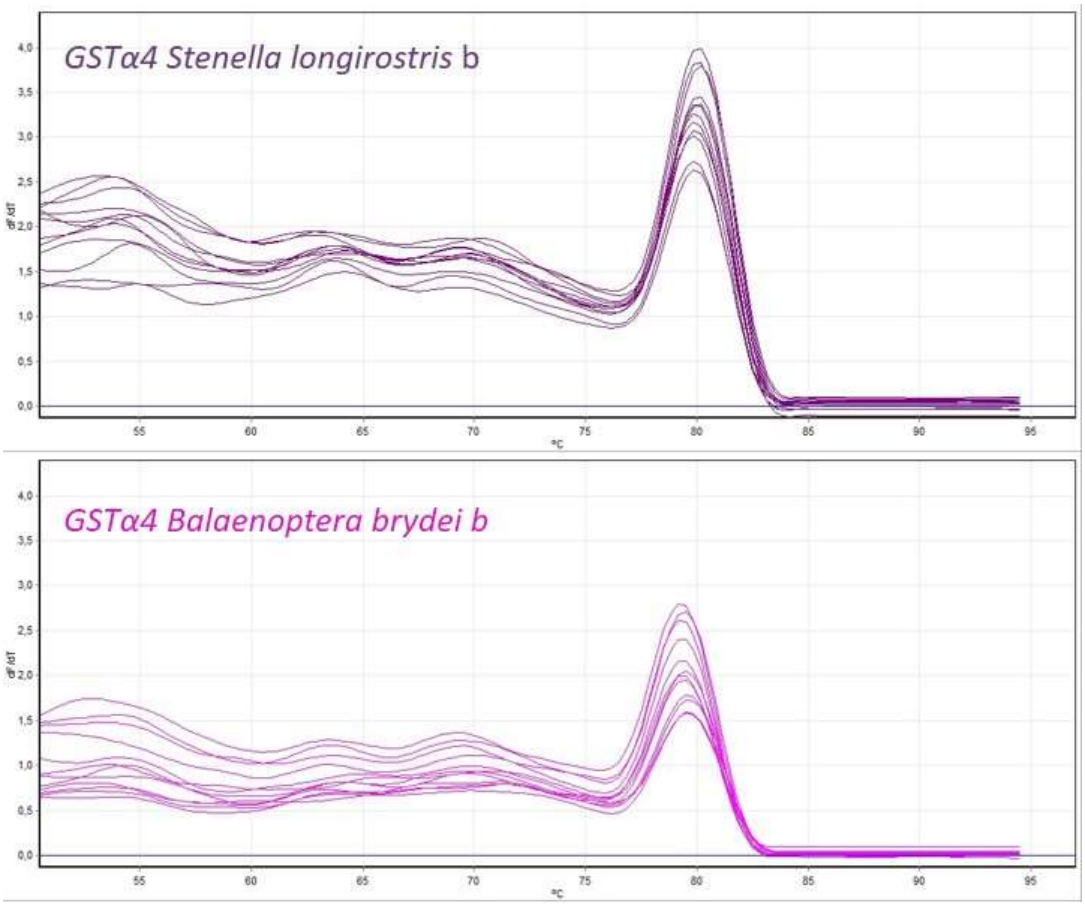


Figura V.5-21: *Curva de dissociação de GSTα em tecido tegumentar de* ***Stenella longirostris****,* ***Tursiops truncatus*** *e* ***Balaenoptera brydei****, utilizando a primeira opção de iniciadores. Eixo X (temperatura); eixo Y (derivada negativa da fluorescência em função da temperatura, -dF/dT). O ponto máximo de cada linha representa a temperatura de dissociação do produto. A presença de um pico único sugere a presença de um único produto.*

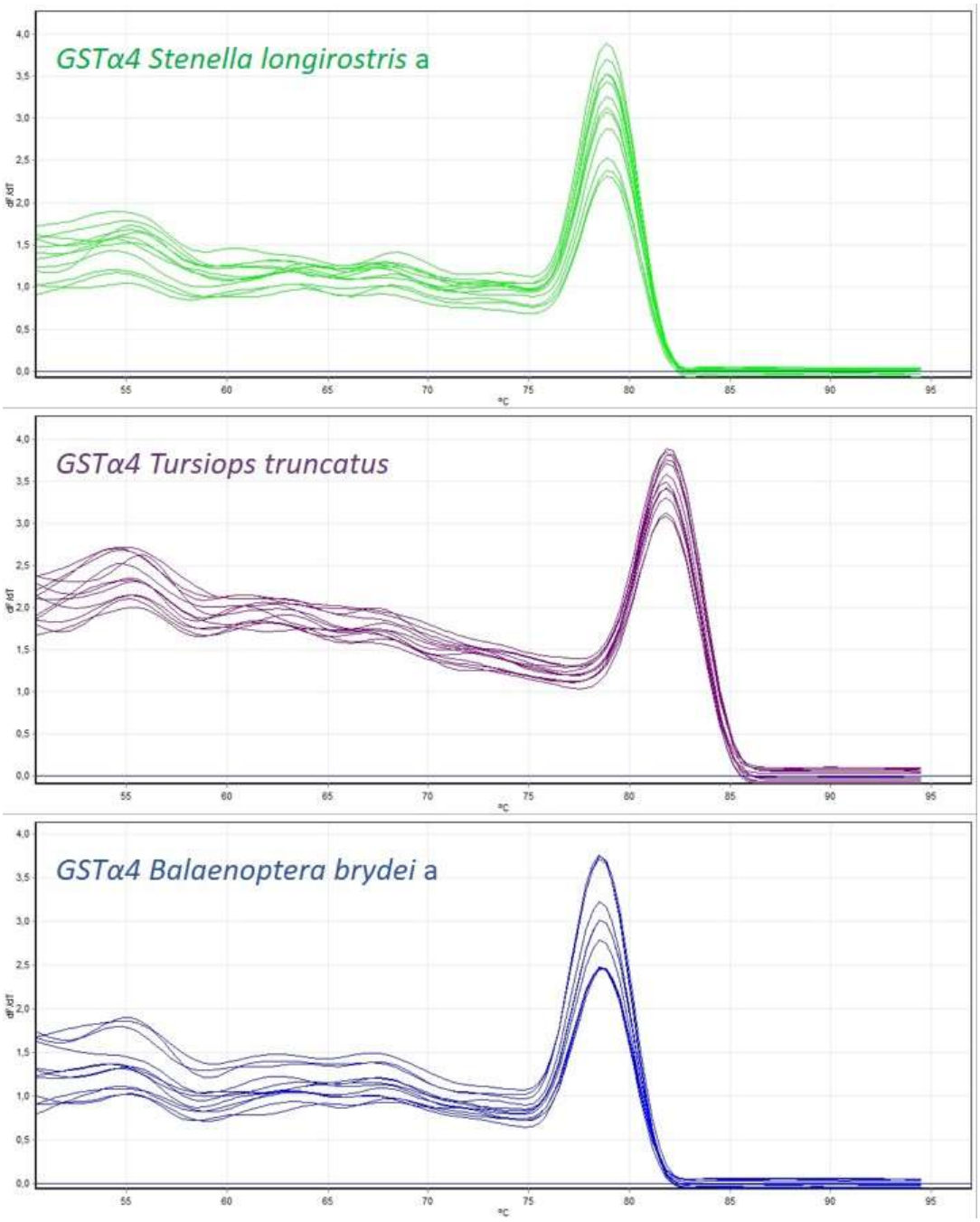


Figura V.5-22: *Curva de dissociação de GSTα4 em tecido tegumentar de* ***Stenella longirostris*** *e* ***Balaenoptera brydei****, utilizando a segunda opção de pares de iniciadores. Eixo X (temperatura); eixo Y (derivada negativa da fluorescência em função da temperatura, -dF/dT). O ponto máximo de cada linha representa a temperatura de dissociação do produto. A presença de um pico sugere a presença de um único produto.*

Tabela V.5-26: *Valores de R² e eficiência calculados com base em uma curva padrão de cDNA de* ***Tursiops truncatus****,* ***Stenella longirostris*** *e* ***Balaenoptera brydei****.*

Avaliação da qualidade de iniciadores (*GSTα*)				
Espécie	**Gene alvo**	**Iniciador***	**R²****	**Eficiência *****
Tursiops truncatus	*GSTα4*	F: CCCAAACTCCACTATCCAAATG	0,98	1,04
		R: GTTACCATCCTGCAACTTCTG		
Stenella longirostris	*GSTα4*	F: GGGTCATGGACAAAGGTTTCTTGTTGG (par a)	0,99	1,00
		R: GGTGAGGAAAGGCAGACAGGATATTAGG (par a)		
		F: CCTTTCCTCAAACCAGATGA (par b)	0,99	1,07
		R: GCTGATTACCAACAAGAAACC (par b)		
Balaenoptera brydei	*GSTα4*	F: GTCATGGACAAAGGTTTCTTG (par a)	0,99	1,09
		R: AAAGGCAGACAGGATATTAGG (par a)		
		F: TAATATCCTGTCTGCCTTTCC (par b)	0,99	1,39
		R: CGGTTCTCACGTAGATGTC (par b)		

*F: *forward*; R: *reverse*.
**Valores de R² acima de 0,98 são considerados aceitáveis.
***Valores de eficiência entre 0,95 e 1,05 são considerados aceitáveis.

O perfil eletroforético em gel de agarose 3% dos produtos de PCR reforçam os resultados obtidos nas curvas de dissociação, e indicam a presença de um produto único para os genes *GSTα4* de *T. truncatus* e para *GSTα4* de *S. longirostris* (par de iniciadores a) (**Figura V.5-23**).

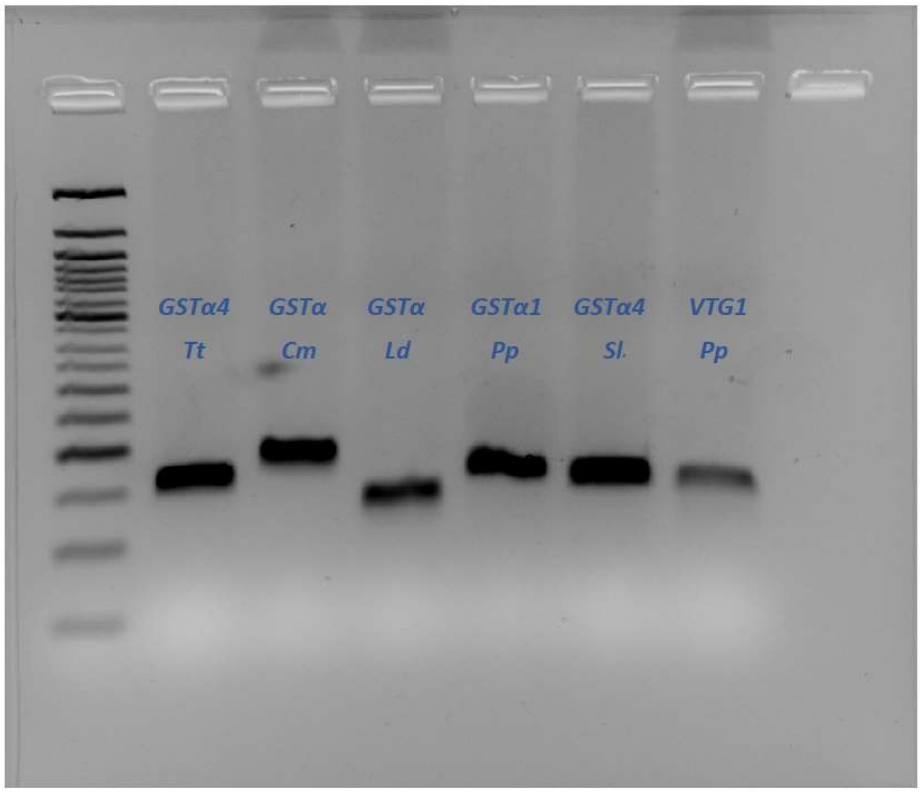


Figura V.5-23: *Produtos das reações em cadeia da polimerase (qPCR) para os genes de Glutationa S-transferase isoforma alfa 4 (GSTα4) em* ***Tursiops truncatus*** *(GSTα4 Tt) e* ***Stenella longirostris*** *(GSTα4 Sl) submetidos à eletroforese em gel de agarose 3%. Presença de uma única banda indica formação de um único produto, atestando a especificidade dos iniciadores desenhados.*

Paralelamente, *GSTα4* de *B. brydei* apresentou uma amplificação tardia e não eficiente com ambos os pares de iniciadores desenhados (**Tabela V.5-26**), portanto, faz-se necessário o desenho de um novo par de iniciadores para este gene alvo nesta espécie. Estes novos iniciadores já foram desenhados e são apresentados na **Tabela V.5-27**.

Tabela V.5-27: *Sequências de iniciadores selecionadas para amplificação do gene Glutationa S-transferase alfa (GSTa4) em tecido tegumentar de* ***Balaenoptera brydei****.*

Iniciadores (*GSTα*)					
Espécie	**Gene de interesse**	**Origem da sequência**	**Iniciadores**	**Tm (ºC)**	**%GC**
Balaenoptera brydei	*Glutationa S-transferase alfa 4 (GSTa4)*	Transcriptoma	F: GGGTCATGGACAAAGG TTTCTTGTTGG	59,8	48,1
			R: GGTGAGGAAAGGCAGA CAGGATATTAGG	59,8	50,0
			F: TATAGCGGACAAGCAC CATCTCTTCG	59,8	50,0
			R: AAGATCCAGGGTTCCCT CCACATAC	59,7	52,0

*Tm – Temperatura de dissociação (temperatura de '*melting*') é definida como a temperatura na qual metade dos fragmentos de DNA está na forma desnaturada, ou seja, não pareados, e a outra metade está pareada.
**%GC – Conteúdo de GC, referente ao número de Gs e Cs nos iniciadores como uma porcentagem do total de bases (preferencialmente entre 40-60%).

V.5.4.4.2 Preparação de amostras para sequenciamento, montagem e análise de transcriptoma de Megaptera novaeangliae

Para a padronização de técnicas moleculares da nova espécie prioritária de cetáceo marinho, *M. novaeangliae*, será necessário, primeiramente, identificar as sequências referentes aos genes alvo selecionados para o segundo ciclo, através do sequenciamento, montagem e análise de transcriptoma global qualitativo da espécies. Para tal, foi realizada extração e limpeza do RNA total e avaliação de qualidade e integridade do RNA extraído de tecido epidérmico de *M. novaeangliae*.

- ***Extração e limpeza do RNA total em amostras de tecido tegumentar de Megaptera novaeangliae***

Para extração de RNA de amostras tegumentares de de *M. novaeangliae* foi utilizado o kit RNeasy Fibrous Tissue (Qiagen), específico para tecidos fibrosos, conforme recomendações do fabricante. O protocolo de extração de RNA foi

iniciado com a homogeneização de fragmentos de 30 mg de tecido de cada amostra em 300 µL (Qiagen). A homogeneização foi realizada com o homogeneizador Tissue-Tearor™ (BioSpec).

Os fragmentos de tecido homogeneizados foram incubados a 55 ºC por 10 min com proteinase K, e em seguida centrifugados a 10.000 xg por 3 min.

Após a centrifugação, a fase transparente superior de cada um dos tecidos, referente à porção no qual o RNA está presente, foi cuidadosamente transferida para outros tubos, no qual foi acrescentado 0,45 mL de etanol 100%. O conteúdo dos tubos foi transferido para a coluna de purificação de ácidos nucleicos, submetidos à centrifugação a 9.000 xg por 15 segundos. O líquido foi descartado, e a coluna foi incubada com solução de DNAse I a 20-30 ºC por 15 min. Em seguida, a coluna foi submetida a três rodadas de limpeza, com tampões específicos (RW1 e RPE).

A coluna foi então transferida para um novo tubo, e o RNA extraído foi eluído com água própria para aplicações de biologia molecular. Todos os reagentes, tubos e ponteiras utilizados no protocolo eram próprios para biologia molecular (livres de RNase, DNase e pirógenos).

- ***Avaliação da qualidade e integridade do RNA total***

O RNA obtido foi avaliado por espectrofotometria com o equipamento Nanodrop® (Thermo Fisher Scientific). O limite de detecção do equipamento é 1,6 ng/µL e o limite superior de detecção é 22.000 ng/µL. As leituras foram realizadas em 260, 280 e 230 nm, que são os picos de absorção de ácidos nucleicos, aminoácidos aromáticos presentes nas proteínas, e contaminantes (fenol, carboidratos, EDTA, guanidina e outros), respectivamente. Dessa forma, a absorbância em 260 nm foi utilizada para estimar a concentração de RNA, a razão 260/280 para estimar a pureza com relação à contaminação por proteínas, com faixas aceitáveis entre 1,8 e 2,0, e a razão 260/230 para avaliar a pureza relativa a outros contaminantes, com valores aceitáveis acima de 1,7 (WIECZOREK; DELAURIERE; SCHAGAT, 2012).

A avaliação de qualidade do RNA, denominada índice de qualidade de RNA (IQ), também foi realizada por fluorimetria através do fluorímetro QUBiT® 4.0

(Thermo Fisher Scientific®). Em uma nota técnica disponibilizada pela empresa Thermo Fisher Scientific®, valores de IQ foram correlacionados com a porcentagem de leituras mapeadas com sucesso através de RNAseq, uma tecnologia de sequenciamento de transcriptoma. Os resultados indicaram que amostras com valores de IQ acima de 4 apresentaram, de modo geral, mais da metade das leituras mapeadas com sucesso via RNAseq. Assim, esse valor foi estimado como o mínimo aceitável para considerar o RNA com qualidade suficiente para este tipo de aplicação (THERMO SCIENTIFIC, 2018).

Devido à necessidade de altos níveis de integridade do RNA extraído para o sequenciamento e montagem de transcriptoma, o RNA extraído foi ainda submetido à eletroforese em gel de agarose com formaldeído. Nesta técnica, a integridade do material pode ser observada através da presença de duas bandas marcadas, referentes às subunidades 28S e 18S do RNA ribossomal. Em materiais completamente íntegros, observa-se uma proporção de 2:1 na intensidade das bandas referentes à 28S e 18S, respectivamente. Paralelamente, a ausência de bandas marcadas sugere degradação intensa do RNA.

- ***Resultado da extração e limpeza do RNA total em amostras de tecido hepático e tegumentar de tetrápodes marinhos***

Os resultados de concentração, pureza e integridade do RNA extraído são apresentados na **Tabela V.5-28**. Todas as amostras utilizadas apresentaram valores de razões A260/A280 e A260/A230 adequadas, e concentração suficiente.

Tabela V.5-28: *Concentração, pureza e integridade do RNA extraído de tecido tegumentar de **Megaptera noveangliae**.*

Parâmetros de qualidade (RNA total)				
Espécie	**Código amostra**	**Concentração de RNA (ng/uL)**	**A260/A280**	**A260/A230**
Megaptera noveangliae	MN03	979,82	2,09	2,17
Megaptera noveangliae	MN11	1005,68	2,09	2,01
Megaptera noveangliae	MN21	581,50	2,07	2,09

Ao avaliar a integridade do RNA extraído em gel de agarose com formaldeído (**Figura IV-4**), é possível observar que as amostras MN03, MN11 e MN21 apresentaram duas bandas, referentes às subunidades 28S e 18S do RNA ribossomal, o que sugere integridade parcial do material. Todas essas amostras serão encaminhadas para análise de integridade no equipamento BioAnalyzer, a ser realizada pela empresa contratada para sequenciamento e montagem de transcriptomas.

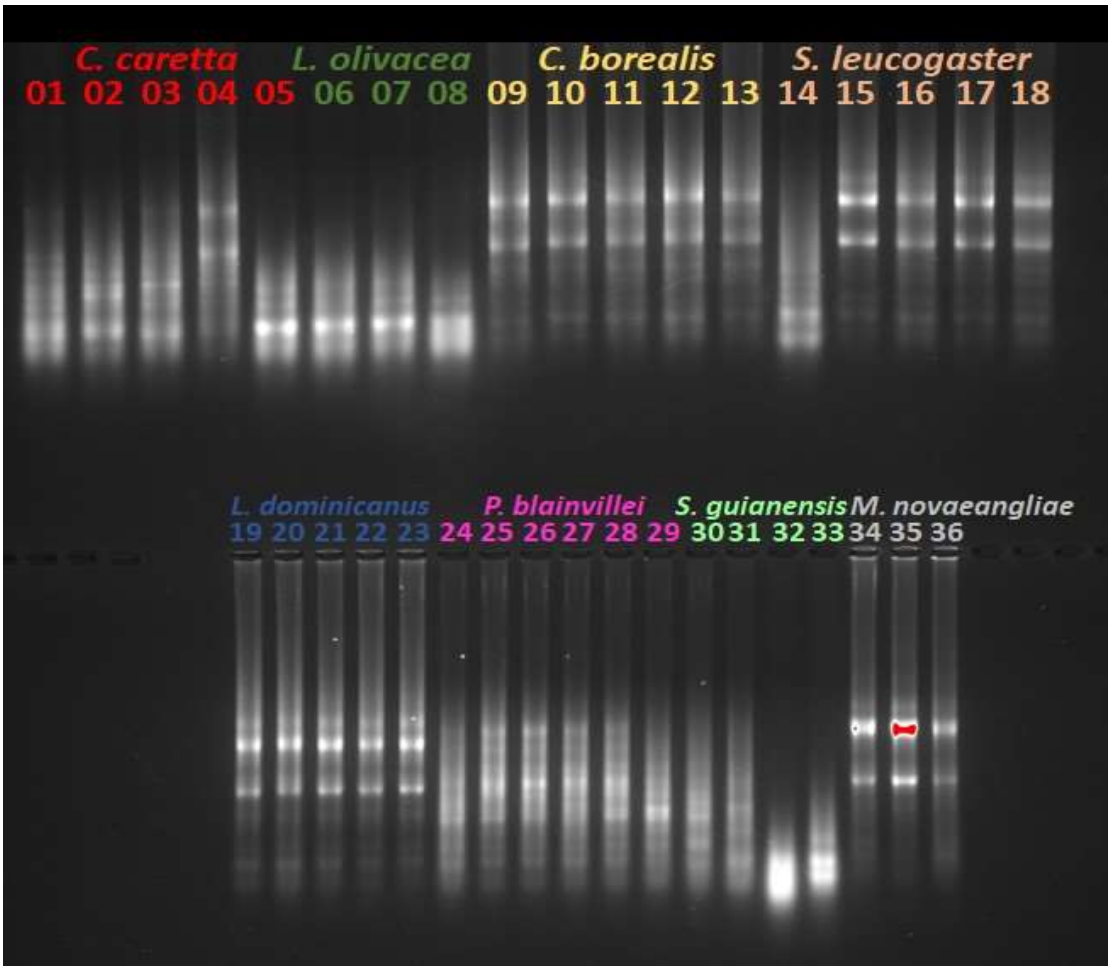


Figura V.5-24: *Perfil eletroforético de RNA em gel de agarose 1,2% com formaldeído das amostras de tecido hepático de* ***Caretta caretta****,* ***Lepidochelys olivacea****,* ***Calonectris borealis****,* ***Sula leucogaster*** *e* ***Sotalia guianensis*** *e em tecido tegumentar de* ***Megaptera novaeangliae****.*

V.5.4.5 Padronização da Quantificação dos Níveis de Proteínas Carboniladas

No presente relatório estão apresentados os protocolos para a padronização do ensaio de quantificação dos níveis de proteínas carboniladas (PCO).

No âmbito da presente prestação de serviço, a quantificação dos níveis de PCO está prevista para ser realizada em amostras de tecido tegumentar de cetáceos oriundos apenas do PMC-BS, uma vez que processos de autólise podem alterar os níveis de PCO, inviabilizando esta análise em amostras oriundas dos PMPs.

No entanto, na etapa inicial da padronização foram utilizadas amostras de tecido hepático de atobá *Sula leucogaster* coletadas de um animal eutanasiado e congeladas após intervalos pré-definidos a fim de representar a degradação tecidual *post mortem*. Optou-se pela utilização destas amostras, pois, nesta primeira etapa, buscava-se apenas testar o kit selecionado (OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA Kit - Cell Biolabs) quanto à sua sensibilidade na detecção de PCO em amostras de tetrápodes marinhos.

Em seguida, foram testadas as frações sobrenadante (SN) e microssomal (MIC) de amostras de tecido tegumentar *de T. truncatus, S. longirostris, B. brydei* e *M. novaeangliae*, a fim de definir qual fração será utilizada nas etapas subsequentes e se a massa proteica e tempos de incubação sugeridos pelo kit são apropriados à matriz tecidual a ser utilizada nos ensaios futuros.

V.5.4.5.1 Preparação das amostras

As amostras de tecido hepático de *S. leucogaster* e, posteriormente, as amostras de tecido tegmentar de *T. truncatus, S. longirostris, B. brydei* e *M. novaeangliae* foram homogeneizadas de acordo com o procedimento descrito no item **III.1.1**.

Para remoção de ácidos nucléicos das amostras, que podem levar a uma superestimativa dos níveis de PCO, foi adicionado sulfato de estreptomicina na concentração de 1% às amostras, que foram incubadas por 30 min a temperatura ambiente e, em seguida, centrifugadas a 6.000 xg por 10 min a 4°C. Após o tratamento com estreptomicina, a concentração de proteínas totais foi determinada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), de acordo com o procedimento descrito no item **III.1.2** deste relatório.

V.5.4.5.2 Detecção de Proteínas Carboniladas (PCO)

A quantificação dos níveis de PCO foi realizada com o reagente comercial OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA Kit (Cell Biolabs), onde 100 µL de cada amostra (na concentração de 10 µg/mL) ou padrão de albumina sérica bovina (BSA) reduzida/oxidada foram adicionados aos poços da placa de ligação e incubadas *overnight* a 4°C. Os poços foram lavados, 100 µL da solução DNPH foi adicionada a cada poço e foi realizada uma nova incubação a temperatura ambiente e na ausência de luz por 45 min. Os poços foram lavados com uma mistura de PBS 1x e etanol.

Em seguida, 200 µL de solução de bloqueio foram adicionados aos poços e a placa foi incubada por um período de 1h30m a temperatura ambiente. Os poços foram novamente lavados, e em seguida incubados com anticorpo primário anti-DNP por uma hora e novamente lavados. Após, 100 µL do anticorpo secundário conjugado a HRP foi adicionado a cada poço, a placa foi incubada por uma hora em temperatura ambiente e novamente lavada.

Para quantificação dos níveis de PCO, 100 µL de solução de substrato foram adicionados a cada poço e a placa foi incubada de 2 a 30 min. Nessa etapa, a placa foi monitorada e a reação foi interrompida antes da saturação. Após a incubação, a solução de parada foi adicionada aos poços. A absorbância das amostras foi verificada imediatamente no espectrofotômetro SpectraMax® M5 (Molecular Devices®) a 450 nm.

V.5.4.5.3 Resultados da padronização da detecção de Proteínas Carboniladas

Os resultados da quantificação dos níveis de PCO em tecido hepático de *S. leucogaster,* coletadas em intervalos pré-definidos, representando a degradação tecidual *post mortem* são apresentados na **Figura V.5-25**.

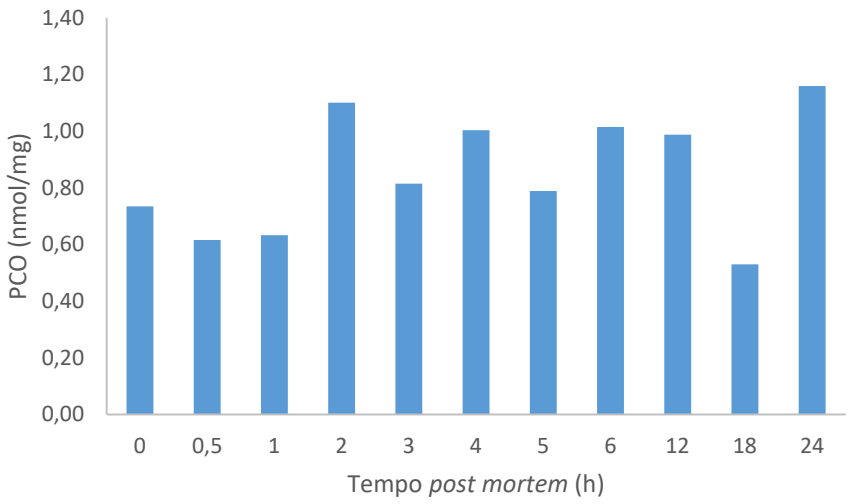


Figura V.5-25: *Níveis de proteínas carboniladas (PCO) em tecido hepático de* ***Sula leucogaster*** *coletado em diferentes tempos post mortem.*

De acordo com os resultados foi possível observar a presença de proteínas carboniladas, independentemente do tempo *post mortem*. Estes resultados sugeriram que o kit selecionado possui sensibilidade suficiente para detecção de PCO mesmo em animais vivos (semelhante ao tempo *post mortem*; tempo zero ou 0 h). Assim, na etapa subsequente da padronização foram testadas amostras de tecido tegumentar de *T. truncatus, S. longirostris, B. brydei* e *M. novaeangliae*.

Nesta etapa, foi possível observar a presença de PCO em todas as amostras de tecido tegumentar de *B. brydei*, *M. novaeangliae*, *S. longirostris* e *T. truncatus*, em ambas as frações (SN e MIC). No entanto, os valores de absorbância da maioria das amostras ficaram acima dos valores de absorbância da curva padrão (**Figura V.5-26**). Dessa forma, em ensaios

futuros de quantificação dos níveis de PCO, serão testadas amostras com menores valores de concentração de proteínas que a testada nesse primeiro ensaio.

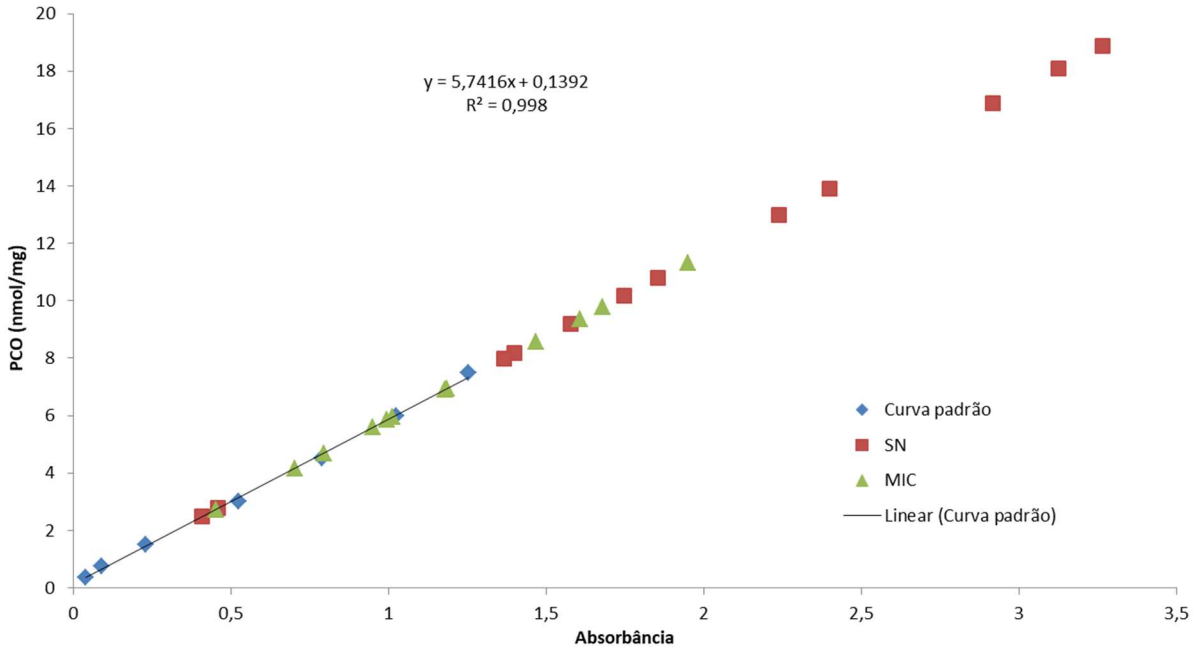


Figura V.5-26: *Níveis de proteínas carboniladas (PCO) (nmol/mg) em relação aos valores de absorbância em frações sobrenadante (SN) e microssomal (MIC) de amostras tegumentares de Balaenoptera brydei, Megaptera novaeangliae, Stenella longirostris e Tursiops truncatus.*

Adicionalmente, foi possível identificar que os níveis de PCO são mais abundantes na fração SN (**Figura V.5-26)**, assim, para futuras análises será utilizada, esta fração.

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

VI.1 Avanços obtidos em relação aos anos anteriores e consecução dos objetivos do Projeto

O progresso gradual do conhecimento produzido pelo PMC-BS envolve primordialmente o avanço do esforço amostral e o aumento cumulativo do quantitativo total de amostras obtidas em todas as frentes de coleta do projeto: detecções visuais, detecções acústicas, gravação de registros bioacústicos, fotoidentificações, imagens aéreas por drones, amostragens de biópsias e transmissores satelitais e arquivais implantados, além de diversos dados obtidos de outros projetos da Petrobras ou fontes públicas. Consequentemente, este acúmulo de dados e amostras suscita novas análises de dados ou aprofundamento das análises existentes.

Em termos de descrição da comunidade de cetáceos da Bacia de Santos, uma nova espécie (de cetáceo) rara foi identificada, a baleia-bicuda-de-Gervais (*Mesoplodon europaeus*), resultando no aumento da riqueza de cetáceos identificados pelo projeto para 28 espécies. Foi dada continuidade ao esforço para descrever os habitats desta comunidade, com uma nova rodada de modelagem de habitats potenciais, desta vez, ampliando para 21 táxons analisados. Com base nesta descrição dos habitats, foi feita uma análise de agrupamento que descreveu pelo menos cinco agrupamentos de espécies com padrões de uso de habitat parecidos, confirmando achados de Relatórios Anuais anteriores do PMC-BS. O avanço analítico deste presente 8º Relatório Anual se deu ao espacializar os habitats destes agrupamentos de espécies de cetáceos na Bacia de Santos.

A fotoidentificação permitiu descrever novos movimentos para 15 espécies e o acompanhamento da prevalência de lesões de pele. Os dados de fotoidentificação também permitiram a elaboração dos primeiros históricos de captura individual. Estes históricos alimentaram modelos de marcação-recaptura, permitindo as primeiras estimativas de parâmetros populacionais,

como abundância e sobrevivência, para três espécies: golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*) e golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*). Para fotogrametria, o aumento amostral permitiu um refinamento na apresentação dos resultados e a descrição da estrutura etária para cinco espécies de grandes cetáceos: baleia-fin (*Balaenoptera physalus*), baleia-sei (*B. borealis*), baleia-de-Bryde (*B. brydei*), baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) e orca (*Orcinus orca*).

Para as estimativas de abundância por transecções lineares, neste presente 8º Relatório Anual focou-se nos dois delfinídeos com maior amostragem, o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) e golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*). As estimativas de abundância para estas espécies foram refinadas neste Relatório Anual, com estimativas de densidade e de abundância regionalizadas em estratos espaciais dentro da Bacia de Santos.

Com relação à marcação com transmissores satelitais, neste presente 8º Relatório Anual foi ampliado o tamanho amostral de cinco espécies, contribuindo para caracterizar e refinar o conhecimento sobre movimentos e comportamento de mergulho da baleia-piloto-de-peitorais-curtas (*Globicephala macrorhynchus*), a baleia-fin (*Balaenoptera physalus*), a baleia-sei (*B. borealis*), a orca (*Orcinus orca*) e o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*). Além destas, foi descrito pela primeira vez o movimento e comportamento de mergulho da baleia-franca-austral (*Eubalaena australis*) na Bacia de Santos a partir da marcação de uma fêmea, incluindo movimentos para a Bacia de Campos.

Nas análises genéticas, a estrutura genética populacional foi avaliada pela primeira vez para duas espécies de delfinídeos (golfinho-comum-de-bico-curto – *Delphinus delphis* e golfinho-de-dentes-rugosos – *Steno bredanensis*) amostradas na Bacia de Santos, e suas relações filogenéticas com outras populações foram também investigadas. Neste presente 8º Relatório Anual, o tamanho efetivo da geração parental (contemporâneo) – ver item **V.3.2** - da população de baleia-sei (*Balaenoptera borealis*) que ocorre na Bacia de Santos foi também estimado pela primeira vez.

As análises do repertório acústico das sete espécies mais representativas do banco de dados acústicos do PMC-BS (Sonoteca) foi aprimorada, sendo elas: golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*), golfinho-rotador (*S. longirostris*), golfinho-de-clymene (*S. clymene*), golfinho-pintado-pantropical (*S. attenuata*), golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), golfinho-comum-de-bico-curto (*Delphinus delphis*) e golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*). Isto possibilitou um incremento na acurácia dos classificadores automatizados de assovios, que vem sendo desenvolvidos. A inclusão de uma variável ambiental (profundidade) no modelo de classificação possibilitou uma melhora considerável na capacidade de classificação do golfinho-nariz-de-garrafa, espécie com uma ampla plasticidade acústica, o que dificulta sobremaneira o desenvolvimento de classificadores automatizados para ela. Análises preliminares da ecologia acústica dessas sete espécies indicam que outras variáveis também podem influenciar significativamente os assovios, como tamanho de grupos e temperatura superficial do mar.

Houve um avanço nas análises de banco de dados coletados por *gliders*, fornecidos pelo PMPAS-BS. O volume de dados trabalhados neste presente 8º Relatório Anual foi de 51 campanhas, 13 a mais do que contempladas 7º Relatório Anual (PETROBRAS, 2023a), concluindo-se assim a identificação dos sinais acústicos de misticetos nas campanhas do 1º ciclo de implantação do PMPAS-BS, sem que houvesse alterações substanciais nos resultados sobre os padrões sazonais das espécies na Bacia de Santos, mas com análise do banco de dados complementar e robusto. Um classificador automatizado ponta-a-ponta foi desenvolvido para a baleia-sei (*Balaenoptera borealis*), com grande potencial de aplicação em larga escala e adaptação para outras espécies.

Análises preliminares da influência da atividade de pesquisa sísmica sobre a ocorrência de sinais acústicos de delfinídeos (assovios) e misticetos (gemidos e grunhidos) foi realizada pela primeira vez, a partir de dados coletados em quatro campanhas de *gliders* dedicadas a amostrar áreas com ruídos de fonte sísmicas no Cluster da Bacia de Santos. Também foram explorados pela primeira vez dados do Projeto de Monitoramento da Biota

Marinha (PMBM), coletados em navios sísmicos. Estas análises adicionam um excelente corpo de evidências que visam identificar possíveis reações comportamentais dos cetáceos aos ruídos de fontes sísmicas. Embora os resultados ainda sejam preliminares e necessitem de aprofundamento analítico para maiores conclusões, demonstraram o potencial de abordagens integrativas e complementares para auxiliar no monitoramento dos impactos destas atividades sobre os cetáceos.

Em relação às análises de isótopos estáveis de C ($\delta^{13}C$) e de N ($\delta^{15}N$), foram adicionadas poucas amostras ao banco de dados, entretanto foi feita uma importante validação dos métodos de análise. Esta validação diz respeito à investigação do efeito da execução de uma etapa do processamento das amostras, qual seja, a remoção prévia de lipídeos da amostra sobre a determinação dos isótopos estáveis, tendo sido encontrado um modelo de correção de resultados semelhante ao citado na literatura científica. Quanto às análises de HPA e de compostos organohalogenados, foi dada continuidade ao monitoramento dos níveis de diversos compostos potencialmente tóxicos em tecidos de cetáceos, com adição de novas amostras coletadas no último ano.

Nas análises de biomarcadores foram padronizados ensaios de glutationa S-transferase (GST), imunodetecção da proteína citocromo P450 (CYP1A) e quantificação dos níveis de proteínas carboniladas para as espécies prioritárias de cetáceos, bem como foram realizadas análises de quantificação de atividade glutationa S-transferase (GST) em 28 indivíduos da baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*). Por fim, foi enviado RNA de *M. novaeangliae* para sequenciamento de transcriptoma.

VI.2 Avaliação dos Resultados Orientados para os Objetivos

Objetivo Específico	Indicadores (resultados)	Formas de verificação
1) Consolidar o conhecimento sobre a **riqueza e a distribuição** de espécies de cetáceos na Bacia de Santos.	● Número de registros por espécies identificadas: • **28 táxons identificados a partir de 4.362 registros visuais e 1.802 registros acústicos** (ver resultado detalhado do indicador no **item V.1**, na **Tabela V.1-1**); ● Número de novas espécies registradas: • **Uma nova espécie (baleia-bicuda-de-Gervais - *Mesoplodon europaeus*) registrada no último ano** (avistada na 16ª Campanha de Avistagem Embarcada e MAP, no dia 13/02/2023); ● Mapas de distribuição por espécie • **mapas de distribuição para todas as espécies e gêneros identificados**.	Alimentação de dados no SisPMC; Relatórios Anuais e Relatório Consolidado do Ciclo de Curto Prazo

Objetivo Específico	Indicadores (resultados)	Formas de verificação
2) Monitorar a densidade e a abundância das espécies mais comuns de cetáceos na Bacia de Santos, identificando tendências de crescimento ou declínio das populações. ***3)*** Monitorar a ocorrência e índices de abundância (taxas de encontro por unidade de esforço amostral) de todas as espécies de cetáceos na Bacia de Santos	● Número de registros por espécies identificadas • **registros identificados para 28 espécies de cetáceos** (ver resultado detalhado do indicador no **item V.1**, na **Tabela V.1-1**); ● Descrição das taxas de encontro (indivíduos ou grupos por unidade de esforço) para as espécies: • **taxas de encontro descritas por campanha para todos os táxons com ou sem identificação de espécie**; ● Número de espécies com densidade e abundância estimada pelo método de *Distance Sampling* ou marcação-recaptura: • **estimativas de densidade e abundância para cinco espécies de cetáceos com "n" amostral suficiente** (ver resultado detalhado no **item V.4.3.1**); ● Número de espécies com o tamanho efetivo da população estimado: ● **cinco espécies de delfinídeos e uma espécie de misticeto com "n" amostral suficiente** (ver resultado detalhado do indicador no **item V.3.2**);	Relatórios Anuais e Relatório Consolidado do Ciclo de Curto Prazo; Relatórios de Campanha

Objetivo Específico	Indicadores (resultados)	Formas de verificação
4) Consolidar informações sobre o uso de habitats das espécies de cetáceos da Bacia de Santos; ***5)*** Aprofundar as informações sobre deslocamentos, movimentos migratórios e estrutura populacional das espécies de cetáceos	● Mapas com áreas de concentração de avistagens por espécie: • **mapas de adequabilidade de habitat construídos para 21 espécies, táxons ou grupo de cetáceos** (ver resultado detalhado no **item V.2.1**); ● Número de espécies com descrição da faixa de profundidade usadas: • **descrição das faixas de profundidade utilizadas por todas as 28 espécies observadas** (ver resultado detalhado do indicador no **item V.1**, na **Tabela V.1-2**); ● Número de variáveis descritoras de habitat utilizadas (p. ex. distância da costa, temperatura, clorofila, etc.): • **27 variáveis ambientais e antrópicas utilizadas para modelagem** (ver PETROBRAS, 2023a); ● Número de transmissores satelitais implantados com dados de movimentos individuais: • **94 tags satelitais implantados**; ● Número de espécies com a rota migratória descrita: • **seis espécies com rotas migratórias descritas** (ver PETROBRAS, 2023a); ● Número de espécies com os movimentos descritos: • **15 espécies com reavistagens por fotoidentificação e uma com reavistagem por identificação genética e 14 espécies com transmissores satelitais implantados** (ver **item V.2.2**); ● Número de espécies com estrutura genética populacional avaliada: • **cinco espécies de delfinídeos e uma espécie de misticeto com "n" amostral suficiente** (ver **item V.2.3**);	Relatórios Anuais e Relatório Consolidado do Ciclo de Curto Prazo

Objetivo Específico	Indicadores (resultados)	Formas de verificação
6) Identificar padrões comportamentais das espécies de cetáceos e suas suscetibilidades a impactos potenciais de atividades antrópicas, aquelas direta e indiretamente ligadas às atividades de E&P de petróleo e gás natural e outras.	● Número de espécies com perfil de mergulho descrito: • **12 espécies com comportamento de mergulho analisado** (ver **item V.4.1**); ● Número de transmissores arquivais implantados com dados do perfil de mergulho coletados: ● **24 transmissores arquivais implantados em 9 espécies** (ver PETROBRAS, 2021); ● Número de espécies com descrição dos tamanhos de grupo: • **28 espécies com informações sobre tamanho de grupo** (ver **item V.1.1**, na **Tabela V.1-2**); ● Número de espécies com proporção sexual estimada: • **12 espécies com "n" amostral suficiente** (ver **item V.4.1**); ● Número de espécies com comportamento acústico descrito: • **informações sobre repertório acústico de 20 espécies – 17 odontocetos e três misticetos** (ver **item V.4.2**);	Relatórios Anuais e Relatório Consolidado do Ciclo de Curto Prazo
7) Avaliar o grau de contaminação existente em diferentes espécies de cetáceos por diferentes tipos de agentes químicos.	● Amostras analisadas para HPAs, compostos organoclorados (PCB e pesticidas) organobromados (PBDE) e biomarcadores: • **23 amostras analisadas no Ciclo de Médio Prazo**; ● Espécies com dosagem de HPAs, compostos organoclorados (PCB e pesticidas) e organobromados (PBDE) e biomarcadores • **dosagem para nove espécies de cetáceos no Ciclo de Médio Prazo** (ver **item V.5.3**);	Relatórios Anuais e Relatório Consolidado do Ciclo de Curto Prazo

Objetivo Específico	Indicadores (resultados)	Formas de verificação
8) Avaliar o estado de saúde de cetáceos, monitorando a prevalência de lesões epidérmicas ou traumas em cetáceos;	● Número de indivíduos foto-identificados • **3.211 indivíduos foto-identificados**; ● Espécies com dados de fotoidentificação • **27 espécies com dados de fotoidentificação** (ver **item V.2.2**); ● Tipos de lesões de epiderme identificadas: • **seis lesões de origens diferentes, incluindo lesões de natureza antrópica foram identificadas, quantificadas quanto a prevalência e espacializadas**;	Relatórios Anuais e Relatório Consolidado do Ciclo de Curto Prazo
9) Avaliar a distribuição e a frequência de uso espacial pelos cetáceos em função da presença de atividades de E&P (incluindo pesquisas sísmicas), tráfego de embarcações e pesca;	● Número de cruzamentos e análises de dados espaço-temporais de atividades antrópicas com os dados primários coletados no monitoramento e secundários (dados de outros projetos) • **cruzamentos espaciais de atividades antrópicas com distribuição de cetáceos em função de variáveis ambientais realizado com tráfego de embarcações, atividade de pesca, paisagem acústica e proximidade com unidades de produção/exploração na Bacia de Santos**; • **três análises realizadas com dados coletados pelo PMC-BS contemplando áreas de pesquisa sísmica – dados retroativos e de avistagens aéreas no entorno de sísmicas; análise com dados coletados por *glider* (oriundos do PMPAS-BS) e análise com dados coletados em navios sísmicos (PMBM)**;	Relatórios Anuais e Relatório Consolidado do Ciclo de Curto Prazo

Objetivo Específico	Indicadores (resultados)	Formas de verificação
10) Avaliar periodicamente os objetivos do PMC-BS e adequação dos métodos aplicados para atingi-los. ***11)*** Testar diferentes ferramentas, como algoritmos e *softwares*, para o processamento de dados, como os de fotoidentificação e de detecção-classificação de sons de cetáceos, de forma automatizada	● Avaliação específica sobre a complementariedades dos dados e eficácia e funcionalidade da aplicação dos métodos na escala do monitoramento: • **80 publicações na literatura acadêmica com dados do PMC-BS, incluindo 12 artigos em revistas internacionais indexadas**; • **avaliação realizada sobre complementariedade entre avistagens e detecções acústicas**; • **Integração de dados entre PMC-BS e diferentes projetos, com identificação de complementariedade e análises realizadas em conjunto com PMP-BS, PMPAS-BS, PMAP-BS, PMBM Cluster BS**; • **classificador automatizado de sinais acústicos de delfinídeos desenvolvido e testado com sucesso** (ver **item V.4.2**); • **classificador automatizado de sinais acústicos da baleia-sei (*Balaenoptera borealis*) desenvolvido e testado com sucesso**; • **algoritmo de foto-identificação automatizada de baleias-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) testado e utilizado com sucesso**.	Relatórios Anuais e Relatório Consolidado do Ciclo de Curto Prazo; artigos em revistas científicas; anais de congressos; bases acadêmicas públicas (monografias, dissertações e teses)

VI.3 Produção Acadêmica do PMC-BS

Até o fechamento deste presente 8º Relatório Anual, o PMC-BS recebeu 76 pedidos de uso de dados coletados pelas diferentes metodologias aplicadas no Projeto. Esses usos de dados concluídos ou em andamento resultaram, até o momento, em 80 publicações de diversos tipos: 44 resumos apresentados em eventos acadêmicos, 12 artigos em revistas indexadas revisadas por pares, 11 dissertações de mestrado, 10 monografias de conclusão de curso e 3 teses de doutorado. Foram publicados em média 11 trabalhos por ano, com uma tendência de crescimento ao longo dos anos de desenvolvimento do projeto (**Figura VI.3-1**)

A rede de colaboração do PMC-BS para a elaboração destas publicações envolveu direta e indiretamente 131 instituições, sendo 82 instituições nacionais distribuídas em 11 estados da federação brasileira, e 49 instituições internacionais em 18 países (**Figura VI.3-2**).

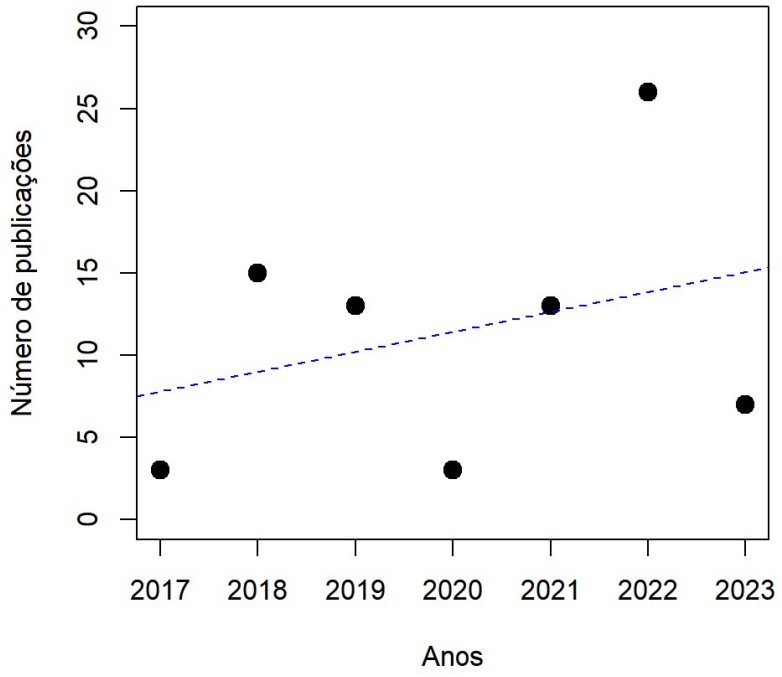


Figura VI.3-1: *Número de publicações com uso de dados coletados pelo PMC-BS entre 2015 e 2023. Linha tracejada azul indica a tendência de crescimento linear do número de publicações por ano ao longo do Projeto.*

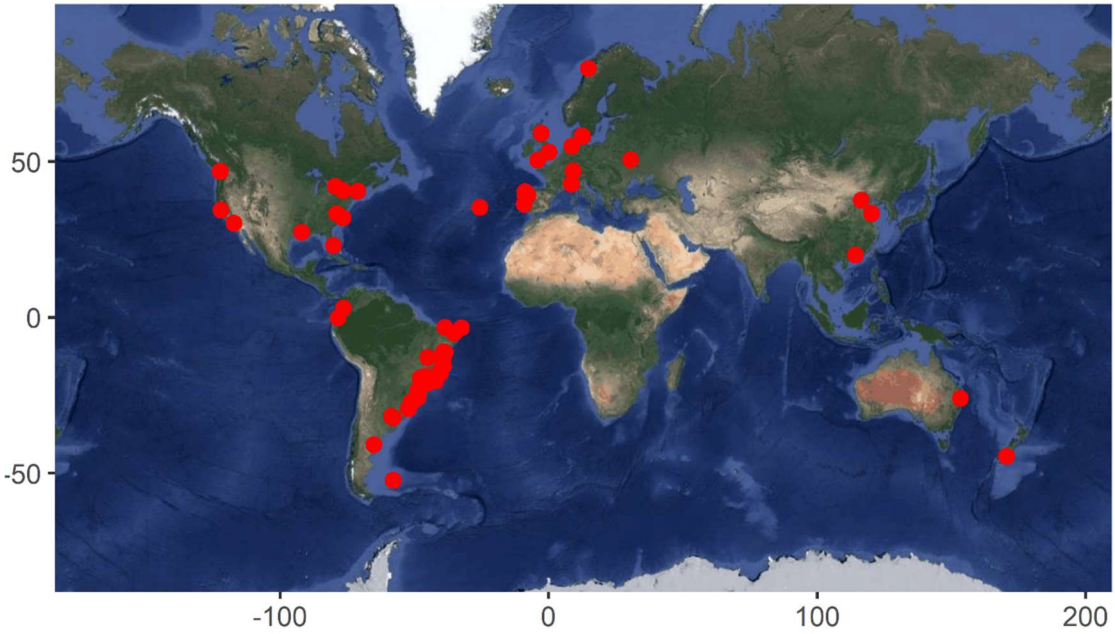


Figura VI.3-2: *Localização das instituições que colaboraram em publicações com uso de dados coletados pelo PMC-BS entre 2015 e 2023.*

VI.4 Avaliação de Aspectos Antrópicos

A possíveis interferências antrópicas sobre os cetáceos na Bacia de Santos foram abordadas por múltiplas metodologias e fontes de dados no PMC-BS. Esta abordagem multi-metodológica é adequada para cenários complexos de conservação, onde atividades humanas de diversas naturezas podem atuar de forma cumulativa e/ou sinérgica e ocasionar diferentes respostas populacionais ou comportamentais nos cetáceos. As diversas linhas de investigação abordadas aqui e nos Relatórios Anuais anteriores do PMC-BS evidenciam este cenário de múltiplas atividades antrópicas, incluídas aquelas relacionadas à indústria de petróleo e gás, sobrepondo-se espacialmente com diversas espécies de cetáceos e seus habitats na Bacia de Santos.

Focando na distribuição das avistagens de misticetos e odontocetos, em Relatórios Anuais anteriores foi realizada uma modelagem de habitat considerando variáveis antrópicas (ver PETROBRAS, 2023a). Nesta

modelagem procurou-se investigar se variáveis antrópicas como a intensidade de tráfego de embarcações, atividades de pesca, ruídos subaquáticos e proximidade com unidades de exploração e produção de petróleo e gás natural interferem na distribuição dos cetáceos. A integração de dados de diferentes projetos ambientais realizados pela PETROBRAS na Bacia de Santos foi fundamental para esta abordagem. Ao longo dos anos do PMC-BS, ficou evidente a importância das variáveis ambientais e sazonalidade para explicar os padrões de distribuição dos cetáceos, enquanto a influência de variáveis antrópicas não foi conclusiva. Esta análise fornece importantes informações sobre possíveis interferências, mas vem chamando atenção sobre possíveis respostas espécie-específicas, que certamente são diluídas quando consideramos agrupamentos de diferentes espécies numa análise. Assim, aproveitando o acúmulo crescente de dados de diferentes espécies, caminha-se para a realização de análises por espécie a partir do próximo Relatório Anual.

No presente 8º Relatório Anual avançou-se para análises inéditas sobre a interferência das atividades de pesquisa sísmica em cetáceos. No 7º Relatório Anual, apresentou-se uma análise com dados retroativos do PMC-BS e sísmicas ocorridas na Bacia de Santos (PETROBRAS, 2023a), que foi atualizada no presente 8º Relatório Anual, com a inclusão de dois novos projetos de pesquisa sísmica, mas sem alteração nos resultados apresentados anteriormente. No presente relatório ainda se analisou dois bancos de dados de projetos desenvolvidos na Bacia de Santos (PMPAS-BS e PMBM Cluster BS), com análises preliminares, mas ainda inéditas. Estas análises mostraram-se promissoras e serão aprofundadas no próximo ano, com utilização de um maior volume de dados que foram coletados no âmbito do Cluster de sísmica da Bacia de Santos. Também se aprofundou as análises de sobrevoos realizados antes e durante projetos de pesquisa sísmica na Bacia de Santos, com duas novas campanhas incluídas, totalizando três campanhas realizadas com este novo desenho amostral, implementado no Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS.

As análises com dados de sobrevoos produziram estimativas de

densidade e abundância de odontocetos e misticetos em períodos distintos das atividades sísmicas, porém com resultados discrepantes entre campanhas. Em duas das campanhas (13ª e 15ª Campanhas de Avistagem Aérea, no entorno dos Campos de Iracema em 2021 e no Campo de Iara em 2023, respectivamente) a densidade de odontocetos e misticetos foi similar nos períodos antes e durante a realização da pesquisa sísmica, enquanto que, para outra campanha (14ª Campanha de Avistagem Aérea, no entorno do Campo de Itapu em 2022), a densidade de misticetos foi menor durante a realização da pesquisa sísmica, provavelmente influenciada pela sazonalidade, e a densidade de odontocetos foi maior durante a pesquisa sísmica. Desta forma, os resultados podem ser considerados inconclusivos, motivo pelo qual foram feitas alterações no desenho amostral para as próximas duas campanhas de avistagem aérea do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, a serem realizadas em 2024 e 2025, como o maior esforço e adensamento das linhas de transecção em regiões no entorno das fontes sísmicas. Em 2025 também está prevista uma campanha de avistagem aérea que contemple dois projetos de pesquisa sísmica que ocorrerão de forma simultânea, incluindo uma amostragem mais intensa no “corredor” que haverá entre os limites das áreas destas duas aquisições. Outras análises adicionais, baseadas em proximidade da fonte sísmica, estão em andamento e devem complementar os resultados obtidos neste presente 8º Relatório Anual, pois a densidade e a abundância em uma área podem se manter similares após o início da prospecção sísmica, mas alguma outra resposta dos cetáceos de afastamento da fonte sísmica pode ocorrer.

Uma análise inédita relacionada com a sísmica usou dados visuais coletados em navios sísmicos pelo Projeto de Monitoramento da Biota Marinha (PMBM). Apesar de algumas limitações, os dados são bastante úteis para caracterizar as espécies que interagem com as fontes sísmicas adentrando a área de exclusão e motivando o desligamento das fontes para mitigação de impactos. Os resultados preliminares sugerem uma tendência da baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) em exibir um comportamento de maior aproximação da fonte sísmica, sendo que é esta a espécie que mais adentra

a área de exclusão com a fonte sísmica ligada. Como é uma espécie abundante e com grande variabilidade comportamental entre indivíduos, isto pode simplesmente ser resultado de mais encontros fortuitos entre baleias e embarcações de sísmica. Por outro lado, delfinídeos com hábitos de mergulhos profundos para alimentação, como a baleia-piloto (*Globicephala* sp.) e o golfinho-de-Risso (*Grampus griseus*), aparentemente são menos avistados a partir dos navios quando as fontes sísmicas estão ligadas, o que poderia sugerir alguma resposta, mas as análises são ainda preliminares. Nos próximos anos, dentro do Ciclo de Médio Prazo do PMC-BS, previsto para até 2026, as análises com dados do PMBM deverão ser aprofundadas e deverá ser avaliada a possibilidade de se usar dados do monitoramento acústico realizado a bordo dos navios sísmicos, do projeto PMAP do Cluster de sísmica da Bacia de Santos.

A outra análise inédita e ainda preliminar utilizou dados acústicos coletados por veículos autônomos (*glider*) durante amostragens no entorno de navios sísmicos pelo PMPAS-BS. Uma vantagem destes dados é que foi possível medir a intensidade de ruídos em faixas de frequência específicas que estão correlacionadas com atividades antrópicas, como a sísmica, e associar aos níveis de ruído recebidos pelo *glider* à presença de vocalizações dos cetáceos. Enquanto os odontocetos podem até demonstrar tendência a se aproximar da fonte de ruído, os misticetos demonstram uma tendência ao afastamento, em concordância com os resultados encontrados em outra abordagem de análise usando dados retroativos do PMC-BS (ver **item V.4.3.1**). Mas, estas análises estão ainda em franco andamento e mais dados devem ser incorporados na modelagem para resultados mais robustos e assertivos.

Em relação aos habitats e espécies mais expostas à possíveis interferências antrópicas na Bacia de Santos, em especial aquelas relacionadas com a indústria de óleo e gás, por serem tipicamente realizadas em águas mais profundas, houve sobreposição aos habitats preferenciais de espécies e agrupamentos de cetáceos mais oceânicos. Os agrupamentos com maior sobreposição aos blocos de produção e exploração de petróleo e gás

natural foram os cetáceos que usam o platô oceânico, em especial aquelas espécies mergulhadoras de grandes profundidades - como os zifídeos (Gêneros *Mesoplodon* e *Ziphius*), kogídeos (Gênero *Kogia*), baleia-piloto-de-peitorais-curtas (*Globicephala macrorhynchus*) e cachalotes (*Physeter macrocephalus*) -, espécies do talude continental - baleia-fin (*Balaenoptera physalus*), baleia-sei (*B. borealis*), baleia-minke-antártica (*B. bonaerensis*), golfinho-de-Risso (*Grampus griseus*), golfinho-rotador (*Stenella longirostris*), golfinho-pintado-pantropical (*Stenella attenuata*), golfinho-cabeça-de-melão (*Peponocephala electra*) e orca-pigméia (*Feresa atenuata*) - e espécies com plasticidade ambiental – baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*), golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) e orca (*Orcinus orca*). As espécies mais representativas irão depender da localização do projeto de sísmica, que afetarão potencialmente um maior número de espécies de cetáceos se incluírem no seu polígono de disparos uma maior variedade de habitats, mas especialmente o talude, que é a região de maior riqueza de espécies na Bacia de Santos. Além destas espécies citadas, chama-se atenção para espécies que estão expostas a outras atividades relacionadas com a indústria de petróleo e gás natural, como as espécies costeiras e da plataforma continental, que podem estar sujeitas a interferências ocasionadas pelo tráfego de embarcações e atividades portuárias. Desta forma, em maior ou menor grau, as atividades de exploração e produção de petróleo e gás natural se sobrepõem com grande parte da comunidade de cetáceos da Bacia de Santos, com ênfase em espécies que usam águas mais profundas, que poderiam estar mais diretamente afetadas por uma ou mais interferências desta indústria, como a poluição sonora e o tráfego de embarcações.

Enfim, menciona-se as análises que vêm sendo desenvolvidas desde o início do PMC-BS, com atualizações de resultados apresentados em Relatórios Anuais anteriores e neste presente, sobre lesões de pele, presença de contaminantes e biomarcadores. Estas análises também têm apresentado dados e informações relevantes que, mais uma vez, atestam para múltiplos tensores antrópicos sobre os cetáceos e contribuem para o conhecimento de

como as diferentes atividades humanas interferem sobre os cetáceos da Bacia de Santos.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, A.; BORRELL, A. 2005. DDT and PCB reduction in the western Mediterranean from 1987 to 2002, as shown by levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). **Marine Environmental Research**, 59(4): 391-404.

AGUILAR, A.; BORRELL, A.; REIJNDERS, P.J.H. 2002. Geographical and temporal variation in levels of organochlorine contaminants in marine mammals. **Marine Environmental Research**, 53: 425-452.

ALBERTSON, G.R.; BAIRD, R.W.; OREMUS, M.; POOLE, M.M.; MARTIEN, K.K. & BAKER, C.S. 2017. Staying close to home? Genetic differentiation of rough-toothed dolphins near oceanic islands in the central Pacific Ocean. **Conservation Genetics**, 18: 33-51

ALBERTSON, G.R.; ALEXANDER, A.; ARCHER, F.I.; CABALLERO, S.; MARTIEN, K.K.; HEMERY, L.G. & BAKER, C.S. 2022. Worldwide phylogeography of rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) provides evidence for subspecies delimitation. **Marine Mammal Science**, 38(4): 1371-1397.

ALEGBELEYE, O.O.; OPEOLU, B.O.; JACKSON, V.A. 2017. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Critical Review of Environmental Occurrence and Bioremediation. **Environmental Management**, 60(4): 758-783.

ALONSO, M.B.; AZEVEDO, A.; TORRES, J.P.M.; DORNELES, P.R.; ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D.; LAILSON-BRITO, J.; MALM, O. 2014.

Anthropogenic (PBDE) and naturally-produced (MeO-PBDE) brominated compounds in cetaceans — A review. **Science of the Total Environment**, 481: 619-634.

ALVES, F.; DINNIS, A.; RIBEIRO, C.; NICOLAU, C.; KAUFMANN, M.; FORTUNA, C.M.; FREITAS, L. 2013. Daytime dive characteristics from six short-finned pilot whales *Globicephala macrorhynchus* off Madeira Island. Arquipelago. **Life and Marine Sciences**, 31: 1–8.

ALVES, F.; ALESSANDRINI, A.; FERNANDEZ, M.; HARTMAN, K.L. & DINIS, A. 2018. Home sweet home? Wide-ranging movements of socially stable resident delphinids (*Globicephala macrorhynchus*). **Revista Scientia Insularum**, 1: 37-49.

AMARAL, A.R.; SEQUEIRA, M.; MARTÍNEZ-CEDDIRA, J. & COELHO, M.M. 2007. New insights on population genetic structure of *Delphinus delphis* from the northeast Atlantic and phylogenetic relationships within the genus inferred from two mitochondrial markers. **Marine Biology**, 151(5): 1967-1976.

AMORIM, T.O.S.; REZENDE DE CASTRO, F.; RODRIGUES MORON, J.; RIBEIRO DUQUE, B.; COUTO DI TULLIO, J.; RESENDE SECCHI, E.; ANDRIOLO, A. 2019. Integrative bioacoustics discrimination of eight delphinid species in the western South Atlantic Ocean. **PLoS One**, 14(6): e0217977.

ANDERSON, R.; BURNHAM, P. 2002. Avoiding pitfalls when using information-theoretic methods. **The Journal of wildlife management**, 66(3): 912-918

ANDREWS, K.R.; PERRIN, W.F.; OREMUS, M.; KARCZMARSKI, L.; BOWEN, B.W.; PURITZ, J.B. & TOONEN, R.J. 2013. The evolving male: spinner dolphin (*Stenella longirostris*) ecotypes are divergent at Y chromosome

but not mtDNA or autosomal markers. **Molecular Ecology**, 22(9): 2408–2423.

ANDRIOLO, A.; ROCHA, J.M.; ZERBINI, A.N.; SIMÕES-LOPES, P.C.; MORENO, I.B.; LUCENA, A.; DANILEWICZ, D.; BASSOI, M. 2010. Distribution and relative abundance of large whales in a former whaling ground off eastern South America. **Zoologia**, 27(5): 741-750

ATHAYDE, A.; CANTOR, M.; CARDOSO, J.; FRANCISCO, A.; SANTOS, F.P.; CRESPO, H.; DE MORAIS, M.V.; ALBALADEJO, M.C.; GALLO NETO, H.; SICILIANO, S. 2023. Movements and social behavior of killer whales (*Orcinus orca*) off the Brazilian coast. **Frontiers in Marine Science**, 10:1206796

AU, W.W. 1993. **The sonar of dolphins**. Springer-Verlag, New York, NY. 288 p.

AULICH, M. G.; MILLER, B.S.; SAMARAN, F.; MCCAULEY, R.D.; SAUNDERS, B.J.; ERBE, C. 2023. Diel patterns of fin whale 20 Hz acoustic presence in Eastern Antarctic waters. **Real Society Open Science**, 10(4): 220499.

AUSTIN, M. 2007. Species distribution models and ecological theory: A critical assessment and some possible new approaches. **Ecological Modelling**, 200: 1-19.

AZEVEDO, A.F.; CARVALHO, R.R.; KAJIN, M.; VAN SLUYS, M; BISI, T.L; CUNHA, H.A; LAILSON-BRITO, J. 2017. The first confirmed decline of a delphinid population from Brazilian waters: 2000–2015 abundance of Sotalia guianensis in Guanabara Bay, South-eastern Brazil. **Ecological Indicators**, 79: 1-10.

AZZOLIN, M.; GANNIER, A.; LAMMERS, M.O.; OSWALD, J.N.; PAPALE, E.; BUSCAINO, G.; BUFFA, G.; MAZZOLA, S.; GIACOMA, C. 2014. Combining whistle acoustic parameters to discriminate Mediterranean

odontocetes during passive acoustic monitoring. **Journal of the Acoustic Society of America**, 135(1): 502-512.

BAIRD, R.W.; BORSANI, J.F.; HANSON, M.B.; TYACK, P.L. 2002. Diving and night-time behavior of long-finned pilot whales in the Ligurian Sea. **Marine Ecology Progress Series**, 237: 301-305.

BAIRD, R.W.; HANSON, M. B. & DILL, L. M. 2005. Factors influencing the diving behaviour of fish-eating killer whales: sex differences and diel and interannual variation in diving rates. **Canadian Journal of Zoology**, 83(2): 257–267.

BALMER, B.; YLITALO, G.; WATWOOD, S.; QUIGLEY, B.; BOLTON, J.; MULLIN, K.; ROSEL, P.; ROWLES, T.; SPEAKMAN, T.; WILCOX, L.; ZOLMAN, E.; SCHWACKE, L. 2019. Comparison of persistent organic pollutants (POPs) between small cetaceans in coastal and estuarine waters of the northern Gulf of Mexico. **Marine Pollution Bulletin**, 145: 239-247.

BANDELT, H.J.; FORSTER, P.; RÖHL, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, 16(1): 37-48.

BARRAGÁN-BARRERA, D.C.; MAY-COLLADO, L.J.; TEZANOS-PINTO, G.; ISLAS-VILLANUEVA, V.; CORREA-CÁRDENAS, C.A. & CABALLERO, S. 2017. High genetic structure and low mitochondrial diversity in bottlenose dolphins of the Archipelago of Bocas del Toro, Panama: A population at risk? **PloS one**, 12(12): e0189370.

BARRETO, A.S.; CABRAL, A.; TAUFER, R.M.; ALMEIDA, T.C.M.; OWENS, A.L. 2020. Conhecimento sobre mamíferos marinhos gerado pela indústria de sísmica através do sistema de apoio ao monitoramento de mamíferos marinhos (SIMMAM) In: BARBOSA, A.F.; OWENS, A.L. (Eds.) **IBAMA e Indústria de Pesquisa Sísmica: em busca do conhecimento**

e sustentabilidade através do licenciamento ambiental. IBAMA, Brasília.

BARTALINI, A.; MUÑOZ-ARNANZ, J.; GARCÍA-ÁLVAREZ, N.; FERNÁNDEZ, A.; JIMÉNEZ, B. 2022. Global PBDE contamination in cetaceans. A critical review. **Environmental Pollution**, 308: 119670.

BATES, D.; MAECHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**, 67(1): 1-48.

BAUMGARTNER, M.F.; MUSSOLINE, S.E. 2011. A generalized baleen whale call detection and classification system. **Journal of the Acoustical Society of America**, 129(5): 2889-2902.

BAUMGARTNER, M.F.; VAN PARIJS, S.M.; WENZEL, F.W.; TREMBLAY, C.J.; CARTER ESCH, H.; WARDE, A.M. 2008. Low frequency vocalizations attributed to sei whales (*Balaenoptera borealis*). **The Journal of the Acoustical Society of America**. 124(2): 1339–1349.

BAUMGARTNER, M.F.; LIN, Y.T. 2019. **Evaluating the accuracy and detection range of a moored whale detection buoy near the Massachusetts wind energy area**. Woods Hole (MA): Massachusetts Clean Energy Center and U.S. Department of the Interior, Bureau of Ocean Energy Management. OCS Study BOEM 2019-061. 72 p.

BERTA, A.; SUMICH, J.L. 1999. **Marine mammals: evolutionary biology**. Burlington: Academic Press. Elsevier. 494 p.

BEST, P.B. 1977. Two allopatric forms of Bryde's whale off South Africa. **Reports of the International Whaling Commission,** 1: 10-38.

BEST, P.B. 1979. Social Organization in Sperm Whales, Physeter macrocephalus. In: WINN, H. E.; OLLA, B. L. (eds.) **Behavior of Marine Animals: Current Perspectives in Research**. Boston, MA: Springer US.

BEST, P.B.; CANHAM, P.A.S.; MACLEOD, N. 1984. Patterns of reproduction in sperm whales, Physeter macrocephalus. **Reports of the International Whaling Commission**, 6: 51–79.

BEST, P.; LOCKYER, C.; 2002. Reproduction, growth and migrations of sei whales Balaenoptera borealis off the west coast of South Africa. **South African Journal of Marine Science**, 24(1): 113-133.

BISI, T.L.; DORNELES, P.R.; LAILSON-BRITO, J.; LEPOINT, G.; AZEVEDO ADE, F.; FLACH, L.; MALM, O.; DAS, K. 2013. Trophic relationships and habitat preferences of delphinids from the southeastern Brazilian coast determined by carbon and nitrogen stable isotope composition. **PLoS ONE**, 8(12): e82205.

BLOCH, D.; HEIDE-JØRGENSEN, M. P.; STEFANSSON, E.; MIKKELSEN, B.; OFSTAD, L. H.; DIETZ, R.; ANDERSEN, L. W. 2003. Short-term movements of long-finned pilot whales *Globicephala melas* around the Faroe Islands. **Wildlife Biology**, 9(1): 47-58.

BODE, A.; SAAVEDRA, C.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, M.; ARREGUI, M.; ARBELO, M.; FERNÁNDEZ, A.; FREITAS, L.; SILVA, M.A.; PRIETO, R.; AZEVEDO, J.M.N.; GIMÉNEZ, J.; PIERCE, G.J.; SANTOS, M.B. 2022. Trophic position of dolphins tracks recent changes in the pelagic ecosystem of the Macaronesian region (NE Atlantic). **Marine Ecology Progress Series**, 699: 167-180.

BORCARD, D.; GILLET, F.; LEGENDRE, P. 2011. **Numerical Ecology with R**. New York: Springer. 301 p.

BORTOLOTTO, G.A.; KOLESNIKOVAS, C.K.M.; FREIRE, A.S. & SIMÕES-LOPES, P.C. 2016 Young humpback whale Megaptera novaeangliae feeding in Santa Catarina coastal waters, Southern Brazil, and a ship strike report. **Marine Biodiversity Records**, 9(1): 9-29.

BRANCH, T.A.; STAFFORD, K.M.; PALACIOS, D.M.; ALLISON, C.; BANNISTER, J.L.; BURTON, C.L.K.; WARNEKE, R.M. 2007. Past and present distribution, densities and movements of blue whales *Balaenoptera musculus* in the Southern Hemisphere and northern Indian Ocean. **Mammal Review**, 37(2): 116-175.

BRANDINI, F.P.; TURA, P.M.; SANTOS, P.P.G.M. 2018. Ecosystem responses to biogeochemical fronts in the South Brazil Bight. **Progress in Oceanography**, 164: 52-62.

BRAULIK, G.; JEFFERSON, T. A. 2018. *Stenella frontalis*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. IUCN 2008: e.T20732A50375312

BRAULIK, G.; JEFFERSON, T.A.; BEARZI, G. 2021. *Delphinus delphis*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2021:** e.T134817215A50352620.

BREIMAN, L. 2001. Random forests. **Machine learning**, 45(1): 5-32.

BROWN, N.W.; HELBIG, R.; BOAG, P.T.; GASKIN D.E. & WHITE, B.N. 1991. Sexing beluga whales (*Delphinapterus leucas*) by means of DNA markers. **Canadian Journal of Zoology**, 69(7): 1971-1976.

BUCKLAND, S.T.; ANDERSON, D.R.; BURNHAM, K.P.; LAAKE, J.L.; BORCHERS, D.L.; THOMAS, L. 2001. **Introduction to Distance Sampling**. Oxford: Oxford University Press. 448 p.

BURKHARDT, E.; OPZEELAND, I.V.; CISEWSKI, B.; MATTMÜLLER, R.; MEISTER, M.; SCHALL, E.; SPIESECKE, S.; THOMISCH, K.; ZWICKER, S.; BOEBEL, O. 2021. Seasonal and diel cycles of fin whale acoustic occurrence near Elephant Island, Antarctica. **Royal Society Open Science**, 8(5): 201142.

BURNHAM, K.P.; ANDERSON, D.R. 2002. **Model Selection and Multi-Model Inference**. Springer-Verlag: New York, NY. 488 p.

CABALLERO, S.; MARCOS, C.D.O.; SANCHES, A. & MIGNUCCI-GIANNONI, A.A. 2013. Initial description of the phylogeography, population structure

and genetic diversity of Atlantic spotted dolphins from Brazil and the Caribbean, inferred from analyses of mitochondrial and nuclear DNA. **Biochemical Systematics and Ecology**, 48: 263-270.

CAMPOS, E.J.D., MILLER, J.L., MÜLLER, T.J., PETTERSON, R.G. 1995. Physical oceanography of the southwest Atlantic Ocean. **Oceanography**, 8(3): 87–91.

CAMPOS, L.B.; SANTOS, M.C.O. 2021. Trophic relationships and use of area of two sympatric small cetaceans in the Southwestern Atlantic Ocean determined by carbon and nitrogen stable isotopes. **Anais da Academia Brasileira Ciências**, 93(2): e20200638.

CARVALHO, I.; LOO, J.; COLLINS, T.; BARENDSE, J.; POMILLA, C.; LESLIE, M.S.; NGOUESSONO, S.; BEST, P.B. & ROSENBAUM, H.C. 2014. Does temporal and spatial segregation explain the complex population structure of humpback whales on the coast of West Africa? **Marine Biology**, 161: 805–819.

CARWARDINE, M. 2019. **Handbook of Whales, Dolphins and Porpoises of the World**. Princeton University Press, 528p

CASCÃO, I.; LAMMERS, M.O.; PRIETO, R.; SANTOS, R.S.; SILVA, M.A. 2020. Temporal patterns in acoustic presence and foraging activity of oceanic dolphins at seamounts in the Azores. **Scientific Reports**, 10: 3610.

CASTELLOTE, M.; CLARK, C.W.; & LAMMERS, M.O. 2012. Fin whale (*Balaenoptera physalus*) population identity in the western Mediterranean Sea. **Marine Mammal Science**: *28*(2): 325-344.

CASTELLOTE, M.; LLORENS, C. 2016. Review of the Effects of Offshore Seismic Surveys in Cetaceans: Are Mass Strandings a Possibility?. In: POPPER, A., HAWKINS, A. (Eds) **The Effects of Noise on Aquatic Life**

II. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol. 875**.** Springer, New York, NY. 133-143 p.

CASTILHO, C.S.; PEDONE-VALDEZ, F.; BERTUOL, F.; FRUET, P.; GENOVES, R.C.; DI TULLIO, J.C.; CAON, G.; HOFFMANN, L.S. & FREITAS, T.R.O. 2015. Insights about the genetic diversity and population structure of an offshore group of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus)* in the Mid-Atlantic. **Genetics and Molecular Research**, 14(2): 3387-3399.

CERCHIO, S.; WEIR, C.R. 2022. Mid-frequency song and low-frequency calls of sei whales in the Falkland Islands. **Royal Society Open Science**, 9(11): 220738.

CHARLTON-ROBB, K.; TAYLOR, A.C. & MCKECHNIE, S.W. 2015. Population genetic structure of the Burrunan dolphin (*Tursiops australis*) in coastal waters of South-eastern Australia: conservation implications. **Conservation Genetics**, 16(1): 195-207.

CHARRAD, M.; GHAZZALI, N.; BOITEAU, V.; NIKNAFS, A. 2014. NbClust: An R Package for Determining the Relevant Number of Clusters in a Data Set. **Journal of Statistical Software**, 61(6): 1–36.

CLARK, C.W. 1982. The acoustic repertoire of the southern right whale, a quantitative analysis. **Animal Behaviour**, 30(4): 1060-1071.

COELHO-SOUZA, S.A.; LÓPEZ, M.S.; GUIMARÃES, J.R.D.; COUTINHO, R., CANDELLA, R.N. 2012. Biophysical interactions in the Cabo Frio upwelling system, southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, 60(3): 353-365.

COMMITTEE ON TAXONOMY. 2023. List of marine mammal species and subspecies. **The Society for Marine Mammalogy.** Disponível em: www.marinemammalscience.org. Acesso em: 5 out. 2023.

CONSTANTINE, R.; JOHNSON, M.; RIEKKOLA, L.; JERVIS, S.; KOZMIAN-LEDWARD, L., DENNIS, T.; SOTO, N.A. 2015. Mitigation of vessel-strike mortality of endangered Bryde's whales in the Hauraki Gulf, New Zealand. **Biological Conservation**, 186: 149-157.

COOKE, J.G. 2018. *Balaenoptera physalus*. **The IUCN Red List Threat Species 2018**: eT2478A50349982.

CORKERON, P.J.; CONNOR, R.C. 1999. Why do baleen whales migrate? **Marine Mammal Science**, 15(4): 1228-1245.

COSTA, A.P.; ROSEL, P.E.; DAURA-JORGE, F.G.; SIMÕES-LOPES, P.C. 2016. Offshore and coastal common bottlenose dolphins of the western South Atlantic face-to-face: What the skull and the spine can tell us. **Marine Mammal Science**, 32(4): 1433-1457.

COSTA, A.P.; FRUET, P.F.; SECCHI, E.R., DAURA-JORGE, F.G., SIMÕES-LOPES, P.C., DI TULLIO, J.C. & ROSEL, P.E. 2021. Ecological divergence and speciation in common bottlenose dolphins in the western South Atlantic. **Journal of Evolutionary Biology**, 34(1): 16-32.

COURBIS, S.; BAIRD, R.W.; CIPRIANO, F. & DUFFIELD, D. 2014 Multiple populations of pantropical spotted dolphins in Hawaiian waters. **Journal of Heredity**, 105(5): 627-641.

COVACI, A.; GERECKE, A.C.; LAW, R.J.; VOORSPOELS, S.; KOHLER, M.; HEEB, N.V.; LESLIE, H.; ALLCHIN, C.R.; DE BOER, J. 2006. Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the environment and humans: A review. **Environmental Science and Technology**, 40(12): 3679-3688.

CREMER, M.J.; SIMÕES-LOPES, P.C**.** 2008. Distribution, abundance and density estimates of Franciscanas, *Pontoporia blainvillei* (Cetacea: Pontoporiidae), in Babitonga bay, southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 25: 397-402.

CROLL, D.A.; ACEVEDO-GUTIÉRREZ, A.; TERSHY, B.; URBÁN-RAMIREZ, J. 2001. The diving behavior of blue and fin whales: is dive duration shorter than expected based on oxygen stores? **Comparative Biochemistry and Physiology**, 129(4): 797-809.

CROLL, D.A.; CLARK, C.W.; ACEVEDO, A.; TERSHY, B.; FLORES, S.; GEDAMKE, J.; URBAN, J. 2002. Only male fin whales sing loud songs. **Nature**, 417(6891): 809-809.

CULLEN, J.A.; MARSHALL, C.D.; HALA, D. 2019. Integration of multi-tissue PAH and PCB burdens with biomarker activity in three coastal shark species from the northwestern Gulf of Mexico. **Science of the Total Environment**, 650: 1158-1172.

CUNHA, H.A.; DE CASTRO, R.L.; SECCHI, E.R.; CRESPO, E.A.; LAILSON-BRITO, J.; AZEVEDO, A.F.; LAZOSKI, C. & SOLÉ-CAVA, A.M. 2015. Molecular and morphological differentiation of common dolphins (*Delphinus sp.*) in the Southwestern Atlantic: testing the two species hypothesis in sympatry. **PloS one**: 10(11), e0140251.

CYPRIANO-SOUZA, A.L.; ENGEL, M.H.; CABALLERO, S.; OLAVARRÍA, C.; FLÓREZ-GONZÁLEZ, L.; CAPELLA, J.; STEEL, D.; SREMBA A.; AGUAYO A.; THIELE, D.; BAKER, C.S. & BONATTO, S.L. 2017. Genetic differentiation between humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) from Atlantic and Pacific breeding grounds of South America. **Marine Mammal Science**, 33(2): 457-479.

CYPRIANO-SOUZA, A.L.; DA SILVA, T.F.; ENGEL, M.H. & BONATTO, S.L. 2018. Effective population size and the genetic consequences of commercial whaling on the humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) from Southwestern Atlantic Ocean. **Genetics and Molecular Biology**, 41: 253-262.

DA SILVA, D.M.P.; AZEVEDO, A.F.; SECCHI, E.R.; BARBOSA, L.A.; FLORES, P.A.C.; CARVALHO, R.R.; BISI, T.L.; LAILSON-BRITO, J. Jr.; CUNHA, H.A. 2015. Molecular taxonomy and population structure of the rough-toothed dolphin *Steno bredanensis* (Cetartiodactyla: Delphinidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, 175(4): 949–962.

DALLA-ROSA, L.; SECCHI, E. R. 2007. Killer whale (*Orcinus orca*) interactions with the tuna and swordfish longline fishery off southern and south-eastern Brazil: a comparison with shark interactions. **Journal of the Marine Biological Association of the U.K.**, 87(1): 135-140.

DALPAZ, L.; PARO, A.D.; DAURA-JORGE, F.G.; ROSSI-SANTOS, M.; NORRIS, T.F.; INGRAM, S.N.; & WEDEKIN, L.L. (2021). Better together: analysis of integrated acoustic and visual methods when surveying a cetacean community. **Marine Ecology Progress Series**, 678: 197-209.

DANILEWICZ, D.; MORENO, I.B.; OTT, P.H.; TAVARES, M.; AZEVEDO, A.F.; SECCHI, E.R.; ANDRIOLO A. 2010. Abundance estimates for a threatened population of franciscana dolphins in southern coastal Brazil: uncertainties and management implications. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**, 90(8): 1649–1657.

DARLING, J.D.; JONES, M.E.; NICKLIN, C.P. 2006. Humpback whale songs: Do they organize males during the breeding season? **Behaviour**, 143(9): 1051-1101.

DE OLIVEIRA, V.K.; FARIA, D.M.; CUNHA, H.A.; DOS SANTOS, T.E.; COLOSIO, A.C.; BARBOSA, L.A.; FREIRE, M.C.C & FARRO, A.P.C. 2020. Low genetic diversity of the endangered franciscana (*Pontoporia blainvillei*) in its northernmost, isolated population (FMAIa, Espírito Santo, Brazil). **Frontiers in Marine Science**, 7: 608276.

DI TULLIO, J.C.; GANDRA, T.B.R.; ZERBINI, A.N.; SECCHI, E.R. 2016. Diversity and distribution patterns of cetaceans in the Subtropical

Southwestern Atlantic outer continental shelf and slope. **PLoS One**, 11(5): e0155841.

DJOMO, J.; GARRIGUES, P.; NARBONNE, J.F. 1996. Uptake and depuration of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediment by the zebrafish (*Brachydanio Rerio*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, 15(7): 1177-1181.

DO AMARAL, K.B.; ALVARES, D.J.; HEINZELMANN, L.; BORGES-MARTINS, M.; SICILIANO, S. & MORENO, I.B. 2015. Ecological niche modeling of *Stenella* dolphins (Cetartiodactyla: Delphinidae) in the Southwestern Atlantic Ocean. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 472: 166-179.

DO AMARAL, K.B.; BARRAGÁN-BARRERA, D.C; MESA-GUTIÉRREZ, R.A.; FARÍAS-CURTIDOR, N.; CABALLERO, S.J.; MÉNDEZ-FERNANDEZ, P.; SANTOS, M.C.O.; RINALDI, C.; RINALDI, R.; SICILIANO, S.; MARTÍN, V.; CARRILLO, M.; DE MEIRELLES, A.C.O.; FRANCO-TRECU, V.; FAGUNDES, N.J.R; MORENO, I.B.; KNOWLES, L.L & AMARAL, A.R. 2021. Seascape Genetics of the Atlantic spotted dolphin (*Stenella frontalis*) based on mitochondrial DNA. **Journal of Heredity**, 112(7): 646-662.

DO, C.; WAPLES, R.S.; PEEL, D.; MACBETH, G.M.; TILLETT, B.J. & OVENDEN, J.R. 2014. NeEstimator v2: Re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. **Molecular Ecology Resources**, 14(1): 209-214.

DOLAR, M.L.L.; WALKER, W.A.; KOOYMAN, G.L.; & PERRIN, W.F. 2003. Comparative feeding ecology of spinner dolphins (*Stenella longirostris*) and Fraser's dolphins (*Lagenodelphis hosei*) in the Sulu Sea. **Marine Mammal Science**, 19(1): 1-19.

DOMBROSKI, J.R.G.; PARKS, S.E. & NOWACEK, D.P. 2021. Dive behavior of North Atlantic right whales on the calving ground in the Southeast USA: implications for conservation. **Endangered Species Research,** 46: 35–48.

DOMIT, C. et al. 2022. Coastal development and habitat loss: understanding and resolving associated threats to the franciscana, *Pontoporia blainvillei*. In: SIMÕES-LOPES, P.C.; CREMER, M.J. (Eds.). **The Franciscana Dolphin: On the Edge of Survival**. Academic Press, Elsevier, London, UK: 265-302.

DORNELES, P.R.; LAILSON-BRITO, J.; DIRTU, A.C.; WEIJS, L.; AZEVEDO, A.F.; TORRES, J.P.M.; MALM, O.; NEELS, H.; BLUST, R.; DAS, K.; COVACI, A. 2010. Anthropogenic and naturally-produced organobrominated compounds in marine mammals from Brazil. **Environment International***,* 36(1): 60-67.

DUNLOP, R.A.; NOAD, M.J.; CATO, D.H.; STOKES, D. 2007. The social vocalization repertoire of east Australian migrating humpback whales (*Megaptera novaeangliae*). **Journal of the Acoustical Society of America**, 22(5): 2893–2905.

Dunlop, R.A.; Cato, D.H.; Noad, M.J. 2008. Non-song acoustic communication in migrating humpback whales (*Megaptera novaeangliae*). **Marine Mammal Science**, 24(3): 613-629.

DURBAN, J.W.; PITMAN, R.L. 2012. Antarctic killer whales make rapid, round-trip movements to subtropical waters: evidence for physiological maintenance migrations? **Biology letters**, 8(2): 274-277.

EARL, D.A. & VONHOLDT, B.M. 2012. Sstructure harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resource**, 4(2): 359–361.

EDWARDS, E.F.; HALL, C.; MOORE, T.J.; SHEREDY, C.; REDFERN, J.V. 2015. Global distribution of fin whales Balaenoptera physalus in the post-whaling era (1980-2012). **Mammal Review**, 45(4): 197-214.

ELITH, J.; GRAHAM, C.H.; ANDERSON, R.P.; DUDÍK, M.; FERRIER, S.; GUISAN, A.; HIJMANS, R.J.; HUETTMANN, F.; LEATHWICK, J.R.; LEHMANN, A.; LI, J.; LOHMANN, L.G.; LOISELLE, B.A.; MANION, G.; MORITZ, C.; NAKAMURA, M.; NAKAZAWA, Y.; OVERTON, J.M.; PETERSON, A.T.; PHILLIPS, S.J.; RICHARDSON, K.; SCACHETTI-PEREIRA, R.; SCHAPIRE, R.E.; SOBERÓN, J.; WILLIAMS, S.; WISZ, M. S.; ZIMMERMANN, N.E. 2006, Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. **Ecography**, 29: 129-151.

ELLIS, M. 1969. **A baleia no Brasil colonial**. Melhoramentos. São Paulo, Brasil.

ELWEN, S.H. & BEST, P.B. 2004. Environmental factors influencing the distribution of southern right whales on the south coast of South Africa I: Broad scale patterns. **Marine Mammal Science**, 20(3): 567–582.

EMURA, M.; JACOB, J.; GRIMMER, G.; KNEBEL, J.W.; RAAB, G.; MOHR, U. 2006. PAH Metabolism in Cultured Mammalian Lung Epithelial Cells. **Polycyclic aromatic compounds***,* 10(1-4): 35-42.

ENGEL, M.H.; MARTIN, A.R. 2009. Feeding grounds of the western South Atlantic humpback whale population. **Marine Mammal Science**, 25(4): 964–969.

ERDOGRUL, Ö.; COVACI, A.; SCHEPENS, P. 2005. Levels of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish species from Kahramanmaras, Turkey. **Environment International***,* 31: 703-711.

ESPAÑOL-JIMÉNEZ, S.; BAHAMONDE, P.A.; CHIANG, G.; HAUSSERMANN, V. 2019. Discovering sounds in Patagonia: Characterizing sei whale

(Balaenoptera borealis) downsweeps in the south-eastern Pacific Ocean. **Ocean Science**, 15(1): 75–82.

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

EXCOFFIER, L. & LISCHER, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Lynux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, 10(3): 564–567.

FAHLMAN, A.; MOORE, R.B.T.; STONE, R.; SWEENEY, J.; TRAINOR, R.F.; BARLEYCORN, A.A.; MCHUGH, K.; ALLEN, J.B. & WELLS, R.S. 2023. Deep diving by offshore bottlenose dolphins (*Tursiops* spp.). **Marine Mammals Science**, 39(4): 1251-1266.

FAITH, D.P.; MINCHIN, P.R.; BELBIN, L. 1987. Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance. **Vegetatio**, 69: 57-68.

FARIA, D.M.; DA SILVA, J.M., Jr; COSTA, L.P.; PAIVA, S.R.; MARINO, C.L.; ROLLO, M.M., Jr; BAKER, C.S. & FARRO, A.P.C. 2020. Low mtDNA diversity in a highly differentiated population of spinner dolphins (*Stenella longirostris*) from the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. **PLoS ONE**, 15(4): e0230660.

FARINA, A. 2014. **Soundscape ecology: principles, patterns, methods and applications**. Urbino: Springer, 326p

FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, 39(4): 783–791.

FIGUEIREDO, G.C.; SANTOS, C.O.M.; SICILIANO, S. & MOURA, J.F. 2017. Southern right whales *Eubalaena australis* in an urbanized area off the southwestern Atlantic Ocean: updated records and conservation issues. **Aquatic Mammals,** 43(1): 52-62.

FILUN, D.; THOMISCH, K.; BOEBEL, O.; BREY, T.; ŠIROVIĆ, A.; SPIESECKE, S.; VAN OPZEELAND, I. 2020. Frozen verses: Antarctic minke whales (*Balaenoptera bonaerensis*) call predominantly during austral winter. **Royal Society Open Science**, 7(10): 192112.

FLEISHMAN, E.; CHOLEWIAK, D.; GILLESPIE, D.; HELBLE, T.; KLINCK, H.; NOSAL, E.M. & ROCH, M.A. 2023. Ecological inferences about marine mammals from passive acoustic data. **Biological Reviews**, 98(5): 1633-1647.

FLETCHER, R.; FORTIN, M.-J. 2018. **Spatial Ecology and Conservation Modeling:** Application with R. Springer Nature, Switzerland.

FOCKEN, U.; BECKER, K. 1998. Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using δ13C data. **Oecologia**, 115: 337-343.

FORD, J.K. 2009. Killer whale: Orcinus orca. In: **Encyclopedia of marine mammals**. Academic Press: 650-657.

FRANKHAM, R. 1995. Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. **Genetics Research**, 66(2): 95-107.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D. & BRISCOE, D.A. 2002. **Introduction to Conservation Genetics**. Cambridge University Press: Cambridge. 617 p.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D. & BRISCOE, D.A. 2010. Introduction to Conservation Genetics. 2nd edition. Cambridge University Press: Cambridge. 644 p.

FRANKHAM, R.; BRADSHAW, C.J. & BROOK, B.W. 2014. Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. **Biological Conservation**, 170: 56-63.

FREITAS, C.; LYDERSEN, C.; FEDAK, M.; KOVACS, K.M. 2008. A simple new algorithm to filter marine mammal Argos locations. **Marine Mammal Science**, 24(2): 315–325.

FRUET, P.F.; SECCHI, E.R.; DAURA-JORGE, F.; VERMEULEN, E.; FLORES, P.A.; SIMOES-LOPES, P.C.; DALLA ROSA, L. 2014. Remarkably low genetic diversity and strong population structure in common bottlenose dolphins (Tursiops truncatus) from coastal waters of the Southwestern Atlantic Ocean. **Conservation Genetics**, 15(4): 879-895.

FRUET, P.F.; SECCHI, E.R.; DI TULLIO, J.C.; SIMÕES-LOPES, P.C.; DAURA-JORGE, F.; COSTA, A.P.B.; VERMEULEN, E.; FLORES, P.A.C; GENOVES, R.C.; LAPORTA, P.; BEHEREGARAY, L.B. & MOLLER, L.M. 2017. Genetic divergence between two phenotypically distinct bottlenose dolphin ecotypes suggests separate evolutionary trajectories. **Ecology and Evolution**, 7(21): 9131-9143.

GABRIELLE, C.M.; LOCKYER, C.; STRALEY, J.M.; JURASZ, C.M.; KATO, H. 2010. Sighting history of a naturally marked humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) suggests ear plug growth layer groups are deposited annually. **Marine Mammal Science**, 26: 443–450.

GANNIER, A.; FUCHS, S.; QUÈBRE, P.; OSWALD, J.N. 2010. Performance of a contour-based classification method for whistles of Mediterranean delphinids. **Applied Acoustics**, 71(11): 1063-1069.

GARRIGUE, C.; CLAPHAM, P.J.; GEYER, Y.; KENNEDY, A.S.; ZERBINI, A.N. 2015.Satellite tracking reveals novel migratory patterns and the importance of seamounts for endangered South Pacific humpback whales. Royal **Society Open Science**, 2(11): 150489.

GARRISON, L.P. 2007. Interactions between marine mammals and pelagic longline fishing gear in the US Atlantic Ocean between 1992 and 2004. **Fishery Bulletin**, 105(3): 408-417.

GILSON, A.; SYVANEN, M.; LEVINE, K. & BANKS, J. 1998. Deer gender determination by polymerase chain reaction: validation study and application to tissues, bloodstains, and hair forensic samples from California. **California Fish and Game**, 84(4): 159-169.

GOLDBOGEN, J.A. 2006. Kinematics of foraging dives and lunge-feeding in fin whales. **Journal of Experimental Biology**, 209(7): 1231-1244.

GOLDBOGEN, J.A.; FRIEDLAENDER, A.S.; CALAMBOKIDIS, J.; MCKENNA, M.F.; SIMON, M.; NOWACEK, D.P. 2013. Integrative Approaches to the Study of Baleen Whale Diving Behavior, Feeding Performance, and Foraging Ecology. **BioScience**, 63(2): 90-100.

GOLDBOGEN, J.A.; PYENSON, N.D.; SHADWICK, R.E. 2007. Big gulps require high drag for fin whale lunge feeding. **Marine Ecology Progress Series**, 349: 289-301.

GORDON J.; GILLESPIE D.; POTTER J.; FRANTZIS A.; SIMMONDS M.P.; SWIFT R.; THOMPSON D. 2004. A review of the effects of seismic surveys on marine mammals. **Marine Technology Society Journal**, 37(4): 16–34.

GREEN, M.L.; HERZING, D.L. & BALDWIN, J.D. 2011. Reproductive success of male Atlantic spotted dolphins (*Stenella frontalis*) revealed by noninvasive genetic analysis of paternity. **Canadian Journal of Zoology**, 89(3): 239-253.

GREENE, C.R.; RICHARDSON, W.J. 1988. Characteristics of marine seismic survey sounds in Beaufort Sea. **Journal of the Acoustics Society of America**, 83(6): 2246-2254.

GROß, J.; FRY, B.; BURFORD, M.A.; BENGTSON NASH, S. 2021. Assessing the effects of lipid extraction and lipid correction on stable isotope values (δ13C and δ15N) of blubber and skin from southern hemisphere

humpback whales. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, 35(16): e9140.

GUI, D.; ZHANG, L.; ZHAN, F.; LIU, W.; YU, X.; CHEN, L.; WU, Y. 2018. Levels and trends of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Indo-Pacific humpback dolphins from the Pearl River Estuary (2012–2017). **Marine Pollution Bulletin**, 131: 693-700.

GUISAN, A.; ZIMMERMANN, N.E. 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. **Ecological modelling**, 135(2-3): 147-186.

HALKIAS, X. C.; PARIS, S.; GLOTIN, H. 2013. Classification of mysticete sounds using machine learning techniques. **The Journal of the Acoustical Society of America**, 134(5): 3496-3505.

HALL, A.J.; MCCONNELL, B.J.; SCHWACKE, L.H.; YLITALO, G.M.; WILLIAMS, R.; ROWLES, T.K. 2018. Predicting the effects of polychlorinated biphenyls on cetacean populations through impacts on immunity and calf survival. **Environmental Pollution**, 233: 407-418.

HAMNER, R.M.; CONSTANTINE, R.; MATTLIN, R.; WAPLES, R. & BAKER, C.S. 2017. Genotype-based estimates of local abundance and effective population size for Hector's dolphins. **Biological Conservation**, 211A: 150-160.

HARTIG, F. 2022. DHARMa: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.4.5. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=DHARMa>.

HARTIGAN, J.A. & WONG, M.A. 1979. Algorithm AS 136: A k-means clustering algorithm. **Journal of the royal statistical society**, 28(1): 100-108.

HASTIE, G.D.; WILSON, B.; THOMPSON, P.M. 2006. Diving deep in a foraging hotspot: acoustic insights into bottlenose dolphin dive depths and feeding behavior. **Marine Biology**. 148: 1182-1188.

HEENEHAN, H.; STANISTREET, J.E.; CORKERON, P.J.; BOUVERET, L.; CHALIFOUR, J.; DAVIS, G.E.; HENRIQUEZ, A.; KISZKA, J.J.; KLINE, L.; REED, C.; SHAMIR-REYNOSO, O.; VÉDIE, F.; DE WOLF, W.; HOETJES, P.; VAN PARIJS, S.M. 2019. Caribbean Sea soundscapes: monitoring humpback whales, biological sounds, geological events, and anthropogenic impacts of vessel noise. **Frontiers in Marine Science**, 6(347).

HEISSLER, V.L.; AMARAL, K.B.; SERPA, N.; FRAINER, G.; SICILIANO, S.; SECCHI, E.R.; MORENO, I.B. 2016. Sei whales, *Balaenoptera borealis*, in the South-Western Atlantic Ocean: the discovery of a calving ground in Brazilian waters. In: **66th International Whaling Commission Meeting**: 20-28.

HERMANNSEN, L.; TOUGAARD, J.; BEEDHOLM, K.; NABE NIELSEN, J.; MADSEN, P.T. 2015. Characteristics and Propagation of Airgun Pulses in Shallow Water with Implications for Effects on Small Marine Mammals. **PLoS ONE**, 10(7): e0133436

HITES, R.A. 2004. Polybrominated diphenyl ethers in the environment and in people: a meta-analysis of concentrations. **Environmental science & technology**, 38(4): 945-956.

HODGE, L.E.; BAUMANN-PICKERING, S.; HILDEBRAND, J.A.; BELL, J.T.; CUMMINGS, E.W.; FOLEY, H.J.; MCALARNEY, R.J.; MCLELLAN, W.A.; PABST, D.A.; SWAIM, Z.T.; WAPLES, D.M. & READ, A.J. 2018. Heard but not seen: Occurrence of Kogia spp. along the western North Atlantic shelf break. **Marine Mammal Science**, 34(4): 1141-1153.

HOELZEL, A.R.; GOLDSWORTHY, S.D.; FLEISCHER, R.C. 2002. Population genetic structure. **Marine mammal biology:** an evolutionary approach: 325-352.

HOMFELDT, T.N.; RISCH, D.; STEVENSON, A. & HENRY, L-A. 2022. Seasonal and diel patterns in singing activity of humpback whales migrating through Bermuda. **Frontiers in Marine Science**, 9: 941793.

HOOKER, S.K.; WHITEHEAD, H.; GOWANS, S. 1999. Marine Protected Area Design and the Spatial and Temporal Distribution of Cetaceans in a Submarine Canyon. **Conservation Biology**, 13(3): 592-602.

HORWOOD, J. 1987. The sei whale: population biology, ecology and management. Croom Helm, London IWC. Report of the workshop on the comprehensive assessment of Southern Hemisphere humpback whales. **Paper SC/58/Rep 4 presented to the IWC Scientific Committee.**

HUIJSER, L.A.E; BÉRUBÉ, M.; CABRERA, A.A.; PRIETO, R.; SILVA, M.A.; ROBBINS, J.; KANDA, N.; PASTENE, L.A.; GOTO, M.; YOSHIDA, H.; VÍKINGSSON, G.A. & PALSBOLL, P.J. 2018. Population structure of North Atlantic and North Pacific sei whales (*Balaenoptera borealis*) inferred from mitochondrial control region DNA sequences and microsatellite genotypes. **Conservation Genetics**, 19(4): 1007-1024.

IÑÍGUEZ, M.; MASELLO, J. F.; ARCUCCI, D.; KROHLING, F.; BELGRANO, J. 2010. On the occurrence of sei whales, Balaenoptera borealis, in the south-western Atlantic. **Marine Biodiversity Records**, 3: e68.

IWC (International Whaling Commission). 2018. **Report of the Scientific Committee**. Bled, Slovenia, 24 abril - 6 May 2018.

IBAMA. 2018. **Guia de Monitoramento da Biota Marinha em Pesquisas Sísmicas Marítimas**. IBAMA / MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA, Brasil. Disponível em: https://www.ibama.gov.br. Acesso em: 15 out. 2023.

ICMBio - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. 2011. Plano de ação nacional para conservação dos

mamíferos aquáticos: Pequenos cetáceos. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 132p.

IPQM & PETROBRAS, 2023. Estudo de decaimento sonoro in situ no Campo de Tupi – dados de Gliders. **Pesquisa Sísmica Marítima 4D Nodes e PRM na Bacia de Santos – Cluster**.

JAKOBSSON, M. & ROSENBERG, N.A. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. **Bioinformatics**, 23(14):1801–1806.

JAMES, G.; WITTEN, D.; HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R. 2013. **An Introduction to Statistical Learning**. Vol. 6. New York, NY: Springer. 426 p.

JEFFERSON, T.A. 2009. Rough-toothed dolphin. In: Perrin, W.F.; Wursig, B.; Thewissen, J.G.M. (Eds.) **Encyclopedia of Marine Mammals**. 2. Ed. San Diego, CA: Academic Press, 990–993.

JEFFERSON, T.A.; WEBBER, M.A.; PITMAN, R.L. 2015. **Marine Mammals of the World.** A Comprehensive Guide to Their Identification. Cambridge: Academic Press, 616 p.

JOHNSON, M. P.; TYACK, P. L. 2003. A digital acoustic recording tag for measuring the response of wild marine mammals to sound. **IEEE Journal of Oceanic Engineering**, 28(1): 3-12.

JONSEN, I.D.; FLEMMING, J.M.; MYERS, R.A. 2005. Robust state-space modelling of animal movement data. **Ecology** 86(11): 2874-2880.

JONSEN, I. D.; MYERS, R. A.; JAMES, M. C. 2007. Identifying leatherback turtle foraging behaviour from satellite telemetry using a switching state-space model. **Marine Ecology Progress Series**, 337: 255-264.

KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L. & MARSHALL, T.C. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, 16(5): 1099-1106.

KANDA, N.; GOTO, M.; KATO, H.; MCPHEE, M.V.; PASTENE, L.A. 2007. Population genetic structure of Bryde's whales (*Balaenoptera brydei*) at the inter-oceanic and trans-equatorial levels. **Conservation Genetics**, 8: 853-864.

KASAMATSU, F.; MATSUOKA, K.; HAKAMADA, T. 2000. Interspecific relationships in density among the Antarctic whale community. **Polar Biology**, 23(7): 466-473.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. 2020. **factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses**. R package version 1.0.7. https://CRAN.R-project.org/package=factoextra

KAWAMURA, A. 1980. A review of food of balaenopterid whales. **Scientific Reports of the Whales Research Institute**, 32: 155–197.

KELLAR, N.M.; TREGO, M.L.; CHIVERS, S.J.; ARCHER, F.I.; MINICH, J.J. & PERRYMAN, W.L. 2013. Are there biases in biopsy sampling? Potential drivers of sex ratio in projectile biopsy samples from two small delphinids. **Marine Mammal Science**, 29(4): E366-E389.

KING, S. L.; GUARINO, E.; DONEGAN, K.; MCMULLEN, C.; JAAKKOLA, K. 2021. Evidence that bottlenose dolphins can communicate with vocal signals to solve a cooperative task. **Real Society Open Science**, 8(3): 202073.

KING, S.L.; JANIK, V.M. 2013. Bottlenose dolphins can use learned vocal labels to address each other. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 110(32): 13216-13221.

KINZEY, D. & GERRODETTE, T. 2001. Conversion factors for binocular reticles. **Marine Mammals Science**, 17(2): 353-361.

KISZKA, J.; BAIRD, R.; BRAULIK, G. 2019. *Steno bredanensis* (errata version published in 2020). **The IUCN Red List of Threatened Species**: e.T20738A178929751.

KLATSKY, L.J.; WELLS, R.S.; SWEENEY, J.C. 2007. Offshore bottlenose dolphins (Tursiops truncatus): movement and dive behavior near the Bermuda Pedestal. **Journal of Mammalogy**, 88(1): 59-66.

KO, F.C.; WE, N.Y.; CHOU, L.S. 2014. Bioaccumulation of persistent organic pollutants in stranded cetaceans from Taiwan coastal waters. **Journal of Hazardous Materials**, 277: 127-133.

LAAKE, J. 2014. **RMark: an R Interface for Analysis of capture-recapture data with MARK**. AFSC Processed Report. 2013-01. 36 p.

LAILSON-BRITO, J.Jr.; OLIVEIRA-FERREIRA, N.; MANHÃES, B.M.R.; BISI, T.L.; SANTOS-NETO, E. 2022. Chemical pollution and franciscana—a review. In: SIMÕES-LOPES, P.C.; CREMER, M.J. (Eds.) **The Franciscana Dolphin: On the Edge of Survival.** Academic Press, Elsevier, London, UK: 235-264.

LALAND, K.N. & JANIK, V.M. 2006. The animal cultures debate. **Trends in Ecology and Evolution**, 21(10): 542-547.

LAVANDIER, R.; ARÊAS, J.; DIAS, P.S.; TANIGUCHI, S.; MONTONE, R.; DE MOURA, J.F.; QUINETE, N.; SICILIANO, S.; MOREIRA, I. 2015. An assessment of PCB and PBDE contamination in two tropical dolphin species from the Southeastern Brazilian coast. **Marine Pollution Bulletin**, 101(2): 947-953.

LAVANDIER, R.; ARÊAS, J.; QUINETE, N.; DE MOURA, J.F.; TANIGUCHI, S.; MONTONE, R.; SICILIANO, S.; MOREIRA, I. 2016. PCB and PBDE levels in a highly threatened dolphin species from the Southeastern Brazilian coast. **Environmental Pollution**, 208: 442-449.

LAW, K.; HALLDORSON, T.; DANELL, R.; STERN, G.; GEWURTZ, S.; ALAEE, M.; MARVIN, C.; WHITTLE, M.; TOMY, G. 2006. Bioaccumulation and trophic transfer of some brominated flame retardants in a Lake Winnipeg

(Canada) food web. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 25(8): 2177-2186.

LAW, R.J., ALLCHIN, C.R., BENNETT, M.E., MORRIS, S., ROGAN, E. 2002. Polybrominated diphenyl ethers in two species of marine top predators from England and Wales. **Chemosphere**, 46(5): 673-681.

LAYMAN, C.A.; ARAUJO, M.S.; BOUCEK, R.; HAMMERSCHLAG-PEYER, C.M.; HARRISON, E.; JUD, Z.R.; MATICH, P.; ROSENBLATT, A.E.; VAUDO, J.J., YEAGER, L.A.; POST, D.M.; BEARHOP, S. 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. **Biological Reviews**, 87(3), 545-562.

LEBERG, P. 2005. Genetic approaches for estimating the effective size of populations. **The Journal of Wildlife Management**, 69(4): 1385-1399.

LEENEY, R.H.; CARSLAKE, D. & ELWEN. S.H. 2011. Using Static Acoustic Monitoring to Describe Echolocation Behaviour of Heaviside's Dolphins (*Cephalorhynchus heavisidii*) in Namibia. **Aquatic Mammals**, 37(2): 151-160.

LERCZAK, J.A. & HOBBS, R.C. 1998. Calculating sighting distances from angular readings during shipboard, aerial, and shore-based marine mammal surveys. **Marine Mammal Science**, 14(3): 590-599.

LIMA, I.S.M; VENUTO, R.; MENCHACA, C.; HOFFMANN, L.S.; DALLA ROSA, L.; GENOVES, R.; FRUET, P.F.; MILANELLI, A.; LAPORTA, P.; TASSINO, B.; BUENO, S.M.; FREITAS, T.R.O.; BITTENCOURT, L.; LAILSON-BRITO, J.Jr; AZEVEDO, A.F. 2020. Geographic variation in the whistles of bottlenose dolphins (Tursiops spp.) in the southwestern Atlantic Ocean. **Marine Mammal Science**, 36(3): 1058-1067.

LOBO, A.J.; WEDEKIN, L.L.; SOBRAL-SOUZA, T.; LE PENDU, Y. 2021. Potential distribution of Guiana dolphin (*Sotalia guianensis*): a coastal-

estuarine and tropical habitat specialist. **Journal of Mammalogy**, 102(1): 308-318.

LOCKYER, C. 1972. The age at sexual maturity of the southern fin whale (*Balaenoptera physalus*) using annual layer counts in the ear plug. **ICES Journal of Marine Science**, 34(2): 276-294.

LOCKYER, C. 1974. Investigation of the ear plug of the southern sei whale, *Balaenoptera borealis*, as a valid means of determining age. **ICES Journal of Marine Science**, 36(1) 71–81.

LODI, L.; FARIAS-JÚNIOR, S. 2011. Movements of a solitary adult male killer whale, Orcinus orca (Cetacea, Delphinidae), along the coast of southeastern Brazil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, 6(4): 325-328.

LODI L.; HETZEL B. 1998a. O golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) no Brasil. **Bioikos**, 12(1): 29 - 45.

LODI, L.; HETZEL, B. 1998b. *Orcinus orca* (Cetacea; Delphinidae) em águas costeiras do Estado do Rio de Janeiro. **Bioikos,** 12(1): 46-54.

LODI, L.; BOROBIA, M. 2013. **Baleias, botos e golfinhos do Brasil: Guia de identificação**. Technical Books. 480 p.

LODI, L.; WEDEKIN, L.L.; ROSSI-SANTOS, M.R.; MARCONDES, M.C. 2008. Movements of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in the Rio de Janeiro state, southeastern Brazil. **Biota Neotropica**, 8(4): 205-209.

LODI, L.; OLIVEIRA, R.H.T.; FIGUEIREDO, L.D.; SIMÃO, S.M. 2012. Movements of the rough-toothed dolphin (*Steno bredanensis*) in Rio de Janeiro State, south-eastern Brazil. **Marine Biodiversity Records**, 5(3): 1-4.

LODI, L.; CANTOR, M.; DAURA-JORGE, F.G.; MONTEIRO-NETO, C. 2014. A missing piece from a bigger puzzle: declining occurrence of a transient

group of bottlenose dolphins off Southeastern Brazil. **Marine Ecology**, 3 (4): 516-527.

LODI, L.; TARDIN, R. 2018. Citizen science contributes to the understanding of the occurrence and distribution of cetaceans in southeastern Brazil–a case study. **Ocean & Coastal Management**, 158: 45-55.

LOGAN, J.M.; JARDINE, T.D.; MILLER, T.J.; BUNN, S.E.; CUNJAK, R.A.; LUTCAVAGE, M.E. 2008. Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses: comparison of chemical extraction and modelling methods. **Journal of Animal Ecology***,* 77(4): 838-846.

LOUIS, M.; VIRICEL, A.; LUCAS, T.; PELTIER, H.; ALFONSI, E.; BERROW, S. & STEPHANIS, R. 2014. Habitat-driven population structure of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, in the North-East Atlantic. **Molecular Ecology**, 23(4): 857-874.

LOURENÇO, R.A., TANIGUCHI, S., DA SILVA, J., GALLOTTA, F.D.C., BÍCEGO, M.C. 2021. Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine mammals: A review and synthesis. **Marine Pollution Bulletin***,* 171: 112699.

MAGALHÃES, C.A.; TANIGUCHI, S.; LOURENÇO, R.A.; MONTONE, R.C. 2017. Organochlorine pesticides, PCBs, and PBDEs in liver and muscle tissues of Paralonchurus brasiliensis, Trichiurus lepturus and Cathorops spixii in Santos Bay and surrounding area, São Paulo, Brazil. **Regional Studies in Marine Science***,* 16: 42-48.

MARICATO, G.; PIRES, A.L.; TARDIN, R.H.; MOREIRA, S.C.; ALVES, M.A.S.; MACIEL, I.S. 2022. Traveling at night: the first record of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) wake riding during the nighttime. **Aquatic Mammals**, 48(6): 501-504

MARQUES, F.F.C. & BUCKLAND, S.T. 2003. Incorporating covariates in standard line transect analysis. **Biometrics**, 59(4): 924-935.

MARTIEN, K.K.; HILL, M.C.; VAN CISE, A.M.; ROBERTSON, K.M.; WOODMAN, S.M.; DOLLAR L.; PEASE, V.L. & OLESON, E.M. 2014. Genetic Diversity and Populations structure in four species of cetaceans around the Mariana Islands. La Jolla, CA. **NOAA Technical Memorandum NMFS**; Report No.: SWFSC-536.

MARTINS, A.C.; KINAS, P.G.; WEDEKIN, L.L.; DALLA-ROSA, L. 2023. Spatial and seasonal patterns of cetacean species richness: A Bayesian approach. **Deep-Sea Research Part I**, 193: 104046.

MARTINS, A.M.A.; ALVES-JÚNIOR, T.T.; FURTADO-NETO, M.A.A.; LIEN, J. 2004. The most northern record of Gervais' beaked whale, *Mesoplodon europaeus* (Gervais, 1855), for the southern hemisphere. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, 3(2): 151-155.

MAY-COLLADO, L.J.; AGNARSSON, I. & WARTZOK, D. 2007. Phylogenetic review of tonal sound production in whales in relation to sociality. **BMC Evolutionary Biology**, 7: 136.

MCCULLOUGH, J.L.; SIMONIS, A.E.; SAKAI, T.; OLESON, E.M. 2021. Acoustic classification of false killer whales in the Hawaiian Islands based on comprehensive vocal repertoire. **JASA Express Letters**, 1(7): 071201.

MCDONALD, M.A.; HILDEBRAND, J.A.; WIGGINS, S.M.; THIELE, D.; GLASGOW, D.; MOORE, S.E. 2005. Sei whale sounds recorded in the Antarctic. **The Journal of the Acoustical Society of America**, 118(6): 3941-3945.

MCFADDEN, G. 2005. Poxvirus tropism. **Nature Reviews Microbiology**, 3(3): 201-213.

MEADOR, J.P. 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons. In: JØRGENSEN, S.V.; FATH, B.D. (Eds) **Encyclopedia of Ecology**. Academic Press: 2881-2891.

MEADOR, J.P.; STEIN, J.E.; REICHERT, W.L.; VARANASI, U. 1995. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons. In*:* Ware, G.W. (ed.) **Reviews of environmental contamination and toxicology**. Berlin: Springer: 79-166.

MENG, X.Z.; BLASIUS, M.E.; GOSSETT, R.W.; MARUYA, K.A. 2009. Polybrominated diphenyl ethers in pinnipeds stranded along the southern California coast. **Environmental Pollution***,* 157(10): 2731-2736.

MILLER, P.J.O.; SHAPIRO, A. D.; DEECKE, V. B. 2010. The diving behaviour of mammal-eating killer whales (*Orcinus orca*): variations with ecological not physiological factors. **Canadian Journal of Zoology**, 88: 1103-1112.

MILMANN, L. 2020. **Padrões de ocorrência, estrutura populacional e análise de nicho isotópico de três espécies de *Balaenoptera* no sudoeste do Atlântico: *B. acutorostrata, B. bonaerensis* E *B. brydei.*** Tese de doutorado do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Estadual de Santa Cruz. 198 p.

MIRIMIN, L.; WESTGATE, A.; ROGAN, E.; ROSEL, P.; READ, A.; COUGHLAN, J. & CROSS, T. 2009. Population structure of short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*) in the North Atlantic Ocean as revealed by mitochondrial and nuclear genetic markers. **Marine Biology**, 156: 821-834.

MIZROCH, S.A.; RICE, D.W.; BREIWICK, J.M. 1984a. The blue whale, Balaenoptera musculus. **Marine Fisheries Review**, 46(4): 15–19.

MIZROCH, S.A.; RICE, D.W.; BREIWICK, J.M. 1984b. The fin whale, Balaenoptera physalus. **Marine Fisheries Review**, 46(4): 20-24.

MMA. 2022. **Portaria MMA N°148, de 7 de junho de 2022**. Anexo 2. Ministério do Meio Ambiente, Brasília-DF.

MOORS-MURPHY, H. B. 2014. Submarine canyons as important habitat for cetaceans, with special reference to the Gully: a review. **Deep-Sea Research II**, 104: 6-19.MORAIS, I.O.B.; DANILEWICZ, D.; ZERBINI, N.A.; BORTOLOTTO, G.A. 2017. From the southern right whale hunting decline to the humpback whaling expansion: a review of whale catch records in the tropical western South Atlantic Ocean**. Mammal Review,** 47(1): 11-23.

MORENO, I.B.; ZERBINI, A.N.; DANILEWICZ, D.; DE OLIVEIRA SANTOS, M.C.; SIMÕES-LOPES, P.C.; LAILSON-BRITO JR, J.; AZEVEDO, A.F. 2005. Distribution and habitat characteristics of dolphins of the genus Stenella (Cetacea: Delphinidae) in the southwest Atlantic Ocean. **Marine Ecology Progress Series**, 300: 229-240.

MORETE, M.E.; BISI, T.L.; ROSSO, S. 2007. Temporal pattern of humpback whale (*Megaptera novaeangliae)* group structure around Abrolhos Archipelago breeding region, Bahia, Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 87(1): 87-92.

MORISAKA, T. 2012. Evolution of communication sounds in odontocetes: a review. **International Journal of Comparative Psychology**, 25: 1-20.

MOSSBRIDGE, J.A. & THOMAS, J.A. 1999. An “acoustic niche” for antarctic killer whale and leopard seal sounds 1. **Marine Mammal Science**, 15(4): 1351-1357.

MUENHOR, D.; HARRAD, S.; ALI, N.; COVACI, A. 2010. Brominated flame retardants (BFRs) in air and dust from electronic waste storage facilities in Thailand. **Environment International***,* 36(7): 690-698.

NAKATA, H.; SAKAI, Y.; MIYAWAKI, T.; TAKEMURA, A. 2003. Bioaccumulation and toxic potencies of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in tidal flat and coastal ecosystems of

the Ariake Sea, Japan. **Environmental Science and Technology**, 37(16): 3513-3521.

NATOLI, A.; CAÑADAS, A.; PEDDEMORS, V.M.; AGUILAR, A.; VAQUERO, C.; FERNANDEZ-PIQUERAS, P.; & HOELZEL, A.R. 2006. Phylogeography and alpha taxonomy of the common dolphin (*Delphinus sp*.). **Journal of Evolutionary Biology**, 19(3): 943-954.

NAWOJCHIK, R.; AUBIN, D.J.ST.; JOHNSON, A. 2003. Movements and dive behavior of two stranded, rehabilitated long-finned pilot whales (*Globicephala melas*) in the northwest Atlantic. **Marine Mammal Science**, 19(1): 232-239.

NEFF, J.M. 2002. **Bioaccumulation in marine organisms: effects of contaminants from oil well produced water**. Amsterdam: Elsevier, 453p.

NEWSOME, S.D.; CLEMENTZ, M.T.; KOCH, P.L. 2010. Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. **Marine Mammal Science**, 26(3): 509-572.

NOWACEK, D.P.; JOHNSON, M.P.; TYACK, P.L.; SHORTER, K.A.; MCLELLAN, W.A.; PABST, A. 2001. Buoyant balaenids: the ups and downs of buoyancy in right whales. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, 268(1478): 1811-1816.

NRC. 2005. **Marine mammal populations and ocean noise: determining when noise causes biologically significant effects**. National Academies Press, Washington DC, 142p.

ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J.P. 2001. The convergence ecosystem in the Southwest Atlantic. In: SEELIGER, U.; KJERFVE, B. (Eds.) **Coastal Marine Ecosystems of Latin America. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)**, v. 144. Springer: Berlin: 147-165.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F.G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P.R.; O'HARA, R.B.; SIMPSON, G.L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M.H.; SZOECS, E.; WAGNER, H. 2020. **vegan: Community Ecology Package**. R package version 2.5-7. https://CRAN.R-project.org/package=vegan

OLAVARRÍA, C.; BAKER, C.S.; GARRIGUE, C.; POOLE, M.; HAUSER, N.; CABALLERO, S.; CLAPHAM, P.; FLÓREZ-GONZALEZ, L.; BRASSEUR, M.; BANNISTER, J.; CAPELLA, J.; CLAPAPHAM, P.; DODEMONT, R; DONOGHUE, R.; JENNER, C.; MOJENNER, D. 2007. Population structure of humpback whales throughout the South Pacific and the origin of the eastern Polynesian breeding grounds. **Marine Ecology Progress Series**, 330(25): 257–268.

OLAVARRÍA, C.; BAKER, C.S. & TEZANOS-PINTO, G. 2013. Low mtDNA genetic diversity among killer whales around New Zealand. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, 48(1): 147-153.

OLIVEIRA, L.R.; FRAGA, L.D.; OTT, P.H.; SICILIANO, S.; LOPES, F.; ALMEIDA, R.; WICKERT, J.C.; MILMANN, L.; DANILEWICZ, D.; EMIN-LIMA, N.R.; MEIRELLES, A.C.; LUZ, V.; DO NASCIMENTO, L.F.; DE THOISY, B.; TAVARES, M.; ZERBINI, A.N.; BAUMGARTEN, M.; VALIATI, V.H. & BONATTO, S.L. 2019. Population structure, phylogeography, and genetic diversity of the common bottlenose dolphin in the tropical and subtropical southwestern Atlantic Ocean. **Journal of Mammology, 100(2): 564-577**.

OLSEN, E.; BUDGELL, W.P.; HEAD, E.; KLEIVANE, L.; NØTTESTAD, L.; PRIETO, R.; SILVA, M.A.; SKOV, H.; VÍKINGSSON, G.A.; WARING, G.; ØIEN, N. 2009. First Satellite-Tracked Long-Distance Movement of a Sei Whale (*Balaenoptera borealis*) in the North Atlantic. **Aquatic Mammals**, 35: 313-318.

OLSON, P. A. 2018. Pilot Whales, Globicephala melas and G. macrorhynchus. In: WÜRSIG, B., THEWISSEN, J. G. M. AND KOVACS, K. M. (Eds), **Encyclopedia of Marine Mammals Third Edition**, San Diego, California: Elsevier: 701-705.

OREMUS, M.; POOLE, M.M.; STEEL, D. & BAKER, C.S. 2007. Isolation and interchange among insular spinner dolphin communities in the South Pacific revealed by individual identification and genetic diversity. **Marine Ecology Progress Series**, 336: 275-289.

OREMUS, M.; GALES, R.; DALEBOUT, M.L.; FUNAHASHI, N.; ENDO, T.; KAGE, T., STEEL, D. & BAKER, C.S. 2009. Worldwide mitochondrial DNA diversity and phylogeography of pilot whales (*Globicephala spp*.). **Biological Journal of the Linnean Society**, 98(4): 729-744.

OREMUS, M.; POOLE, M.M.; ALBERTSON, G. R. & BAKER, C. S. 2012. Pelagic or insular? Genetic differentiation of rough-toothed dolphins in the Society Islands, French Polynesia. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 432–433: 37–46.

OSWALD, J.N.; BARLOW, J.; NORRIS, T.F. 2003. Acoustic identification of nine delphinid species in the eastern tropical Pacific Ocean. **Marine Mammal Science**, 19(1): 20-37.

OSWALD, J.N.; RANKIN, S.; BARLOW, J.; LAMMERS, M.O. 2007. A tool for real-time acoustic species identification of delphinid whistles. **Journal of the Acoustic Society of America**, 122(1): 587-595.

OSWALD, J.N.; S. RANKIN; J. BARLOW & OSWALD M. 2013. Real-time odontocete call classification algorithm: Software for species identification of delphinid whistles. In: ADAM, O.; SAMARAN, F. (Eds). **Detection, classification, and localization of marine mammals using passive acoustics, 2003–2013: 10 years of international research**. DIRAC NGO, Paris, France: 245-266.

OWEN, K.; DUNLOP, R.A.; MONTY, J.P.; CHUNG, D.; NOAD, M.J.; DONNELLY, D.; GOLDIZEN, A.W.; MACKENZIE, T. 2016. Detecting surface-feeding behavior by rorqual whales in accelerometer data. **Marine Mammal Science**, 32(1): 327-348.

PALMA, E.D.; MATANO, R.P. 2009. Disentangling the upwelling mechanisms of the South Brazil Bight. **Continental Shelf Research**, 29: 1525-1534.

PARKS, S.E.; WARREN, J.D.; STAMIESZKIN, K.; MAIO, C.A. & WILEY, D. 2012. Dangerous dining: surface foraging of North Atlantic right whales increases risk of vessel collisions. **Biology Letters,** 8(1): 57–60.

PARENTE, C.L.; ARAUJO, M.E. 2012. A aquisição sísmica marítima no Brasil e seus potenciais efeitos na ordem Cetacea. **Natural Resources**, 2(1): 68-82.

PASTENE, L.; ACEVEDO, J.; SICILIANO, S.; SHOLL, T.G.C.; DE MOURA, J.F.; OTT, P.H; AGUAYO-LOBO, A. 2015. Population genetic structure of the South American Bryde's whale. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, 50(3):453-464.

PAYNE, R.S.; MCVAY, S. 1971. Songs of humpback whales. **Science**, 173(3997): 585–597.

PAYNE, K.; PAYNE, R. 1985. Large scale changes over 19 years in songs of humpback whales in Bermuda, **Zeitschrift fur Tierpsychologie**, 68(2): 89–114.

PAYNE, R. 1986. Long-term behavioral studies of the southern right whale (*Eubalaena australis*). **Report of the International Whaling Commission**, Special Issue 10: 161–167.

PAYNE, R.; ROWNTREE, V.; PERKINS, J.S.; COOKE, J.G.; LANKESTER, K. 1990. Population size, trends and reproductive parameters of right whales (*Eubalaena australis*) off Peninsula Valdes, Argentina. **Report of the International Whaling Commission,** 12: 271-8.

PEDREGOSA, F.; VAROQUAUX, G.; GRAMFORT, A.; MICHEL, V.; THIRION, B.; GRISEL, O.; BLONDEL, M.; PRETTENHOFER, P.; WEISS, R.; DUBOURG, V.; VANDERPLAS, J.; PASSOS, A.; COURNAPEAU, D.; BRUCHER, M.; PERROT, M. & DUCHESNAY, É. 2011. Scikit-learn: Machine learning in Python. **Journal of Machine Learning Research**, 12: 2825-2830.

PENTEADO, J.C.P., VAZ, J.M. 2001. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova**, 24(3): 390-398.

PEREIRA, L.B.; BOTTA, S.; TEIXEIRA, C.R.; FRUET, P.; SIMÕES-LOPES, P.C.; DAURA-JORGE, F.G. 2020. Feeding ecology of two subspecies of bottlenose dolphin: a tooth tale. **Aquatic Ecology**, 54: 941-955.

PÉREZ-ALVAREZ, M.J.; OLAVARRÍA, C.; MORAGA, R.; BAKER, C.S.; HAMNER, R.M. & POULIN, E. 2015. Microsatellite markers reveal strong genetic structure in the endemic Chilean dolphin. **PLoS One**, 10(4): e0123956.

PERRIN, W.F. 2009. Common dolphins: *Delphinus delphis* and *D. capensis*. In: PERRIN, W.F.; WURSIG, B. (Eds) **Encyclopedia of marine mammals**. San Diego, CA: Academic Press: 255-259.

PETROBRAS. 2015. Projeto Executivo. **Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS)**. Elaborado pela SOCIOAMBIENTAL Consultores Associados para a PETROBRAS. Florianópolis-SC. Disponível em: <https://comunicabaciadesantos.petrobras.com.br/sites/default/files/Projeto_executivo_Projeto_de_monitoramento_de_cetaceos.pdf>

PETROBRAS. 2019. 4° Relatório Anual – Ciclos 1 a 8. **Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS)**. Relatório técnico elaborado pela SOCIOAMBIENTAL Consultores Associados para a PETROBRAS. Florianópolis-SC.

PETROBRAS. 2020a. 5° Relatório Anual – Ciclos 1 a 10. **Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS)**. Relatório técnico elaborado pela SOCIOAMBIENTAL Consultores Associados para a PETROBRAS. Florianópolis-SC.

PETROBRAS. 2020b. Projeto Executivo (Ciclo de Médio Prazo): **Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS).** Elaborado pela SOCIOAMBIENTAL Consultores Associados para a PETROBRAS. Florianópolis-SC. Disponível em: <https://comunicabaciadesantos.petrobras.com.br/sites/default/files/PE_PMC-BS_rev01_Medio_Prazo_29-12-2020.pdf>

PETROBRAS. 2021. Relatório Consolidado 1 – Ano 6. **Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos PMC-BS**. Volume 1: Apresentação e Discussão de Resultados Orientados aos Objetivos. Disponível em https://comunicabaciadesantos.petrobras.com.br/sites/default/files/RC-01_Vol-I_PMC_Rev00_FINAL.pdf.

PETROBRAS. 2023a. 7° Relatório Anual. **Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS)**. Relatório técnico elaborado pela SOCIOAMBIENTAL Consultores Associados para a PETROBRAS. Florianópolis-SC.

PETROBRAS. 2023b. Relatório Técnico Anual Integrado (2022) – Volume 1. **Projeto de Monitoramento de Praias da Bacia de Santos (PMP-BS)**. Relatório técnico elaborado pela UNIVALI / Mineral / Econservation / USP / UNESP / PETROBRAS. Itajaí-SC.

PHILLIPS, S.J.; ANDERSON, R.P.; SCHAPIRE, R.E. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. **Ecological modelling**, 190(3-4): 231-259.

PHILLIPS, S.J.; DUDÍK, M.; SCHAPIRE, R.E. 2020. **Maxent software for modeling species niches and distributions** (Version 3.4.1). Disponível em: https://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/. Acesso em: 12 out. 2023.

PIJANOWSKI, B.C.; VILLANUEVA-RIVERA, L.J.; DUMYAHN, S.L.; FARINA, A.; KRAUSE, B.L.; NAPOLETANO, B.M.; GAGE, S.H.; PIERETTI, N. 2011 Soundscape ecology: the science of sound in the landscape. **Bioscience**, 61(3): 203–216.

PIOLA, A.R.; MATANO, R.P.; PALMA, E.D.; MÖLLER JR.; O.O.; CAMPOS, E.J.D. 2005. The influence of the Plata River discharge on the western South Atlantic shelf. **Geophysical Research Letters**, 32: L01603.

PIRY, S.; LUIKART, G. & CORNUET, J-M. 1999. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. **Journal of Heredity**, 90(4): 502–503.

PLUMMER, M. 2003. JAGS: A program for analysis of Bayesian graphical models using Gibbs sampling. IN: HORNIK, K.; LEISCH, F. & A ZEILES, A. (Eds.). **Proceedings of the 3rd International Workshop on distributed statistical computing**. Technische Universitat Wien: Viena, Austria.

POST, D.M.; LAYMAN, C.A.; ARRINGTON, D.A.; TAKIMOTO, G.; QUATTROCHI, J.; MONTAÑA, C.G. 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. **Oecologia**, 152(1): 179-189.

PROTHERO, D.R.; DOMNING, D., FORDYCE, R.E. *et al*. 2022. On the Unnecessary and Misleading Taxon “Cetartiodactyla”. **Journal of Mammalian Evolution**, 29: 93-97.

PRIETO, R.; SILVA, M.A.; WARING, G.T. 2014. Sei whale movements and behavior in the North Atlantic inferred from satellite telemetry. **Endangered Species Research**, 26: 103-113.

QUÉROUIL, S.; SILVA, M.A.; FREITAS, L.; PRIETO, R.; MAGALHÃES, S.; DINIS, A.; ALVES, F.; MATOS, J.A.; MENDONÇA, D.; HAMMOND P.S.; SANTOS, R.S. 2007. High gene flow in oceanic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) of the North Atlantic. **Conservation Genetics**, 8(6): 1405-1419.

QUÉROUIL, S.; FREITAS, L.; CASCÃO, I.; ALVES, F.; DINIS, A.; ALMEIDA, J.R.; PIETRO R.; Borras, S.; MATOS, J.A.; MENDONÇA, D.; SANTOS, R.S. 2010a. Molecular insight into the population structure of common and spotted dolphins inhabiting the pelagic waters of the Northeast Atlantic. **Marine biology**, 157(11): 2567-2580.

QUÉROUIL, S.; FREITAS, L.; DINIS, A.; ALVES, F.; CASCÃO, I.; PRIETO, R.; SILVA, M.A.; MAGALHÃES, S.; MATOS, J.A & SANTOS, R.S. 2010b. Sex bias in biopsy samples collected from free-ranging dolphins. **European Journal of Wildlife Research**, 56: 151-158.

QUÉROUIL, S.; KISZKA, J.; CORDEIRO, A.R.; CASCÃO, I.; FREITAS, L.; DINIS, A.; ALVES, F.; SANTOS, R.S.; BANDARRA, N.M. 2013. Investigating stock structure and trophic relationships among island-associated dolphins in the oceanic waters of the North Atlantic using fatty acid and stable isotope analyses. **Marine Biology**, 160(6): 1325-1337.

QUICK, N.J.; ISOJUNNO, S.; SADYKOVA, D.; BOWERS, M.; NOWACEK, D. P.; READ, A.J. 2017. Hidden Markov models reveal complexity in the diving behavior of short-finned pilot whales. **Scientific Reports**, 7(1): 45765.

R CORE TEAM. 2023. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 30 jun. 2023.

RANKIN, S. & BARLOW, J. 2007. Vocalizations of the sei whale Balaenoptera borealis off the Hawaiian Islands. **Bioacoustics**, 16(2): 137-145.

RANKIN, S.; ARCHER, F.; KEATING, J.L.; OSWALD, J.N.; OSWALD, M.; CURTIS, A.; BARLOW, J. 2017. Acoustic classification of dolphins in the California Current using whistles, echolocation clicks, and burst pulses. **Marine Mammal Science**, 33(2): 520-540.

RECALDE-SALAS, A.; ERBE, C.; SALGADO KENT, C.; PARSONS, M. 2020. Non-song socializations of humpback whales in Western Australia. **Frontiers of Marine Science**, 7: 141.

REEVES, R.; PITMAN, R.L.; FORD, J.K.B. 2017. Orcinus orca. **The IUCN Red List of Threatened Species**: e.T15421A50368125.

REISINGER, R.R.; KEITH, M.; ANDREWS, R.D.; BRUYN, P.J.N. 2015. Movement and diving of killer whales (*Orcinus orca*) at a Southern Ocean archipelago. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 473: 90-102.

RENAULT-BRAGA, E.P.; GROCH, K.R. & SIMÕES-LOPES, P.C. 2021. Is there spatial segregation between reproductive groups of southern right whales along the coastline of southern Brazil? **Marine Mammal Science**, 37(3): 1008-1021.

RENAULT-BRAGA, E.P.; GROCH, K.R. & SIMÕES-LOPES, P.C. 2022. Predicting the breeding hotspots of the southern right whale, *Eubalaena australis* (Cetartiodactyla: Mysticeti), along the southern Brazilian coastline. **Scientia Marina** 86(2): e031.

RENAULT-BRAGA, E.P.; GROCH, K.R. & SIMÕES-LOPES, P.C. 2023. How many are they? Estimates of demographic patterns of reproductive

females of southern right whale (Eubalaena australis) in the southern coast of Brazil. **Marine Ecology**, 44(2): e12744.

RENDELL, L.E.; MATTHEWS, J.N.; GILL, A.; GORDON, J.C.D; MACDONALD, D.W. 1999. Quantitative analysis of tonal calls from five odontocete species, examining interspecific and intraspecific variation. **Journal of Zoology**, 249(4): 403-410.

RICE, D.W. 1989. Sperm whale *Physeter macrocephalus* Linnaeus, 1758. **Handbook of marine mammals**, 4**:** 177-233.

RICHARDSON, W.J.; GREENE JR, C.R.; MALME, C.I. & THOMSON, D.H. 1995. **Marine mammals and noise**. San Diego: Academic Press, San Diego.

RIVERA-LEÓN, V.E.; URBÁN, J.; MIZROCH, S.; BROWNELL JR, R.L.; OOSTING, T.; HAO, W. & BÉRUBÉ, M. 2019. Long-term isolation at a low effective population size greatly reduced genetic diversity in Gulf of California fin whales. **Scientific Reports**, 9: 12391.

ROSEL, P.E.; DIZON, A.E. & HEYNING, J.E. 1994. Genetic analysis of sympatric morphotypes of common dolphins (genus *Delphinus*). **Marine Biology**, 119: 159-167.

ROSENBERG, N.A. 2004. DISTRUCT: A program for the graphical display of population structure. **Molecular Ecology Notes**, 4(1):137–138.

ROSS, H.A.; LENTO, G.M.; DALEBOUT, M.L.; GOODE, M.; EWING, G.; MCLAREN, P.; RODRIGO, A.G.; LAVERY, S.; BAKER, C.S. 2003 DNA Surveillance: Web-Based Molecular Identification of Whales, Dolphins, and Porpoises. **Journal of Heredity**, 94(2): 111-114.

ROSSI-SANTOS, M.R.; WEDEKIN, L.L.; SOUSA-LIMA, R.S. 2006. Distribution and habitat use of small cetaceans in the coast of the Abrolhos Bank, eastern Brazil. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, 5(1): 23-28.

ROSSI-SANTOS, M.R.; BARACHO, C.; CIPOLOTTI, S.; MARCOVALDI, E. 2007. Cetacean sightings near South Georgia islands, south Atlantic Ocean**. Polar Biology**, 31(1): 63.

ROSSI-SANTOS, M.R.; FILUN, D.; SOARES-FILHO, W.; PARO, A.D.; WEDEKIN, L.L. 2022. “Playing the beat”: Occurrence of Bio-duck calls in Santos Basin (Brazil) reveals a complex acoustic behaviour for the Antarctic minke whale (*Balaenoptera bonaerensis*). **PLoS ONE**, 17(9): e0255868.

ROZAS, J.; FERRER-MATA, A.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J.C.; GUIRAO-RICO, S.; LIBRADO, P.; RAMOS-ONSINS, S.E. & SÁNCHEZ-GRACIA, A. 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. **Molecular Biology Evolution**, 34(12): 3299-3302.

SANGANYADO, E.; RAJPUT, I.R.; LIU, W. 2018. Bioaccumulation of organic pollutants in Indo-Pacific humpback dolphin: A review on current knowledge and future prospects. **Environmental Pollution**, 237: 111-125.

SANTOS, M.C.O.; CAMPIROLLI, E.; CASTRO, A.F.V.; ALVARENGA, F.S. 2003. A Gervais’ beaked Whale (*Mesoplodon europaeus*) washed ashore in southeastern Brazil: extra limital record? **Aquatic Mammals**, 29(3): 404-410.

SANTOS, M.C.O.; SICILIANO, S.; VICENTE, A.F.D.C.; ALVARENGA, F.S.; ZAMPIROLLI, E.; SOUZA, S.P.D.; MARANHO, A. 2010. Cetacean records along São Paulo state coast, southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, 58(2): 123-142.

SAYIGH, L.S.; EL HADDAD, N.; TYACK, P.L.; JANIK, V.M.; WELLS, R.S.; JENSEN, F.H. 2023. Bottlenose dolphin mothers modify signature whistles in the presence of their own calves. **Psychological and Cognitive Sciences**, 120(27): e2300262120.

SBROCCO, E.J.; BARBER, P.H. 2013. Marspec: ocean climate layers for marine spatial ecology: Ecological Archives E094-086. **Ecology**, 94(4): 979-979.

SCHWARZ, C.J. & ARNASON, A.N. 2009. Jolly-Seber models in MARK. In: COOCH, E. & WHITE, G. (Eds.) **MARK: a gentle introduction Program**, 8th ed. Disponível em: http://www.phidot.org/software/mark/docs/book.

SCHMITT, N.T.; DOUBLE, M.C.; JARMAN, S.N.; GALES, N.; MARTHICK, J.R.; POLANOWSKI, A.M.; BAKER, C.S.; STEEL D. 2014. Low levels of genetic differentiation characterize Australian humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) populations. **Marine Mammal Science**, 30(1): 221–241.

SECCHI, E.R.; VASKE JR., T. 1998. Killer whale (Orcinus orca) sightings and depredation on tuna and swordfish longline catches in southern Brazil. **Aquatic Mammals**, 24(2): 117-122.

SECCHI, E.R.; ZERBINI, A.N.; BASSOI, M.; DALLA ROSA, L.; MÖLLER, L.M.; ROCHA-CAMPOS, C.C. 1997. Mortality of franciscanas, *Pontoporia blainvillei*, in coastal gillnetting in southern Brazil: 1994-1995. **Reports of the International Whaling Commission**, 47: 653–658.

SECCHI, E. R.; MONTEIRO, D., & CLAUDINO, R. 2022. Is the franciscana bycatch in gillnet fisheries sustainable? In: SIMÕES-LOPES, P.C.; CREMER, M.J. (Eds.). **The Franciscana Dolphin: On the Edge of Survival.** Academic Press, Elsevier, London, UK: 201-234.

SEPÚLVEDA, M.; PÉREZ-ÁLVAREZ, M.J.; SANTOS-CARVALLO, M.; PAVEZ, G.; OLAVARRÍA, C.; MORAGA, R.; ZERBINI, A. N. 2018. From whaling to whale watching: Identifying fin whale critical foraging habitats off the Chilean coast. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, 28(4): 821-829.

SHABANGU, F. W.; FINDLAY, K.; STAFFORD, K. M. 2020. Seasonal acoustic occurrence, diel-vocalizing patterns and bioduck call-type composition of Antarctic minke whales off the west coast of South Africa and the Maud Rise, Antarctica. **Marine Mammal Science,** 36(2): 658–675.

SHILLING, M. R.; SEIPT, I.; WEINRICH, M. T.; FROHOCK, S. R.; KUHLBERG, A. E.; CLAPHAM, P. J. 1992. Behavior of individually identified sei whales, Balaenoptera borealis, during episodic influx into the Southern Gulf of Maine in 1986**. Fishery Bulletin**. 90(4): 749-755.

SHIPLEY, O.N.; MATICH, P. 2020. Studying animal niches using bulk stable isotope ratios: an updated synthesis. **Oecologia***,* 193(1): 27-51.

SHOHAM-FRIDER, E.; KRESS, N.; WYNNE, D.; SCHEININ, A.; RODITI-ELSAR, M.; KEREM, D. 2009. Persistent organochlorine pollutants and heavy metals in tissues of common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) from the Levantine Basin of the Eastern Mediterranean. **Chemosphere***,* 77(5): 621-627.

SICILIANO, S.; LAILSON-BRITO, J.; AZEVEDO, A. 1999. Seasonal occurrence of killer whales (Orcinus orca) of Rio de Janeiro, Brazil. **Zeitschrift fur Saugetierkunde**, 64(4): 251-255.

SILVA-JR, J.M. 1996. **Aspectos do comportamento do golfinho-rotador, *Stenella longirostris* (Gray, 1828), no Arquipélago de Fernando de Noronha**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco.

SILVEIRA, I. C. A.; SCHMIDT, A. C. K.; CAMPOS, E. J. D.; GODOI, S. S.; IKEDA, Y. 2000. A corrente do Brasil ao largo da costa leste brasileira. **Revista Brasileira de Oceanografia**, 48(2): 171-183.

SIMÕES-LOPES, P.C.; FABIAN, M.E. 1999. Residence patterns and site fidelity in bottlenose dolphins, Tursiops truncatus (Montagu) (Cetacea,

Delphinidae) off Southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 16(4): 1017-1024.

SIMÕES-LOPES, P.C.; DAURA-JORGE, F.G.; LODI, L.; BEZAMAT, C.; COSTA, A.P.B. & WEDEKIN, L.L. 2019. Bottlenose dolphin ecotypes of the western South Atlantic: the puzzle of habitats, coloration patterns and dorsal fin shapes. **Aquatic Biology**, 28: 101-111.

SIMÕES-LOPES, P.C.; DAURA-JORGE, F.G.; LODI, L.; BEZAMAT, C.; COSTA, A.P.; WEDEKIN, L.L. 2019. Bottlenose dolphin ecotypes of the western South Atlantic: the puzzle of habitats, coloration patterns and dorsal fin shapes. **Aquatic Biology**, 28: 101-111.

SOUTO, L.R.A.; OLIVEIRA, J.G.A.; DA COSTA, J.D.A.C.; MAIA-NOGUEIRA, R., SAMPAIO, C.L., 2007. Análise das mordidas de tubarões-charuto, Isistius spp. (Squaliformes: Dalatiidae) em cetáceos (Mammalia: Cetacea) no litoral da Bahia, Nordeste do Brasil. **Biotemas**, 20(1): pp.19-25.

STEINER, W.W. 1981. Species-specific differences in pure tonal whistle vocalizations of five western North Atlantic dolphin species. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 9: 241-246.

STIMMELMAYR, R.; YLITALO, G.M.; SHEFFIELD, G.; BECKMEN, K.B.; BUREK-HUNTINGTON, K.A.; METCALF, V.; ROWLES, T. 2018. Oil fouling in three subsistence-harvested ringed (Phoca hispida) and spotted seals (Phoca largha) from the Bering Strait region, Alaska: Polycyclic aromatic hydrocarbon bile and tissue levels and pathological findings. **Marine Pollution Bulletin**, 130: 311-323.

STIMPERT, A.K.; WILEY, D.N.; AU, W.W.L.; JOHNSON, M.P.; ARSENAULT, R. 2007. Megapclicks: acoustic click trains and buzzes produced during night-time foraging of humpback whales (Megaptera novaeangliae). **Biology Letters**, 3(5): 467-470.

STOCKIN, K.A.; LAW, R.J.; DUIGNAN, P.J.; JONES, G.W.; PORTER, L.; MIRIMIN, L.; MEYNIER, L.; ORAMS, M.B. 2007. Trace elements, PCBs and organochlorine pesticides in New Zealand common dolphins (Delphinus sp.). **Science of The Total Environment**, 387(1-3): 333-345.

STOCKIN, K.A.; AMARAL, A.R.; LATIMER, J.; LAMBERT, D.M.; NATOLI, A. 2014. Population genetic structure and taxonomy of the common dolphin (*Delphinus sp*.) at its southernmost range limit: New Zealand waters. **Marine Mammal Science**, 30(1): 44-63.

SUN, X.; NG, C.A.; SMALL, M.J. 2018. Modeling the impact of biota on polychlorinated biphenyls (PCBs) fate and transport in Lake Ontario using a population-based multi-compartment fugacity approach. **Environmental Pollution**, 241: 720-729.

SUN, X.; ZHAN, F.; YU, R.Q.; CHEN, L.; WU, Y. 2020. Bio-accumulation of organic contaminants in Indo-Pacific humpback dolphins: Preliminary unique features of the brain and testes. **Environmental Pollution**, 267: 115511.

TAGUCHI, M.; GOTO, M.; MATSUOKA, K.; TIEDEMANN, R. & PASTENE, L.A. 2022. Population genetic structure of Bryde's whales (*Balaenoptera brydei*) on the central and western North Pacific feeding grounds. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 80(1): 142-155.

TAKEZAKI, N.; NEI, M. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. Genetics, 144**:** 389–399.

TALLMON, D.A.; GREGOVICH, D.; WAPLES, R.S.; BAKER, C.S.; JACKSON, J.; TAYLOR, B. L.; ARCHER, E.; MARTIEN, K.K.; ALLENDORF, F.W. & SCHWARTZ, M.K. 2010. When are genetic methods useful for estimating contemporary abundance and detecting population trends? **Molecular Ecology Resources**, 10(4): 684-692.

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

TAVARES, M.; MORENO, I.B.; SICILIANO, S.; RODRIGUEZ, D.; SANTOS, M.C.O.; LAILSON-BRITO, J.; FABIAN, M.E. 2010. Biogeography of common dolphins (genus *Delphinus*) in the Southwestern Atlantic Ocean. **Mammal Review**, 40(1): 40-64.

TEIXEIRA, C.R.; TROINA, G.C.; DAURA-JORGE, F.G.; SIMÕES-LOPES, P.C.; BOTTA, S. 2022. A practical guide on stable isotope analysis for cetacean research. **Marine Mammal Science**, 38(3): 1200-1228.

THOMAS, L.; BUCKLAND, S.T.; REXSTAD, E.A.; LAAKE, J.L.; STRINDBERG, S.; HEDLEY, S.L.; BISHOP, J.R.B.; MARQUES, T.A.; BURNHAM, K.P. 2010. Distance software: design and analysis of distance sampling surveys for estimating population size. **Journal of Applied Ecology**, 47(1): 5-14.

THOMSEN, F.; FRANCK, D.; FORD, J.K. 2002. On the communicative significance of whistles in wild killer whales (*Orcinus orca*). **Naturwissenschaften**, 89(9): 404-407.

THORNE, L.H.; FOLEY, H.J.; BAIRD, R.W.; WEBSTER, D.L.; SWAIM, Z. T.; READ, A.J. 2017. Movement and foraging behavior of short-finned pilot whales in the Mid-Atlantic Bight: importance of bathymetric features and implications for management. **Marine Ecology Progress Series**, 584: 245-257.

TOWERS, J.R.; TIXIER, P.; ROSS, K.A.; BENNETT, J.; ARNOULD, J.P.Y.; PITMAN, R.L.; DURBAN, J.W. 2018. Movement and dive behavior of a toothfish-depredating killer and sperm whale. **ICES Journal of Marine Science**, 76(1): 298-311.

TREMBLAY, C.J.; VAN PARIJS, S.M.; CHOLEWIAK, D. 2019. 50 to 30-Hz triplet and singlet down sweep vocalizations produced by sei whales (*Balaenoptera borealis*) in the western North Atlantic Ocean. **The Journal of the Acoustical Society of America**, 145(6): 3351-3358.

TROINA, G.C.; BOTTA, S.; DEHAIRS, F.; DI TULLIO, J.C.; ELSKENS, M.; SECCHI, E.R. 2020. Skin δ13C and δ15N reveal spatial and temporal patterns of habitat and resource use by free-ranging odontocetes from the southwestern Atlantic Ocean. **Marine Biology**, 167:186

TUERK, K.J.S.; KUCKLICK, J.R.; BECKER, P.R.; STAPLETON, H.M.; BAKER, J.E. 2005. Persistent Organic Pollutants in Two Dolphin Species with Focus on Toxaphene and Polybrominated Diphenyl Ethers. **Environmental science & technology**, 39(3): 692-698.

TYACK, P. 1986. Population biology, social behavior and communication in whales and dolphins. **Trends in Ecology and Evolution**, 1(6): 144-150.

TYACK, P.; CLARK, C. 2000. Communication and acoustic behavior of dolphins and whales. In: AU, A.W.W.; POPPER, L.N.; FAY, R.R. (Eds.) **Hearing by whales and dolphins** (pp. 156-224). New York: Springer-Verlag.

URIAN, K.; GORGONE, A.; READ, A.; BALMER, B. WELLS, R.S.; BERGGREN, P.; DURBAN, J.; EGUCHI, T.; RAYMENT, W.; HAMMOND, P.S. 2015. Recommendations for photo-identification methods used in capture-recapture models with cetaceans. **Marine Mammal Science**, 31(1): 298-321.

USMAN, A.M.; OGUNDILE, O.O.; VERSFELD, D.J.J. 2020. Review of Automatic Detection and Classification Techniques for Cetacean Vocalization. **IEEE Access**, 8: 105181-105206.

VAN CISE, A. M.; MARTIEN, K. K.; MAHAFFY, S. D.; BAIRD, R. W.; WEBSTER, D. L.; FOWLER, J. H.; OLESON, E. M.; MORIN, P. A. 2017.

Familial social structure and socially driven genetic differentiation in Hawaiian short-finned pilot whales. **Molecular ecology**. 26(23): 6730-6741.

VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W.F.; WILLS, D.P.M; SHIPLEY, P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, 4(3): 535-538.

VIANNA, Y.; AMORIM, T.O.S.; CASTRO, F.R.; WEDEKIN, L.; PARO, A.D.; MONTORIL, M.H.; ROSSI-SANTOS, M.R.; ANDRIOLO, A. 2022. Are dolphins modulating whistles in interspecific group contexts? **Bioacoustics**, 31(6): 668-679.

VIRICEL, A. & ROSEL, P.E. 2014. Hierarchical population structure and habitat differences in a highly mobile marine species: the Atlantic spotted dolphin. **Molecular Ecology**, 23(20): 5018-5035.

VIRICEL, A.; SIMON-BOUHET, B.; CEYRAC, L.; DULAU-DROUOT, V.; BERGGREN, P.; AMIR, O.A.; JIDDAWI, N.S.; MONGIN, P. & KISZKA, J.J. 2016. Habitat availability and geographic isolation as potential drivers of population structure in an oceanic dolphin in the Southwest Indian Ocean. **Marine Biology**, 163(10): 219.

WANG, D.; WURSIG, B. & EVANS, W. 1995. Comparisons of whistles among seven odontocete species. In: KASTELEIN, R. A.; THOMAS, J.A. and N ACHTIGALL, P.E. (Eds.) **Sensory Systems of Aquatic Mammals** (pp. 299-323). The Netherlands, Woerden: De Spil Publishers.

WAPLES, R.S. & ENGLAND, P.R. 2011. Estimating contemporary effective population size on the basis of linkage disequilibrium in the face of migration. **Genetics**, 189(2): 633-644.

WAPLES, R.S.; ANTAO, T. & LUIKART, G. 2014. Effects of overlapping generations on linkage disequilibrium estimates of effective population size. **Genetics**, 197(2): 769-780.

WEDEKIN, L.L.; DAURA-JORGE, F.G.; ROSSI-SANTOS, M.R.; SIMÕES-LOPES, P.C. 2008. Notas sobre a distribuição, tamanho de grupo e comportamento do golfinho Tursiops truncatus (Cetacea: Delphinidae) na Ilha de Santa Catarina, sul do Brasil. **Biota Neotropica**, 8(4): 225-229.

WEDEKIN, L.L.; NEVES, M.C.; MARCONDES, M.C.; BARACHO, C.; ROSSI-SANTOS, M.R.; ENGEL, M.H.; SIMÕES-LOPES, P.C. 2010. Site fidelity and movements of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) on the Brazilian breeding ground, southwestern Atlantic. **Marine Mammal Science**, 26(4): 787-802.

WEDEKIN, L.L.; ROSSI-SANTOS, M.R.; BARACHO, C.; CYPRIANO-SOUZA, A.L.; SIMÕES-LOPES, P.C. 2014. Cetacean records along a coastal-offshore gradient in the Vitória-Trindade Chain, western South Atlantic Ocean. **Brazilian Journal of Biology**, v.74(1): 137-144.

WEIJS, L.; VIJAYASARATHY, S.; VILLA, C.A.; NEUGEBAUER, F.; MEAGER, J.J.; GAUS, C. 2016. Screening of organic and metal contaminants in Australian humpback dolphins (Sousa sahulensis) inhabiting an urbanised embayment. **Chemosphere***,* 151: 253-262.

WEIR, B.S. & COCKERHAM, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population Structure. **Evolution**, 38:1358–1370.

WEIR, C. R.; POLLOCK, C.; CRONIN, C.; TAYLOR, S. 2001. Cetaceans of the Atlantic frontier, north and west of Scotland. **Continental Shelf Research**, 21(8-10): 1047-1071.

WEIR, C.R.; OMS, G.; BARACHO-NETO, C.G.; WEDEKIN, L.L.; DAURA-JORGE, F. G. 2020. Migratory movement of a sei whale (*Balaenoptera borealis*) between Brazil and the Falkland Islands (Malvinas). **Marine Mammal Science**, 36(3): 1050-1057.

WHITEHEAD, H. 2018. Sperm whale: *Physeter macrocephalus*. In: **Encyclopedia of marine mammals**. Academic Press, 919-925.

WICKERT, J.C.; MAILLARD, S.V.E.; OLIVEIRA, L.R. & MORENO, I.B. 2016. Revalidation of *Tursiops gephyreus* Lahille, 1908 (Cetartyodactila: Delphinidae) from the Southwestern Atlantic Ocean. **Journal of Mammalogy**, 97(6):1728–1737.

WIGGINS, S.M.; ROCH, M.A.; HILDEBRAND, J.A. 2010. TRITON software package: Analyzing large passive acoustic monitoring data sets using MATLAB. **The Journal of the Acoustical Society of America**, 128(4): 2299-2299.

WILBERG, M.J. & DREHER, B.P. 2004. GENECAP: a program for analysis of multilocos genotype data for non-invasive sampling and capture-recapture population estimation. **Molecular Ecology Notes**, 4(4): 783-785.

WILSON, B.; ARNOLD, H.; BEARZI, G.; FORTUNA, C.M.; GASPAR, R.; INGRAM, S.; LIRET, C.; PRIBANIĆ, S.; READ, A.J.; RIDOUX, V.; SCHNEIDER, K.; URIAN, K.W.; WELLS, R.S.; WOOD, C.; THOMPSON, P.M.; HAMMOND, P.S. 1999. Epidermal diseases in bottlenose dolphins: impacts of natural and anthropogenic factors. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, 266 (1423): 1077-1083.

WILSON, R.M.; CHANTON, J.P.; BALMER, B.C.; NOWACEK, D.P. 2014. An evaluation of lipid extraction techniques for interpretation of carbon and nitrogen isotope values in bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) skin tissue. **Marine Mammal Science**, 30(1): 85-103.

WRIGHT, B.M.; FORD, J.K.B.; ELLIS, G.M.; DEECKE, V.B.; SHAPIRO, A.D.; BATTAILE, B.C.; TRITES, A.W. 2017. Fine-scale foraging movements by fish-eating killer whales (*Orcinus orca*) relate to the vertical distributions and escape responses of salmonid prey (Oncorhynchus spp.). **Movement Ecology**, 5(3).

YANG, C.; LIM, W.; SONG, G. 2020. Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, 234: 108758.

YOGUI, G.T. 2002. Ocorrência de compostos organoclorados (pesticidas e PCBs) em mamíferos marinhos da costa de São Paulo (Brasil) e da Ilha Rei George (Antártica). Tese de Mestrado em Ciências, área de Oceanografia Química e Geológica. Universidade de São Paulo: Instituto Oceanográfica. 157p.

YOGUI, G.T.; DE OLIVEIRA SANTOS, M.C.; MONTONE, R.C. 2003. Chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in marine tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis)* from the Cananéia estuary, southeastern Brazil. **Science of The Total Environment**, 312(1-3): 67-78.

YOGUI, G.T.; SANTOS, M.C.O.; BERTOZZI, C.P.; SERICANO, J.L.; MONTONE, R.C. 2011. PBDEs in the blubber of marine mammals from coastal areas of São Paulo, Brazil, southwestern Atlantic. **Marine Pollution Bulletin**, 62(12): 2666-2670.

ZEIN, B.; WOELFING, B.; DÄHNE, M.; SCHAFFELD, T.; LUDWIG, S.; RYE, J.H.; BALTZER, J..; RUSER, A.; SIEBERT, U. 2019. Time and tide: Seasonal, diel and tidal rhythms in Wadden Sea Harbour porpoises (*Phocoena phocoena*). **PloS ONE**, 14(3): e0213348.

ZERBINI, A. N.; ANDRIOLO, A.; HEIDE-JØRGENSEN, M. P.; PIZZORNO, J. L.; MAIA, Y. G.; VANBLARICOM, G. R.; DEMASTER, D. P.; SIMÕES-LOPES, P. C.; MOREIRA, S.; BETHLEM, C. 2006. Satellite-monitored movements of humpback whales Megaptera novaeangliae in the Southwest Atlantic Ocean. **Marine Ecology Progress Series**. 313: 295-304.

ZERBINI, A.N.; WARD, E.J.; KINAS, P.G.; ENGEL, M.H.; ANDRIOLO, A. 2011. A Bayesian assessment of the conservation status of humpback whales

(*Megaptera novaeangliae*) in the western South Atlantic Ocean. **Journal of Cetacean Research Management,** (Special Issue)3: 131–144.

ZERBINI, A.N.; FERNANDEZ, A.; ANDRIOLO, A.; CLAPHAM, P.J.; CRESPO, E.; GONZÁLEZ, R.; HARRIS, G.; MENDEZ, M.; ROSENBAUM, H.; SIRONI, M.; SUCUNZA, F.; UHART, M. 2017. Satellite tracking of Southern right whales *Eubalaena australis* from Golfo San Matías, Rio Negro Province, Argentina. **Reports of the International Whaling Commission,** SC/67B/CMP/17.

ZUUR, A.F.; IENO, E.N.; WALKER, N.J.; SAVELIEV, A.A.; SMITH, G.M. 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. **Statistics for Biology and Health Series**. Springer, New York, 574: 574.

RESPONSÁVEIS TÉCNICOS PELO RELATÓRIO

NOME	***José Olimpio da Silva Junior***
ÁREA PROFISSIONAL	Biólogo, Me.
REGISTRO PROFISSIONAL	09982/03
CADASTRO IBAMA – CTF	311947
ÁREA RESPONSÁVEL	Coordenação Geral
ASSINATURA	

NOME	***Leonardo Liberali Wedekin***
ÁREA PROFISSIONAL	Biólogo, Dr.
REGISTRO PROFISSIONAL	088478/03
CADASTRO IBAMA – CTF	1643518
ÁREA RESPONSÁVEL	Coordenação Técnica Geral e Coordenação Temática de Avistagem Embarcada
ASSINATURA	

NOME	***Renan Lopes Paitach***
ÁREA PROFISSIONAL	Biólogo, Dr.
REGISTRO PROFISSIONAL	095121/03
CADASTRO IBAMA – CTF	5046417
ÁREA RESPONSÁVEL	Coordenação Temática de Bioacústica
ASSINATURA	Renan Lopes Paitach.

NOME	***Marta Jussara Cremer***
ÁREA PROFISSIONAL	Bióloga, Dra.
REGISTRO PROFISSIONAL	25595/03
CADASTRO IBAMA – CTF	1921695
ÁREA RESPONSÁVEL	Coordenação Temática de Telemetria
ASSINATURA	

NOME	***Paulo Cesar de Azevedo Simões Lopes***
ÁREA PROFISSIONAL	Biólogo, Dr.
REGISTRO PROFISSIONAL	09367/03
CADASTRO IBAMA – CTF	472903
ÁREA RESPONSÁVEL	Coordenação Temática de Avistagem Embarcada:
ASSINATURA	

NOME	***Carolina Bezamat de Abreu***
ÁREA PROFISSIONAL	Bióloga, Dra.
REGISTRO PROFISSIONAL	095666/03
CADASTRO IBAMA – CTF	5559028
ÁREA RESPONSÁVEL	Coordenação Temática de Avistagem Aérea – a partir de julho de 2019
ASSINATURA	

NOME	***Ana Lúcia Cypriano de Souza***
ÁREA PROFISSIONAL	Bióloga, Dra.
REGISTRO PROFISSIONAL	044464/04
CADASTRO IBAMA – CTF	4852432
ÁREA RESPONSÁVEL	Coordenação de Análises Genéticas
ASSINATURA	

NOME	***Fabio Gonçalves Daura Jorge***
ÁREA PROFISSIONAL	Biólogo, Dr.
REGISTRO PROFISSIONAL	058229/03
CADASTRO IBAMA – CTF	2037448
ÁREA RESPONSÁVEL	Fotoidentificação
ASSINATURA	