

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



ANÁLISE DAS PRINCIPAIS AMEAÇAS DA GAIVOTA-DE-AUDOUIN (*Larus audouinii*) NO  
SUL DE PORTUGAL: ESTUDO DA POPULAÇÃO, DE METAIS PESADOS, E DE  
ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS

JOÃO SILVA ALMEIDA

ORIENTADOR(A):  
Dra. María Victoria Mena Casero  
COORIENTADOR(A):  
Doutora Rute Marina Garcia da Noiva

2025

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



ANÁLISE DAS PRINCIPAIS AMEAÇAS DA GAIVOTA-DE-AUDOUIN (*Larus audouinii*) NO  
SUL DE PORTUGAL: ESTUDO DA POPULAÇÃO, DE METAIS PESADOS, E DE  
ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS

JOÃO SILVA ALMEIDA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor Jorge Manuel Jesus Correia

VOGAIS:

Doutora Anabela de Sousa Santos Silva  
Moreira

Dra. María Victoria Mena Casero

ORIENTADOR(A):

Dra. María Victoria Mena Casero

COORIENTADOR(A):

Doutora Rute Marina Garcia da Noiva

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: João Silva Almeida

Título da Tese ou Dissertação: Análise das principais ameaças da gaivota-de-audouin (Larus audouinii) no sul de Portugal: Estudo da população, de metais pesados, e de alterações patológicas

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2025

Designação do curso de  
Mestrado ou de  
Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica  Produção Animal e Segurança Alimentar  
 Morfologia e Função  Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Vista à publicação dos resultados sob a forma de artigo científico

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 27 de janeiro de 2025

Assinatura: João Silva Almeida Moziaui

## **Agradecimentos**

Começo por agradecer à Dra. María Casero e à Professora Doutora Rute Noiva, por aceitarem orientar-me neste projeto. Obrigado por toda a ajuda no planeamento e realização deste trabalho, e por todas as palavras amigas, de incentivo e de compreensão.

Ao Professor Quaresma por todo o backup e amizade. Ao Professor Luís Madeira de Carvalho, à Sandra, Professor Telmo, e Professor Miguel pelas contribuições.

A toda a equipa do RIAS por me acolher e contribuir para o meu desenvolvimento profissional. Obrigado a todos por me abrirem as portas de entrada neste mundo.

Aos amigos que fiz no Algarve, mas que levo para a vida. Ao Thijs e à Fábria por serem os meus segundos pais, à Sylvia e ao Alex pela alegria e simplicidade, à Sandra por ser a primeira que me recebeu, e que comigo partilhou tantos momentos, à Inês e à Catarina por me ensinarem tantas e tantas coisas, e por sempre me fazerem olhar para o futuro com esperança, à Silvia pelos momentos de diversão, e finalmente, ao Jaime, por ser a melhor pessoa que podia ter encontrado nesta aventura!

À Dra. Ana e à Carolina pela amizade durante a minha estadia na Irlanda. Às Cátias, por me receberem tão bem na clínica, e por serem um boost de boa disposição.

Aos meus amigos da faculdade, em especial ao Luís, ao Chico, à Inês, à Madalena, à Maria, à Daniela e à Sofia. Sem vocês, nada disto teria sido possível. Custou, mas conseguimos! Ao meu amigo Teles, companheiro de todas as futeboladas. Aos meus amigos mais antigos, porque esta amizade faz mover montanhas: à Luana, ao Rui, ao Jorge, ao Hernâni e ao Vasco. Ao Covoela, por serem “casa”. Um obrigado especial ao meu amigo David, pelas conversas até à “hora do padeiro”.

À Marlene, por ter sido um enorme apoio em todos os momentos difíceis.

Aos meus sobrinhos e afilhado: à Maria Antónia, ao Manuel e à Augusta. Espero que se sintam orgulhosos de mim. Aos meus irmãos e padrinhos, Bruno e Hélder, e às minhas cunhadas, Rafaela e Catarina, por sempre me ouvirem, aconselharem e cuidarem de mim.

Ao meu Chefe, Luna, Raimundo, Milu, Riscas e Salta-Nuvens. São a razão de eu ter entrado neste curso!

À Júlia, por tornar todos os meus dias mais bonitos e felizes, por ser estrela polar, e por sempre acreditar em mim.

Aos meus pais, porque são quem mais me ama no mundo, e por aceitarem tudo aquilo a que me propôs fazer, por mais que vos pudesse soar estranho. Por sempre acreditarem em mim, e por me proporcionarem tudo isto.

Aos meus avós que já partiram, em especial à minha avó Serafina. Que estejas orgulhosa de mim, minha avó, e que vejas que todos aqueles dias de estudo valeram a pena!

A Jesus.

Finalmente, ao meu primeiro amor, a minha Ilha de São Miguel!

## **Colaborações e Financiamento**

O projeto que deu origem a esta Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, decorreu em colaboração com o RIAS – Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa e com o ISA – Instituto Superior de Agronomia, e sob financiamento do CIISA – Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, no âmbito do programa CIISA 2020, com a atribuição de uma Bolsa de Iniciação Científica, ao projeto de mestrado "Population trends and characterization of articular gout lesions in Audouin gulls (*Larus audouinii*) in the South of Portugal" (referência BIC23Jul-03).

# **Análise das principais ameaças da gaivota-de-audouin (*Larus audouinii*) no sul de Portugal: estudo da população, de metais pesados, e de alterações patológicas**

## **Resumo**

A gaivota-de-audouin (*Larus audouinii*) é uma espécie endémica do Mediterrâneo e Saaara Ocidental, cuja maior colónia reprodutiva mundial se localiza na Ilha Deserta, no Algarve. Este estudo visou explorar as dinâmicas populacionais, causas de doença e níveis de metais contaminantes nesta população.

Foi feita a recolha e caracterização dos dados de ingresso de 878 gaivotas-de-audouin no RIAS - Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa, entre Janeiro de 2010 e Dezembro de 2023, tendo sido efetuada necrópsia de 176 aves e análise histopatológica de 4 aves. Para a pesquisa e quantificação de metais, foi feita a recolha de amostras de rim, fígado e coração de 44 gaivotas-de-audouin e de 46 gaivotas-de-patas-amarelas (*Larus michahellis*) do banco de amostras do RIAS, posteriormente analisadas por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente.

Os resultados obtidos revelaram que a evolução do número de ingressos no RIAS não acompanha o crescimento da colónia da Ilha Deserta, observando-se muito mais irregular, com fases de crescimento e de decréscimo, e que a morbilidade / mortalidade na colónia afeta sobretudo juvenis recolhidos na Estação de Tratamento de Águas Residuais de Faro / Olhão e arredores, manifestando-se por sinais de debilidade / desnutrição, com predominância de doença renal e articular compatíveis com quadros de gota.

Observaram-se valores superiores de zinco e cobre nas gaivotas-de-audouin e valores superiores de cádmio, chumbo e ferro nas gaivotas-de-patas-amarelas, assim como evidências de bioacumulação de cobre, cádmio, ferro e zinco, nas gaivotas-de-audouin, e de cádmio nas gaivotas-de-patas-amarelas. Apenas a concentração de cádmio (e apenas na gaivota-de-audouin) apresentou variações significativas entre os diferentes anos de recolha. Finalmente, em ambas as espécies, o fígado apresentou maior concentração de zinco, ferro e manganês, enquanto o cobre e o cádmio (e o chumbo no caso da gaivota-de-patas-amarelas) apresentaram maior afinidade para o rim. Na gaivota-de-audouin foi o coração o órgão que apresentou níveis mais elevados de chumbo.

Os dados sugerem uma alteração do comportamento alimentar da gaivota-de-audouin após aplicação de uma nova política de moratórias e proibições sobre a pesca em 2019, justificando estudos futuros.

Palavras-chave: gaivota-de-audouin, gaivota-de-patas-amarelas, Ilha Deserta, metais, gota

# **Analysis of the Main Threats to Audouin's Gull (*Larus audouinii*) in Southern Portugal: Population Study, Heavy Metals, and Pathological Changes**

## **Abstract**

Audouin's gull (*Larus audouinii*) is a species endemic to the Mediterranean and Western Sahara, whose largest breeding colony in the world is located on Ilha Deserta, in the Algarve. This study aimed to explore population dynamics, causes of disease and contaminant metal levels in this population.

Data on the admission of 878 Audouin's gulls at RIAS - Ria Formosa Wild Animal Recovery and Investigation Center, between January 2010 and December 2023, was collected and characterized; 176 birds were necropsied and histopathology was carried out on 4 birds. For detection and quantification of metals, kidney, liver and heart samples from 44 Audouin's gulls and 46 Yellow-legged gulls (*Larus michahellis*) were retrieved from the RIAS sample bank, and subsequently analyzed by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.

The results obtained revealed that the evolution in the number of admissions at RIAS does not follow the growth of the Ilha Deserta colony, displaying a much more irregular pattern, with phases of increase and decrease, and that morbidity/mortality in the colony mainly affects juveniles collected at the Faro/Olhão Wastewater Treatment Station and surrounding areas, manifesting as signs of weakness/malnutrition, with a predominance of kidney and joint disease compatible with gout.

Higher values of zinc and copper were observed in Audouin's gulls, and higher values of cadmium, lead and iron in yellow-legged gulls, with evidence of bioaccumulation of copper, cadmium, iron and zinc in Audouin's gulls, and of cadmium in Yellow-legged gulls. Only cadmium concentrations (and only in the Audouin's gulls) showed significant variations between the different sampling years. Finally, in both species, the liver showed greater concentration of zinc, iron and manganese, while copper and cadmium (and lead in the case of the Yellow-legged gull) showed greater affinity for the kidney. In Audouin's gulls, the heart was the organ that showed the highest levels of lead.

The data suggests a change in the feeding behavior of Audouin's gulls after the implementation of a new policy of fishing moratoriums and bans in 2019, justifying future studies.

Keywords: Audouin's gull, yellow-legged gull, Deserta Island, metals, gout

## Índice Geral

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>iii</b>
<b>Colaborações e Financiamento</b> .....	<b>iv</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>v</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>vi</b>
<b>Lista de abreviaturas e símbolos</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Relatório de Estágio</b> .....	<b>2</b>
2.1. Estágio Curricular .....	2
2.2. Estágios Extracurriculares .....	3
2.3. Outras atividades .....	4
<b>3. Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>5</b>
3.1. Larídeos.....	5
3.1.1. O problema taxonómico .....	5
3.1.2. Identificação .....	6
3.1.3. Habitat.....	7
3.1.4. Comportamento alimentar .....	8
3.1.5. Reprodução .....	9
3.2. A Gaivota-de-audouin ( <i>Larus audouinii</i> ) .....	11
3.2.1. Introdução à espécie .....	11
3.2.2. Principais ameaças à espécie .....	16
3.2.2.1. Traumatismo .....	16
3.2.2.2. Desidratação / Debilidade .....	17
3.2.2.3. Interações interespecíficas – Predação e Cleptoparasitismo .....	19
3.2.2.4. Doenças Infeciosas e Parasitárias .....	20
3.3. Metais .....	21
3.3.1. Metais e Metais Pesados – uma definição.....	21
3.3.2. Os metais enquanto poluentes ambientais .....	22
3.3.3. As aves marinhas enquanto bioindicadores da saúde ambiental.....	23
3.3.4. Métodos de monitorização de metais .....	24
<b>4. Material e Métodos</b> .....	<b>26</b>
4.1. Objetivo do estudo .....	26
4.2. Origem da população - Centro de Recuperação (RIAS) .....	26
4.3. Caracterização da população em estudo.....	27

4.4.	Recolha de dados relativos à anatomo- e histopatologia.....	28
4.5.	Quantificação de metais contaminantes .....	28
4.6.	Análise de dados .....	30
<b>5.</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>32</b>
5.1.	Estudo Populacional.....	32
5.1.1.	Caracterização de Ingressos .....	32
5.1.2.	Recolha de dados anatomopatológicos .....	36
5.2.	Estudo de Elementos Contaminantes.....	40
5.2.1.	Caracterização da amostra em estudo.....	40
5.2.2.	Identificação e Quantificação de Elementos Contaminantes .....	41
5.2.3.	Comparação entre espécies .....	42
5.2.4.	Comparação entre espécies tendo em conta a idade.....	43
5.2.5.	Comparação entre grupos etários intra-espécie.....	45
5.2.6.	Comparação entre anos de recolha .....	47
5.2.7.	Comparação entre órgãos.....	49
<b>6.</b>	<b>Discussão.....</b>	<b>52</b>
6.1.	Análise Populacional e de Causas de Doença .....	52
6.2.	Estudo da Contaminação com Metais .....	55
6.2.1.	Premissa inicial .....	55
6.2.2.	Identificação de metais .....	55
6.2.3.	Comparação com a bibliografia - Toxicidade .....	56
6.2.4.	Comparação com a bibliografia – LA e LM.....	57
6.2.5.	Comparação entre espécies – A variável espécie .....	58
6.2.6.	Comparação entre espécies tendo em conta a idade.....	59
6.2.7.	A variável Idade .....	60
6.2.8.	A variável ano de recolha .....	62
6.2.9.	A variável órgão.....	63
<b>7.</b>	<b>Conclusão .....</b>	<b>65</b>
<b>8.</b>	<b>Bibliografia .....</b>	<b>67</b>
<b>9.</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>76</b>

## Índice de Figuras

Figura 1. Crias de gaivota-de-audouin ( <i>Larus audouinii</i> ) .....	6
Figura 2. Gaivota-de-audouin adulta (três imagens superiores) e gaivota-de-patas-amarelas adulta (três imagens inferiores) .....	11
Figura 3. Distribuição da gaivota-de-audouin .....	12
Figura 4. Colónia da Ilha Deserta, Faro.....	13
Figura 5. Composição da dieta (com base em análise de regurgitados) de gaivotas-de-patas-amarelas e de gaivotas-de-audouin, da Ilha Deserta, durante os períodos pré-reprodutivo, reprodutivo e pós-reprodutivo.....	15
Figura 6. Glândula do sal - anatomia e fisiologia .....	18
Figura 7. Amostras em tubos de ICP, organizadas nas racks.....	30
Figura 8. Caracterização dos ingressos, com determinação das frequências absolutas, segundo o concelho de origem.....	33
Figura 9. Número de gaivotas-de-audouin recolhidas em cada uma das zonas de recolha do concelho de Faro.....	34
Figura 10. Uveíte em olho de gaivota-de-audouin (H&E).....	38
Figura 11. Pulmão. Macrófagos repletos de carbono – antracose (H&E) .....	38
Figura 12. Pulmão. Melanose da serosa (H&E).....	38
Figura 13. Pulmão. Pneumonia (H&E).....	38
Figura 14. Coração. Mineralização (H&E) .....	39
Figura 15. Deposição de cristais de ácido úrico no rim (H&E) .....	39
Figura 16. Abscesso na parede do ureter (H&E).....	39
Figura 17. Abscesso na parede do ureter (H&E).....	39
Figura 18. Trematode identificado na gaivota-de-audouin .....	40
Figura 19. Ovos do trematode identificado na gaivota-de-audouin .....	40

## Índice de Tabelas

Tabela 1. Caracterização, quanto ao local de origem, das gaivotas-de-audouin juvenis ingressadas por debilidade / desnutrição .....	35
Tabela 2. Caracterização, quanto à espécie, faixa-etária e ano de recolha, da população para o estudo dos elementos contaminantes .....	40
Tabela 3. Caracterização, quanto à espécie, faixa-etária e órgão de recolha da amostra utilizada para o estudo dos elementos contaminantes .....	41
Tabela 4. Concentrações medianas de Na, K., Ca, P, S, Cu, Zn, Fe, Mn, Cd e Pb, e médias de Mg, na amostra de gaivotas-de-audouin (LA) e de gaivotas-de-patas-amarelas (LM) .....	41

## Índice de Gráficos

Gráfico 1. Variação anual dos ingressos de gaivotas-de-audouin .....	32
Gráfico 2. Rácio ingressos / número de casais de gaivotas-de-audouin da colônia da Ilha Deserta, desde 2014 (%). .....	33
Gráfico 3. Caracterização dos ingressos, com determinação das frequências absolutas, segundo a causa de ingresso .....	35
Gráfico 4. Caracterização das lesões à necrópsia, segundo a sua natureza / sistema afetado .....	36
Gráfico 5. Concentrações medianas (mg/Kg) de K, P, Fe e Contrações médias (mg/Kg) de Mg em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) .....	42
Gráfico 6. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd e Pb em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) .....	42
Gráfico 7. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Zn em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) .....	42
Gráfico 8. Concentrações medianas (mg/Kg) de K em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas de patas-amarelas (LM) adultas .....	43
Gráfico 9. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) adultas .....	43
Gráfico 10. Gráfico 11. Concentrações medianas (mg/Kg) de K em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) juvenis .....	44
Gráfico 11. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Zn em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) juvenis .....	44
Gráfico 12. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) juvenis .....	44
Gráfico 13. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Cd nos diferentes grupos etários das gaivotas-de-audouin .....	45
Gráfico 14. Concentrações medianas (mg/Kg) de K nos diferentes grupos etários das gaivotas-de-audouin .....	46
Gráfico 15. Concentrações medianas (mg/Kg) de Fe nos diferentes grupos etários das gaivotas-de-audouin .....	46
Gráfico 16. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd nos diferentes grupos etários das gaivotas-de-patas-amarelas .....	46
Gráfico 17. Variação nas concentrações medianas (mg/Kg) de Na e K, e médias (mg/Kg) de S, entre os anos de 2019 e 2023, em gaivotas-de-audouin .....	47
Gráfico 18. Variação nas concentrações medianas (mg/Kg) de Cd entre os anos de 2019 e 2023, em gaivotas-de-audouin .....	47
Gráfico 19. Variação nas concentrações medianas (mg/Kg) de K e médias (mg/Kg) de Na entre os anos de 2019 e 2023 em gaivotas-de-patas-amarelas .....	48
Gráfico 20. Variação nas concentrações médias (mg/Kg) de Mg entre os anos de 2019 e 2023, em gaivotas-de-patas-amarelas .....	48
Gráfico 21. Concentrações medianas (mg/Kg) de K, Ca, P, Zn, Fe, Cd, Pb e médias (mg/Kg) de Na, Mg e S nos diferentes órgãos das gaivotas-de-audouin .....	49

Gráfico 22. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Mn nos diferentes órgãos das gaivotas-de-audouin .....	50
Gráfico 23. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd e Pb nos diferentes órgãos das gaivotas-de-audouin .....	50
Gráfico 24. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Mn nos diferentes órgãos das gaivotas-de-patas-amarelas .....	50
Gráfico 25. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd e Pb nos diferentes órgãos das gaivotas-de-patas-amarelas .....	50
Gráfico 26. Concentrações medianas (mg/Kg) de Na, Ca, S, Cu, Zn, Fe, Mn, Cd e Pb, e médias (mg/Kg) de Mg e P nos diferentes órgãos das gaivotas-de-patas-amarelas .....	51
Gráfico 27. Boxplot relativo à distribuição das concentrações (mg/Kg) de Fe no três grupos etários das gaivotas-de-audouin.....	61
Gráfico 28. Boxplot relativo à distribuição das concentrações (mg/Kg) de Zn no três grupos etários das gaivotas-de-audouin.....	62

## Lista de abreviaturas e símbolos

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

AEFMV – Associação de Estudantes da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

AIQ – Amplitude interquartil

As – Arsénio

Ca – Cálcio

Cd – Cádmió

CIA – Centro de Interpretação Ambiental

Cr – Crómio

Cu – Cobre

Fe – Ferro

FMV – ULisboa – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

GMS – Coloração de metenamina de prata de Grocott-Gomori

H&E – Coloração hematoxilina-eosina

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Peróxido de Hidrogénio

Hg – Mercúrio

ICNF – Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas

ISA – Instituto Superior de Agronomia

IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza

K – Potássio

LA – Gaivota-de-audouin (*Larus audouinii*)

LC – Pouco Preocupante

LM – Gaivota-de-patas-amarelas (*Larus michahellis*)

LQ – Limite de quantificação

Mg – Magnésio

Mn – Manganês

Na – Sódio

Ni – Níquel

NT – Quase ameaçado

Pb – Chumbo

PNRF – Parque Natural da Ria Formosa

RIAS – Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa

RNCRF – Rede Nacional de Centros de Recuperação para a Fauna

RX – Raio-X

TAC – Tomografia aAxial cComputorizada

UCD – University College Dublin

VU – Vulnerável

Zn – Zinco

## 1. Introdução

Este trabalho visou estudar as dinâmicas populacionais da gaivota-de-audouin em Portugal, comparando o ritmo de ingressos em Centro de Recuperação de Fauna com a evolução dos números populacionais, e a caracterizar estes ingressos, assim como identificar eventuais causas de doença. Visou, ainda, a identificação, quantificação e análise de tendências de metais, em indivíduos da colónia portuguesa da espécie.

A relevância do estudo tem por base diferentes premissas: por um lado, a gaivota-de-audouin (*Larus audouinii*) é uma espécie classificada como vulnerável, segundo os critérios da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) (BirdLife International 2020), apresentando interesse de conservação. Por outro lado, a sua maior colónia reprodutiva encontra-se em Portugal, na Ilha Deserta, no Algarve (Vulcano 2021), surgindo a sua conservação também como motivo de interesse nacional. Se globalmente as populações de gaivotas-de-audouin parecem diminuir, a colónia portuguesa parece aumentar (BirdLife International 2020; Vulcano 2021). Por outro lado, o Centro de Recuperação da região algarvia, o RIAS, recolhe, anualmente, elevados números de gaivotas-de-audouin mortas ou debilitadas, procedendo à sua necrópsia e recolha de amostras, o que justifica a pertinência da investigação de eventuais causas de doença. A investigação da acumulação de metais contaminantes é relevante não só sob este ponto de vista, mas, ainda, porque permite avaliar a saúde ambiental, surgindo a gaivota-de-audouin como bioindicador (Furness and Camphuysen 1997). Todos estes pressupostos ganham, ainda, mais relevo se atendermos ao facto de o conhecimento científico sobre a espécie ser ainda limitado.

## **2. Relatório de Estágio**

### **2.1. Estágio Curricular**

O estágio curricular, realizado no âmbito do curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, decorreu entre 3 de agosto de 2023 e 20 de março de 2024, dividindo-se entre três instituições: o RIAS – Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa, entre os dias 3 de agosto e 14 de dezembro de 2023, totalizando 760 horas; o Laboratório de Anatomia Patológica da FMV-ULisboa, entre os dias 8 de janeiro de 2024 e 6 de março de 2024, num total de 170 horas; e o ISA – Instituto Superior de Agronomia, entre os dias 6 e 20 de março, num total de 80 horas. O estágio ocorreu sob a orientação da Dra. María Victoria Mena Casero e sob coorientação da Professora Doutora Rute Marina Garcia da Noiva.

No RIAS, centro que atua sob a gestão da Associação Aldeia, e sob supervisão do Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF), na região algarvia, foi possível acompanhar, de forma rotativa, todos os departamentos que normalmente integram um Centro de Recuperação da Fauna e, assim, desenvolver várias valências.

No departamento clínico, foi possível acompanhar a equipa veterinária, nas suas diferentes tarefas, que incluíram a receção e identificação de animais, avaliação do estado geral, exame físico e estabilização, tratamentos medicamentosos, não medicamentosos e suplementações, ligaduras, pensos e fisioterapia, exames de imagem (RX), cirurgia de tecidos moles e ortopédica, análises laboratoriais (hematologia, coprologia e cultura de amostras), necropsias, recolha e preservação de amostras. Este acompanhamento, aliado à investigação e discussão de casos semanais, permitiu o desenvolvimento de raciocínio clínico, assim como de competências práticas no âmbito da recuperação da fauna.

No departamento de Reabilitação, foi possível acompanhar as atividades de preparação e manutenção de instalações, enriquecimento ambiental, preparação de alimentação, captura, contenção e anilhagem das espécies ingressadas, assim como acompanhar a gestão do biotério de pequenos roedores e tenébrios. O acompanhamento destas atividades permitiu o desenvolvimento de competências teóricas e práticas relativas à biologia, comportamento, necessidades nutricionais e ambientais, captura e identificação das espécies ingressadas.

No departamento de Educação Ambiental, o estudante ficou responsável pela receção aos visitantes, no Centro de Interpretação Ambiental (CIA), permitindo o desenvolvimento de competências comunicacionais nas disciplinas que compõem o estudo e recuperação da Fauna autóctone.

A multidisciplinaridade e comunicação interdepartamental, o elevado número de ingressos, e a variedade de espécies ingressadas permitiu ao estudante conhecer de perto o ambiente de trabalho típico de um Centro de Recuperação da Fauna.

Durante o período de estágio, ingressaram diferentes espécies autóctones, com diferentes estatutos de conservação, segundo o Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal (ICNF 2005), como o Camaleão (*Chamaeleo chamaeleon*), Cágado-mediterrânico (*Mauremys leprosa*), Raposa-vermelha (*Vulpes vulpes*), Ouriço-cacheiro (*Erinaceus europaeus*), todos com estatuto de conservação “Pouco preocupante – LC”; Gaivota-de-audouin, classificada como “vulnerável – VU”; Grifo (*Gyps fulvus*), Bufo-real (*Bubo bubo*), ambos classificados como “Quase ameaçado – NT”, entre outras. Durante o período no RIAS, foi possível recolher amostras para a realização do estudo que esteve na origem desta dissertação.

No laboratório de Anatomia Patológica da FMV-UL, o estudante fez uma autogestão de tempo, que foi dividido entre a pesquisa bibliográfica relativa à origem, desenvolvimento e expressão anatomo- e histopatológica de doença na espécie em estudo, assim como uma observação microscópica e análise de lâminas das amostras recolhidas. Foi possível, ainda, uma participação pontual nas aulas práticas de Anatomia Patológica I, no auxílio voluntário do ensino aos estudantes, sob supervisão do docente. Estas atividades permitiram desenvolver um conhecimento mais profundo no âmbito da anatomo- e histopatologia geral e aviária, assim como competências práticas e teóricas relacionadas com o diagnóstico anatomo-histopatológico e, ainda, competências comunicacionais e de ensino. Durante a estadia na faculdade, o estudante repartiu, também, o seu tempo com as atividades relacionadas ao processamento das amostras para a pesquisa de metais contaminantes.

No ISA, o estudante despendeu todo o seu tempo nas etapas subsequentes do processamento de amostras, desenvolvendo importantes competências práticas laboratoriais.

## **2.2. Estágios Extracurriculares**

Até à data de conclusão deste trabalho, o estudante realizou, ainda, diversos estágios extracurriculares, que lhe permitiram ganhar competências bastante diversas em diferentes áreas da medicina veterinária.

Entre os dias 7 de abril e 22 de maio de 2024, estagiou no Laboratório de Microbiologia da Escola de Medicina Veterinária da UCD – University College Dublin, na Irlanda, sob supervisão da Professora Doutora Ana Pereira do Vale, onde trabalhou no planeamento e desenho de um projeto de investigação que visava a identificação e isolamento de bactérias antibiorresistentes e de genes de antibiorresistência a partir de

amostras fecais de fauna selvagem. Ainda que não tenha sido possível a conclusão dos trabalhos durante todo o período de estágio, o aluno desenvolveu importantes competências teóricas e práticas no âmbito da investigação em microbiologia.

Entre os dias 1 e 31 de julho de 2024, realizou estágio na Clínica Veterinária de São Gonçalo, na Ilha de São Miguel, onde acompanhou a prática clínica de animais de companhia, nas suas diferentes tarefas, que incluíram a consulta de avaliação do estado geral e especialidade, urgências e internamentos, tratamentos medicamentosos e não medicamentosos e profilaxia, exames de imagem (RX, ecografia e TAC), cirurgia de tecidos moles e ortopédicas, análises laboratoriais, tais como hematologia, bioquímicas, coprologia, histopatologia e cultura de amostras. Este acompanhamento permitiu o desenvolvimento de raciocínio clínico, assim como de competências práticas no âmbito da clínica de animais de companhia

Desde o dia 9 de setembro até ao momento da escrita deste trabalho, o estudante encontra-se a realizar estágio na VetOlaias – Clínica Veterinária, em Lisboa, onde se encontra a acompanhar as consultas de animais de companhia e exóticos, nas suas várias vertentes, que incluem a consulta de avaliação do estado geral, tratamentos medicamentosos e não medicamentosos e profilaxia, exames de imagem (RX), cirurgia de tecidos moles e odontológicas, análises laboratoriais, tais como hematologia, bioquímicas e coprologia, o que tem permitido o contínuo desenvolvimento de competências relacionadas com a clínica de animais de companhia e a aprendizagem de novas competências relacionadas com a clínica de animais exóticos.

### **2.3. Outras atividades**

Durante o período que intermediou o fim do estágio curricular e a apresentação deste trabalho, o estudante realizou, ainda, uma apresentação no âmbito do colóquio de introdução do FAUNA, núcleo de animais selvagens e exóticos da Associação de Estudantes da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (AEFMV).

Existe pela relevância do tema e resultados obtidos, a intenção da submissão de pelo menos um artigo científico.

### 3. Revisão Bibliográfica

#### 3.1. Larídeos

##### 3.1.1. O problema taxonómico

Atualmente, à escala universal, podem ser identificadas quatro principais listas taxonómicas de aves, que variam ligeiramente nos seus objetivos e filosofia: “The Clements Checklist of the Birds of the World”, “The Howard & Moore Complete Checklist of the Birds of the World, 4th Edition”, “HBW Alive/Bird Life International” e a “IOC World Bird List”.

Como resultado de avanços diários na genómica, com estudos que revelam novas relações filogenéticas entre grupos taxonómicos, ou quebram ligações previamente estabelecidas, a informação é, constantemente, atualizada e não existe ainda consenso. Em relação às gaivotas, têm sido levadas a cabo várias tentativas de classificação. Antes do boom da genómica, a maioria destas tentativas baseou-se em características morfológicas (Chu and Chu 1998) e comportamentais (Moynihan 1959). Contudo, as relações estabelecidas por estes sistemas não são apoiadas pelas evidências genómicas, sugerindo que as semelhanças e divergências morfológicas e comportamentais que determinaram a classificação taxonómica anterior espelham convergências ou divergências fenotípicas entre espécies criadas pelas pressões de seleção, e não uma verdadeira proximidade ou distância genética (Pons et al. 2005).

De acordo com Yoon et al. (2015) e com Baker et al. (2007) a Ordem Charadriiformes, a que as gaivotas pertencem, pode ser classificada como monofilética, podendo identificar-se três subordens: Lari, Scolapaci e Charadrii, sendo a primeira uma subordem irmã da segunda, que, por sua vez, é irmã da terceira. Por *taxa* irmãs entende-se dois *taxa* que derivam diretamente de um ancestral comum (Introduction to Phylogeny: What is a Sister Taxa? 2004).

A família Laridae, por seu turno, não tem limites bem definidos. Tradicionalmente, os esternídeos e os bico-de-tesoura eram incluídos em famílias independentes: Sternidae e Rynchopidae, respetivamente (Pons et al. 2005). Contudo, estudos mais recentes vieram a indiciar que estes dois grupos deveriam ser inseridos na família Laridae, que hoje compreende as gaivotas, esternídeos e bico-de-tesoura (Baker et al. 2007). Na verdade, esta família é tratada de forma diferente pelas diferentes listas taxonómicas. Por exemplo, segundo a lista taxonómica “HBW Alive/Bird Life International”, a família Laridae compreende cinco subfamílias: Anoinae, Gyginae, Rynchopinae, Sterninae e Larinae, com o género *Larus* (onde estão incluídas as gaivotas), a ser inserido na última. Por seu turno, segundo a classificação “IOC World Bird List”, os diferentes géneros da família Laridae não são organizados em subfamílias,

uma vez que estas não são consideradas. Existem ainda diferenças nos géneros considerados: por exemplo, o género *Ichthyaetus* é considerado pela “IOC World Bird List”, mas não pela “HBW Alive/Bird Life International”, sendo que todas as espécies classificadas neste género pela IOC, são inseridos no género *Larus* segundo a classificação da “Birdlife”. Assim, por exemplo, a Gaivota-de-audouin (LA), pode receber diferentes nomenclaturas consoante a lista taxonómica em uso; das quatro principais listas apresentadas, apenas a “HBW Alive/Bird Life International” considera a espécie como “*Larus audouinii*”. Todas as outras listam a espécie como “*Ichthyaetus audouinii*”. Ao longo deste trabalho, será seguida a regra taxonómica da “HBW Alive/Bird Life International”.

### 3.1.2. Identificação

A identificação das gaivotas pode revelar-se mais ou menos difícil, consoante a espécie e a idade do animal. De um modo geral, enquanto grupo, podem identificar-se como aves de corpo compacto e asas longas, com um peso que pode variar entre as 100g e as 2000g, com adaptações para ambientes anfíbios, como patas com membranas interdigitais (Burger and Gochfeld 2019).

As aves adultas apresentam, geralmente, ventre branco, que serve de camuflagem contra o céu iluminado, e plumagem dorsal mais ou menos escura, útil na identificação da espécie. Por seu turno, as aves imaturas tendem a apresentar uma plumagem manchada ou sarapintada (Figura 1), muito útil no período “pre-fledging”, em que, incapazes de voar, precisam de se camuflar no habitat para evitar predação. O fledging corresponde ao momento de saída das crias do ninho, e marca a entrada na faixa etária “juvenil” (Burger and Gochfeld 2019).



**Figura 1. Crias de gaivota-de-audouin (*Larus audouinii*). Original**

Segundo Svensson et al. (2022), consoante o período de desenvolvimento, as gaivotas podem ser divididas em três grandes categorias: as gaivotas com dois, com três, e com quatro grupos etários.

Na primeira, pode ser inserida a maioria das gaivotas de pequena dimensão, como o Guincho (*Larus ridibundus*). Nestas gaivotas, a plumagem de adulto é atingida pouco tempo depois do ano de idade. Assim, na maior parte do ano, podem ser

identificados dois grupos etários: 1º ano e adulto. A categoria de três grupos etários inclui gaivotas de dimensão média e a gaivota-pequena (*Larus minutus*). Estas gaivotas atingem a plumagem de adulto pouco depois dos dois anos de idade, sendo que os três grupos etários identificados durante o ano são: 1º ano, 2º ano e adulto (Svensson et al. 2022).

Finalmente, nas gaivotas com quatro grupos etários, a plumagem de adulto é atingida logo após completos os três anos de idade. Assim, os grupos identificados durante o ano são: 1º ano, 2º ano, 3º ano e adulto. Nesta categoria, inserem-se sobretudo as gaivotas de grandes dimensões, como a gaivota-de-patas-amarelas (*Larus michahellis*) (LM). Enquanto os adultos das diferentes espécies são geralmente fáceis de identificar, nas fases imaturas a identificação não é tão simples (Svensson et al. 2022).

As mudas de plumagem ocorrem geralmente duas vezes ao ano, identificando-se uma muda primaveril, parcial, em que apenas as penas da cabeça e do corpo são renovadas, e uma muda outonal, completa, em que toda a plumagem é renovada. No caso de animais imaturos, ao longo de cada muda, que pode levar meses a completar, a plumagem aproxima-se gradualmente da sua forma adulta (Svensson et al. 2022).

Durante a época de reprodução, as gaivotas podem apresentar traços característicos da sua plumagem, que ajuda na sua identificação. Assim, se por um lado as gaivotas de grandes dimensões tendem a apresentar a cabeça branca, durante esta fase, algumas das gaivotas de dimensões mais pequenas podem apresentar uma máscara ou capuz escuro (Burger and Gochfeld 2019), como acontece, por exemplo, no guincho (*Larus ridibundus*), ou na gaivota-de-cabeça-preta (*Larus melanocephalus*).

Apesar de não existir dimorfismo sexual evidente na plumagem, as fêmeas tendem a ser mais pequenas que os machos e, em algumas espécies, apresentam pescoços mais finos e cabeças mais redondas (Burger and Gochfeld 2019).

### **3.1.3. Habitat**

As gaivotas são mais abundantes nas zonas temperadas do mundo, ocupando aí uma grande variedade de habitats (Winkler et al. 2020). A maioria das gaivotas ocupa ambientes costeiros, como praias, ilhas e ilhéus, e ambientes estuarinos. Algumas espécies e subespécies, porém, podem ser encontradas em ilhas em alto mar, como é o caso da gaivota-da-lava, nas ilhas Galápagos (BirdLife International 2018; Burger and Gochfeld 2019) ou a subespécie de LM, a *Larus michahellis atlantis*, que ocorre na Macaronésia (del Hoyo et al. 2020). Da mesma forma, podem ser encontradas espécies em território continental interior, geralmente na proximidade de grandes lagos ou de pântanos. (Burger and Gochfeld 2019; Burguer and Gochfeld 2020).

### 3.1.4. Comportamento alimentar

A grande maioria das espécies é diurna.

Enquanto grupo, as gaivotas apresentam um comportamento alimentar muito variável, podendo procurar alimento numa grande diversidade de ambientes: mar aberto, zona costeira e entremarés, rios e estuários, baías e pontões, mas também em lagos e lagoas, barragens e pântanos. Enquanto oportunistas, podem ainda forragear em portos de pesca, junto a embarcações, em desembocaduras de esgotos, em lixeiras ou em centros urbanos (Burger 1988; Burger and Gochfeld 2019; Spelt et al. 2021). Burger (1988) verificou que o grupo das gaivotas de pequena dimensão geralmente não se alimenta de lixo ou de desperdício humano.

A procura de alimento pode ser feita enquanto os animais andam em terra, nadam no mar ou voam no ar (Burger 1988; Burger and Gochfeld 2019). Burger (1988) concluiu que a maioria das aves procura alimento de uma posição terrestre, mas que as gaivotas de pequenas dimensões usam preferencialmente métodos aéreos, como a apanha (“*picking up*”) e o mergulho de superfície. Winkler et al. (2020) identifica as gaivotas de grande dimensão como predadores eficientes, capazes de predar não apenas ovos e crias, mas ainda aves adultas de tamanho considerável. Finalmente, está ainda descrito o roubo de alimento (“*piracy*”) (Burger and Gochfeld 2019).

A dieta é variada, constituindo-se de crustáceos, insetos e outros invertebrados, peixes, mamíferos e aves e, ainda, desperdícios e despojos da atividade humana (Burger 1988; Burger and Gochfeld 2019; Winkler et al. 2020; Spelt et al. 2021).

Pode ser encontrada uma relação direta entre a variedade de habitats e métodos de procura de alimento utilizados, e a variedade alimentar, verificando-se que quanto mais variáveis os habitats e métodos de pesquisa alimentar, mais variada tende a ser a dieta da ave (Burger 1988). Esta relação é particularmente evidente quando se compara o comportamento alimentar da LA com o da LM: enquanto a primeira tem um comportamento alimentar mais especialista, a última apresenta um comportamento alimentar mais generalista e oportunista, ocupando ambientes marinhos e terrestres, com diversas estratégias alimentares (e.g., para além de peixe, recorre a outras fontes alimentares, como invertebrados, répteis, pequenos mamíferos, ovos e crias de aves, mas, também, desperdício alimentar humano, que inclui carne de aves, porco e vaca) (Ramos, Ramírez, et al. 2009; Calado et al. 2018; Matos et al. 2018; BirdLife International 2020; del Hoyo et al. 2020; Calado et al. 2021).

Spelt et al. (2021) demonstraram que, em ambientes urbanos, as gaivotas são capazes de adaptar os seus horários e estratégias de procura de alimento à atividade humana e à disponibilidade de alimento: através de observações e seguimento geográfico de gaivotas-de-asa-escura (*Larus fuscus*), puderam constatar um pico no

número de animais presentes em ambientes urbanos em momentos em que existe maior atividade humana ou maior disponibilidade de alimento, como os momentos de intervalo nas escolas, ou a descarga de lixo nas lixeiras. Puderam, ainda, observar-se a adoção de estratégias alimentares que envolvem um menor gasto energético, como a espera (“*sit-and-wait*”) em comparação com estratégias de pesquisa alimentar ativa (Schoener 1971). Os autores do estudo (Spelt et al. 2021) concluíram que esta flexibilidade de adaptação demonstrada pelas gaivotas pode estar na origem do sucesso da sua sobrevivência nas cidades.

### **3.1.5. Reprodução**

As gaivotas são espécies coloniais ou semicoloniais, reproduzindo-se em colônias que podem ir de poucos a milhares de indivíduos. A densidade da colônia está relacionada com a dimensão das gaivotas, tendendo as gaivotas pequenas a reproduzir-se em colônias mais densas, e as gaivotas grandes em colônias menos densas, o que permite às últimas maior segurança contra os fenómenos de canibalismo. As colônias podem ser mono- ou multiespecíficas, com outros larídeos ou mesmo com espécies de famílias distintas. Nestes casos, as outras aves tiram partido das capacidades antipredatórias, de alarme e defesa, das gaivotas. O mesmo acontece nas colônias mistas de espécies de gaivotas pequenas e grandes, em que as gaivotas pequenas tiram proveito da defesa conferida pelas gaivotas grandes (Burger and Gochfeld 2019; Winkler et al. 2020).

As gaivotas tendem a ser monógamas e a emparelhar para a vida. Contudo, o divórcio está registado em casos em que se verifica insucesso reprodutivo do casal. Ambos os membros do casal tendem a participar na defesa do território, na incubação, e na alimentação das crias. Porém, na primeira semana de vida das crias, o macho tende a estar mais envolvido na defesa de território e na procura de alimento, enquanto a fêmea tende a estar mais envolvida nas tarefas de incubação e de defesa das crias. A incubação envolve a permanência de um dos membros do par no ninho durante 1 a 4h durante o dia, assim como durante todo o período da noite (Burger and Gochfeld 2019; Winkler et al. 2020).

A maioria das espécies é flexível na seleção de habitat; contudo, algumas espécies exibem comportamento mais seletivo. Ambos os elementos do casal participam na pesquisa de um possível local de nidificação; todas as espécies de gaivota constroem ninho, sendo que em algumas espécies este momento é decisivo na formação e manutenção de casais. (Burger and Gochfeld 2019; Winkler et al. 2020).

Em aves, os locais de nidificação associados a maior sucesso reprodutivo são também os primeiros a ser ocupados na época reprodutiva (Brooke 1979; Bensch and

Hasselquist 1991). Kim e Monaghan (2005) demonstraram, através de um estudo com gaivotas-prateadas (*Larus argentus*), que os primeiros locais a serem ocupados eram locais cobertos de vegetação. Os autores concluíram que, apesar da presença de vegetação não estar relacionada com uma maior sobrevivência das crias nem estar diretamente relacionada com maior sucesso reprodutivo, era um critério importante na escolha de ninho pelos casais mais precoces da época reprodutiva, que correspondiam, também, aos casais de maior sucesso. A presença de vegetação confere proteção às aves adultas contra as condições ambientais extremas durante a época de incubação; de igual forma, parece proteger os casais de distúrbios causados pelas outras aves da colónia, permitindo-lhes um maior descanso (Kim and Monaghan 2005).

A reprodução de gaivotas em colónias urbanas tem sido amplamente registada (Coulson 1963; Raven and Coulson 1997; Rock 2005; Kubetzki and Garthe 2007; Coulson and Coulson 2009; Coulson and Coulson 2015). A formação destas colónias parece estar maioritariamente relacionada com as novas fontes alimentares que as cidades conferem, assim como pela tentativa de fuga a predadores, que se tornam abundantes nas colónias tradicionais (Rock 2005; Coulson and Coulson 2009). Não obstante, durante a época reprodutiva, assiste-se, também, a uma movimentação diária dos casais de colónias tradicionais até às cidades, em busca de alimento, em números que transcendem aqueles correspondentes aos casais nidificantes em ambiente urbano. Isto significa que as tentativas de redução do número de casais reprodutores em ambiente urbano podem ter um sucesso limitado na redução do número total de gaivotas nesses ambientes durante a época reprodutiva (Huig et al. 2016).

Nas zonas temperadas, como é o caso de Portugal, tende a existir uma única época de reprodução anual, durante a primavera. De um modo geral, a idade de início de reprodução situa-se entre os 2 e os 5 anos, variando com a espécie e com fatores ecológicos e ambientais, como a disponibilidade de parilha ou de local de nidificação. Cada época reprodutiva pode ser dividida em várias fases sucessivas:

1. chegada à colónia;
2. ocupação da colónia;
3. defesa do território, corte e construção de ninho;
4. cópula e postura - com uma média de 3 ovos por par;
5. incubação - 20-30 dias por ninho, cerca de 6 semanas por colónia;
6. eclosão - que pode ser assíncrona entre os ovos (até 1 a 2 dias depois no caso do terceiro ovo);
7. fase "Prefledging" - que se prolonga por 1 a 2 meses.

Os cuidados e vigilância parental mantêm-se, com maior ou menor intensidade, até algumas semanas após o fledging (Burger and Gochfeld 2019; Burger et al. 2020; Winkler et al. 2020).

### 3.2. A Gaivota-de-audouin (*Larus audouinii*)

#### 3.2.1. Introdução à espécie

A LA é uma gaivota marinha, endêmica do Mediterrâneo e Saaara ocidental, classificada como vulnerável pela IUCN (BirdLife International 2020).

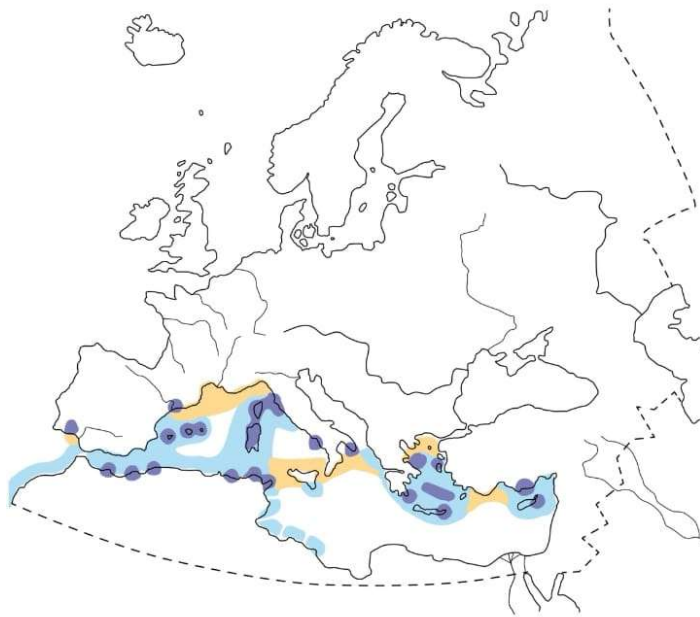
Caracteriza-se pelo seu pequeno tamanho - quando comparada com outras espécies, como a LM ou a gaivota-prateada (*Larus argentus*) - atingindo comprimentos entre os 48 cm e os 52 cm, e uma envergadura que pode rondar os 125-138 cm. Os adultos atingem pesos entre os 451 g e os 770 g (Burger et al. 2020).

É uma gaivota com quatro grupos etários, apresentando os adultos uma plumagem branca, e um manto cinzento ténue, com as extremidades das asas negras e com pequenos espelhos brancos. Têm um bico curto e atarracado, de cor vermelho sangue, com um anel negro subterminal e uma ponta amarelada. A íris é negra e as patas têm cor esverdeada a cinzento-escura. A combinação destas características permite distingui-la da LM (Figura 2), que ocupa os mesmos espaços durante as mesmas fases do ano (Burger et al. 2020; Vulcano 2021; Svensson et al. 2022).



**Figura 2. Gaivota-de-audouin adulta (três imagens superiores) e gaivota-de-patas-amarelas adulta (três imagens inferiores). Autor: Thijs Valkenburg**

Nas fases imaturas, pode confundir-se com a LM e com a gaivota de asa-escura, distinguindo-se pelo padrão infra-alar mais marcado, assim como pelas penas de cobertura supracaudais, que formam uma mancha branca nítida em forma de “U”. A partir do 2º ano, as partes superiores adquirem uma coloração cinzenta-pálida (Burger et al. 2020; Svensson et al. 2022).



**Figura 3. Distribuição da gaivota-de-audouin. Fonte: Collins (2022)**

Legenda: áreas de residência e nidificação (roxo), de migração (amarelo) e de invernada (azul):

Os nichos de reprodução distribuem-se pela bacia mediterrânica e arredores, estendendo-se da costa portuguesa, a Norte, à costa atlântica de Marrocos, a Sul, e até ao Chipre e Turquia, a Este (Figura 3) (BirdLife International 2020). Historicamente, as maiores colónias situavam-se em Espanha, que, em 2008, chegou a albergar 93% da população mundial desta espécie (Gutiérrez and Guinard 2008). As colónias mais importantes situavam-se no Delta do Ebro (Catalunha) e nas Ilhas Chafarinas (Pedrocchi et al.

2002; Genovart et al. 2003; BirdLife International 2020; Burger et al. 2020; Vulcano 2021), sendo que a primeira chegou a compreender 70% da população mundial da espécie (Oro, Jover, et al. 1996).

A colónia do Delta do Ebro formou-se em 1981, com a chegada dos primeiros casais, e desde aí, até 2010, revelou uma tendência de crescimento acelerada, como resultado da disponibilidade alimentar das descargas da indústria pesqueira local, especialmente da pesca de arrasto (Oro 1995; Gutiérrez and Guinard 2008). Em 2010, contudo, assistiu-se ao início de um rápido declínio, que culminou com o colapso da colónia (BirdLife International 2020). Payo-Payo et al. (2018) demonstraram que a presença de predadores (i.e. raposas), que começaram a ser abundantes a partir de 1997, veio a alterar a estrutura etária e o sucesso reprodutivo da colónia. Da mesma forma, segundo Oro et al. (1996), a aplicação e intensificação de várias moratórias sobre a pesca de arrasto teve também consequências para o sucesso reprodutivo da colónia, podendo ter contribuído para este colapso (BirdLife International 2020). Em 2019, registavam-se 1.355 pares no Delta do Ebro, um valor preocupante, se considerarmos que, em 2006, 15.396 pares ocupavam a colónia (BirdLife International 2020).

O grande sucesso (temporário) reprodutivo das colónias espanholas parece ter estado na origem da expansão da espécie para este e para oeste, e da chegada das aves ao Algarve (BirdLife International 2020). Os primeiros registos recentes da presença de casais reprodutores de LA em Portugal datam do ano 2000, quando um

único casal se instalou em salinas da região de Castro-Marim, ao que se seguiu o estabelecimento de uma pequena colónia de 12 casais, no mesmo local, no ano seguinte. As aves começaram, ainda, a ocupar uma outra área de salinas na região de Tavira, com o desenvolvimento de uma colónia com cerca de 40 casais, que se manteve até 2008 (LifeSalinas 2020). Contudo, devido a um sucesso reprodutivo muito reduzido, ambas as colónias foram abandonadas (Leal and Lecoq 2006). Por outro lado, a LA chegou à Ilha Deserta em 2008 (Vulcano 2021), estabelecendo aí uma colónia que, em 2014, já contava com 900 casais (Sociedade Portuguesa para o Estuda das Aves 2014), e que hoje é a maior colónia reprodutiva da espécie (Vulcano 2021), com 5996 casais contabilizados em 2023 (Life Ilhas Barreira, comunicação pessoal, 19 de maio de 2023). O crescimento da colónia algarvia deve-se não apenas a um eficiente sucesso reprodutivo mas, também, à translocação de casais provenientes de outras colónias, que entraram em declínio, como seja a colónia do Ebro (BirdLife International 2020). Assim, em Portugal Continental, esta espécie é considerada estival, migradora de passagem e invernante, acidental nos Açores, e ausente na Madeira (Sociedade Portuguesa para o Estuda das Aves 2014).

Durante a época reprodutiva, as colónias ocupam ambientes costeiros, como ilhas ou ilhéus, sapais e areais, ou, ainda, falésias rochosas (Cramp and Simmons 1983; Olsen and Larsson 2003). As características do habitat escolhido podem ser variáveis, mas é atribuída alguma preferência à presença de vegetação moderada (Figura 4). A grande concentração das colónias reprodutoras no mediterrâneo ocidental parece



**Figura 4. Colónia da Ilha Deserta, Faro. Original**

estar relacionada com a baixa salinidade da água, assim como com a riqueza em clupeídeos, que fazem parte importante da dieta desta gaivota (Cramp and Simmons 1983). As colónias são, geralmente, monoespecíficas, mas não raras vezes ocorrem próximas de colónias de LM (Martínez-abraín et al. 2003; Burger et al. 2020). A sua época reprodutiva caracteriza-se por uma chegada aos nichos reprodutivos entre fevereiro e meados de abril, e postura na segunda metade de abril até ao início de maio (del Hoyo et al. 1996), com uma média de 3 ovos por casal (Burger et al. 2020; Vulcano

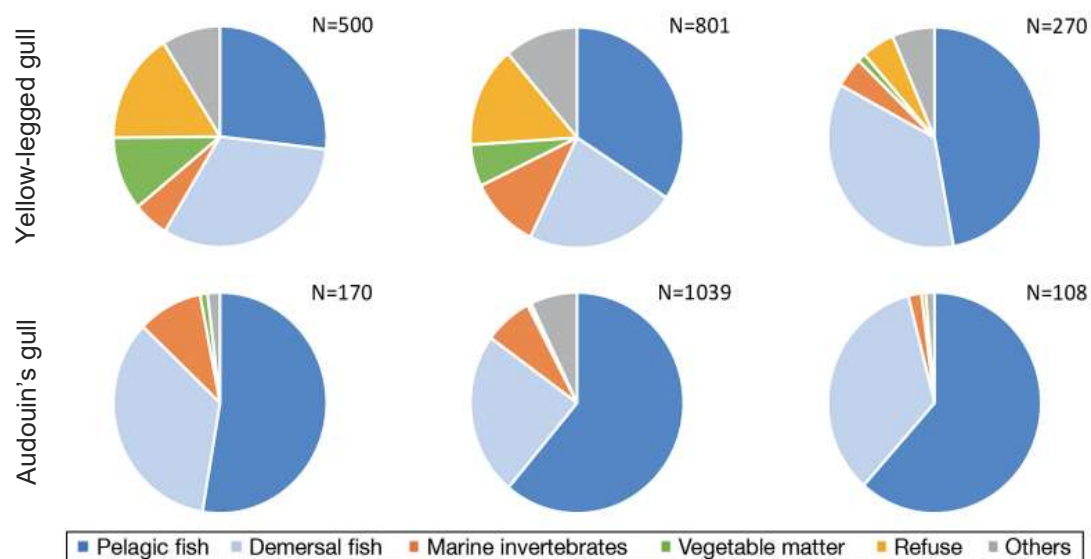
2021). O pico de nascimentos dá-se no final de maio (del Hoyo et al. 1996), e o “fledging” nas primeiras duas semanas de julho (BirdLife International 2020).

Após a época reprodutiva, as aves tendem a dispersar-se ao longo de toda a bacia mediterrânica, com a grande maioria dos juvenis, e alguns adultos, a migrar, entre julho e outubro, através do estreito de Gibraltar, para passar o inverno no Norte de África (del Hoyo et al. 1996; Olsen and Larsson 2003). Algumas aves, contudo, passam o inverno no Mar Egeu e na Turquia (Burger et al. 2020; Vulcano 2021), assim como no Algarve (Leal and Lecoq 2006). A colónia, geralmente, retorna ao mesmo local de reprodução, desde que neste se tenha verificado sucesso reprodutivo (BirdLife International 2020).

No que toca ao comportamento alimentar, a espécie é considerada como especialista na caça noturna de peixes epipelágicos (especialmente clupeiformes, como a sardinha, a anchova e o arenque) (Pedrocchi et al. 2002; Mañosa et al. 2004; Burger et al. 2020; Vulcano 2021). Contudo, dados de outros trabalhos confirmam um comportamento alimentar mais flexível (Oro 1995; Oro, Jover, et al. 1996; Pedrocchi et al. 2002), que terá contribuído para o grande sucesso reprodutivo observado em algumas colónias (Oro 1995; Mañosa et al. 2004; Gutiérrez and Guinard 2008). Pedrocchi et al. (2002) estudaram as diferenças no comportamento alimentar entre as LA das colónias do Delta do Ebro e das Ilhas Chafarinas entre 1980 e 2010, e concluiu que o comportamento alimentar das aves dependia do tipo e da intensidade da atividade pesqueira da região: no Ebro, onde a frota pesqueira de arrasto era muito maior, observou-se um maior consumo de peixes mesopelágicos e bênticos. Por outro lado, nas ilhas Chafarinas, a fonte alimentar principal eram as espécies epipelágicas, apanhadas naturalmente pelas gaivotas, ou em associação com a pesca de cerco noturna. Oro (1995) já havia demonstrado a grande dependência das descargas da pesca de arrasto, identificando espécies bênticas e mesopelágicas em 68% dos conteúdos regurgitados pelas aves durante a atividade das frotas de arrasto; durante as moratórias sobre a pesca de arrasto observou-se uma adaptação das gaivotas, que adotaram comportamentos oportunistas como o cleptoparasitismo (em que um indivíduo se apropria dos recursos recolhidos por outro, sem oferecer nada em troca) inter- e intraespecífico, e a procura de alimento em zonas costeiras e interiores, como pântanos, lixeiras e campos de arroz (Oro, Jover, et al. 1996). Durante estes períodos, tornaram-se importantes fontes de alimento alternativas, como o lagostim-vermelho-do-Louisiana (*Procambarus clarkii*) (Gutiérrez and Guinard 2008).

Em Portugal, na ilha Deserta, as colónias de LA e de LM ocorrem em simpatria na época reprodutiva (Martínez-abraín et al. 2003; Calado et al. 2018; Matos et al. 2018; Calado et al. 2021). Calado et al. (2018) demonstraram que, durante a época de

reprodução, existe alguma sobreposição na composição da dieta das duas espécies, sendo o peixe o principal constituinte das egagropilas destes animais. Contudo, ao contrário do que acontece com as LM da região, as LA nesta colónia comportam-se como especialistas na captura de espécies pelágicas, principalmente *Scomberesox saurus*, um peixe que não é alvo da indústria pesqueira, nem faz, normalmente, parte das descargas pesqueiras nesta área. Por outro lado, um estudo mais recente (Calado et al. 2021) veio a identificar, na LA, uma relação positiva entre o tipo de espécies consumidas e as descarregadas nos portos, à semelhança do observado na LM (Figura 5) (Calado et al. 2018; Calado et al. 2021). No caso da LA, esta associação evidencia que, na colónia da ilha Deserta, as aves também consomem espécies mesopelágicas e algumas espécies demersais, que são descarregadas nos portos, fazendo a sua pesquisa de alimento em associação com a atividade pesqueira, em paralelo com o seu comportamento especialista (Calado et al. 2018; Calado et al. 2021). Calado et al. (2021) lança a possibilidade da associação com as descargas ou com a pesca de cerco poder facilitar também a caça de *Scomberesox saurus*.



**Figura 5. Composição da dieta (com base em análise de regurgitados) de gaivotas-de-patas-amarelas e de gaivotas-de-audouin, da Ilha Deserta, durante os períodos pré-reprodutivo, reprodutivo e pós-reprodutivo. Adaptado de Calado et. al (2021)**

Fora da época de reprodução, existe separação do nicho isotópico das duas espécies, com a LM, invernante, a apresentar um comportamento mais generalista e a recorrer a fontes alimentares alternativas, enquanto, a LA, que migra para sul, mantém o seu comportamento alimentar especialista (Calado et al. 2016; Calado et al. 2018).

No que toca à conservação da gaivota-de-audouin em Portugal, estão a ser tomadas diversas medidas, inseridas num programa de conservação, o LIFE Ilhas Barreira (LIFE18/NAT/PT/000927), com vista à atenuação das possíveis ameaças.

### **3.2.2. Principais ameaças à espécie**

Segundo Serafini e Lugarini (2014), as principais ameaças atuais às colónias de aves de ambientes marinhos incluem: a) a chegada e invasão por animais exóticos, introduzidos de forma acidental ou intencional nas colónias; b) a atividade humana e interação com o homem, destacando-se a captura acidental na pesca industrial; c) a exploração direta das aves, para obtenção de penas, ovos ou carne; d) a poluição dos oceanos, que pode culminar em petrolização e ingestão de plásticos; e) o incremento da competição intra- e interespecífica por recursos; e f) as doenças infecciosas (parasitárias, bacterianas, fúngicas, virais). As principais ameaças para a LA nomeadas pela IUCN (BirdLife International 2020) incluem a invasão das colónias por predadores (mamíferos), o *bycatch* em pesca de palangre, e a redução na disponibilidade de recursos, pelas moratórias aplicados sobre as descargas pesqueiras.

#### **3.2.2.1. Traumatismo**

Em aves marinhas, as causas de traumatismo incluem acidentes e desorientação em voo resultantes de condições meteorológicas adversas (e.g., tempestades, ventos fortes, neblina e nuvens baixas) (Serafini and Lugarini 2014), emaranhamento em linhas de pesca, e ingestão de linhas ou anzóis (Pokras 1996; Ball 2003; Cooke 2003; Keeble 2003; Serafini and Lugarini 2014). Num estudo que pretendeu avaliar a relação entre a atividade da pesca de arrasto, e o *bycatch* de aves marinhas (nomeadamente na cagarra-do-mediterrâneo (*Calonectris diomedea*)) na pesca de palangre no mediterrâneo, Laneri et al. (2010) concluíram que o *bycatch* aumentava quando a frota da pesca de arrasto não atuava, por exemplo, durante as moratórias, fins-de-semana e feriados (em que as aves tinham de procurar fontes alimentares alternativas, sendo atraídas pelos iscos de anzóis). Perceberam, também, que o *bycatch* era mais elevado nos períodos de maior necessidade energética das aves, como no período que antecedia a época reprodutiva e no período de cuidado das crias. Finalmente, o número de capturas aumentava quando as linhas eram colocadas durante o período crepuscular, período de maior atividade da cagarra-do-mediterrâneo (Laneri et al. 2010).

No caso da LA, pode ser importante considerar outros momentos, uma vez que é uma espécie especializada na pesca noturna. Laneri et al. (2010) identificaram a LA

como a segunda mais contabilizada presa nas linhas (20,2%), apenas ultrapassada pela cagarra-do-mediterrâneo (58,6%).

Os traumatismos em resultado da interação com as hélices de barcos são também comuns (Ball 2003); lesões resultantes do disparo de armas de fogo (Pokras 1996; Keeble 2003), ou do contacto com linhas elétricas (frequentemente associado a eletrocussão), podem também ocorrer (Serafini and Lugarini 2014). A manutenção inadequada de aves marinhas em cativeiro também pode induzir traumatismos físicos crónicos de baixo impacto, como pododermatites (Serafini and Lugarini 2014).

Os sinais clínicos apresentados são variáveis e dependem da natureza da lesão, mas, de uma forma geral, o animal tende a ser apresentado debilitado, sem conseguir alcançar voo, e, eventualmente, em estado de choque ou morto (Pokras 1996; Serafini and Lugarini 2014).

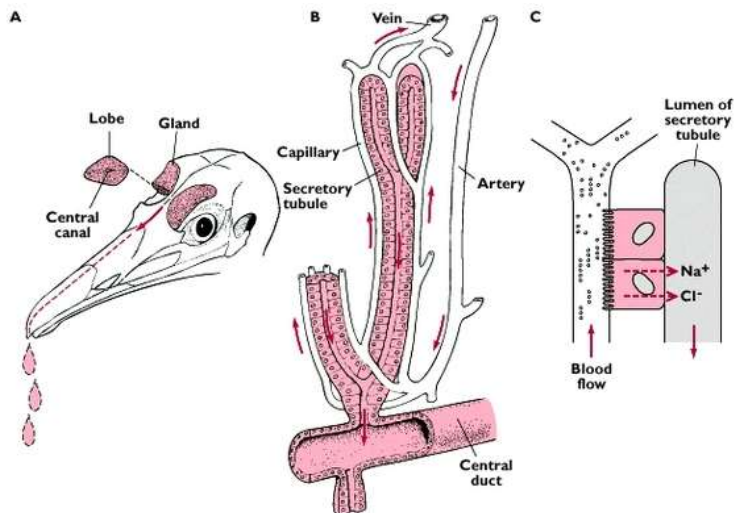
### **3.2.2.2. Desidratação / Debilidade**

As aves marinhas enfrentam desafios adicionais nos seus processos de osmorregulação. A ingestão de quantidades excessivas de eletrólitos, veiculados na água e alimentos de ambientes marinhos e estuarinos, gera a necessidade de mecanismos de excreção deste excesso de sal pelos rins e pela glândula do sal. (Simon 1981; Pokras 1996).

O sistema urinário das aves apresenta importantes variações em relação ao dos mamíferos (Lierz and Vet 2003), podendo identificar-se um sistema porta-renal (que não ocorre nos mamíferos) que inclui uma válvula localizada na veia ilíaca comum que controla o fluxo de sangue venoso até ao rim. Quando a ave está em repouso, a válvula encerra-se e o sangue venoso é direcionado para o rim. Quando a válvula se abre, o sangue venoso faz *bypass* ao rim, sendo, diretamente, direcionada para a veia cava caudal. No rim das aves, existem dois tipos de nefrónios: os de tipo reptiliano (>90%), que ocorrem no córtex renal e que se caracterizam por glomérulos pequenos e ausência de ansa de Henle, e os do tipo mamífero (<10%), que apresentam longas ansas de Henle, que atingem a medula. O principal metabolito do metabolismo azotado nas aves é o ácido úrico, que é excretado para os túbulos renais, onde se junta ao filtrado glomerular (Lierz and Vet 2003).

Estas características diminuem a capacidade de concentração de urina em relação aos mamíferos (Simon 1981; Lierz and Vet 2003). Assim, algumas aves, como as aves marinhas e costeiras, respondem ao stress osmótico acrescido através de um

órgão osmorregulador adicional, par, de localização supraorbital: a glândula do sal (Figura 6). Estimulada pelo sistema nervoso parassimpático e pelo eixo adenohipófise – adrenocortical, esta glândula produz, em condições de pressão osmótica elevada, uma secreção hiperosmótica, rica em cloreto de sódio



**Figura 6. Glândula do sal - anatomia e fisiologia. Fonte: Website Extrarenal Osmoregulation (<https://extrarenal-osmoregulation.weebly.com/seagull.html>)**

(NaCl) (Simon 1981; Pokras 1996). Alguns poluentes ambientais, como frações de petróleo e pesticidas, e a toxina botulínica, são capazes de afetar o funcionamento da glândula. A atrofia da glândula pode, ainda, ocorrer quando os animais são mantidos em cativeiro durante um período considerável, apenas com acesso a água doce (Pokras 1996; Keeble 2003).

Segundo Pollock (2006), a desidratação é uma causa importante de doença renal. Uma ave desidratada pode reabsorver até 99% da água tubular renal, causando acumulação dos cristais de ácido úrico nos túbulos renais - devido à ausência de um fluxo de urina (Lierz and Vet 2003) – e causando impactação dos túbulos renais e ureteres, que pode conduzir a insuficiência renal (Pollock 2006). Quando a solubilidade plasmática do ácido úrico é ultrapassada, este pode depositar-se em diversos tecidos sob a forma de cristais (tufos) de ácido úrico, num fenómeno denominado ‘gota’ (Lierz and Vet 2003).

Outras causas podem conduzir a insuficiência renal, e a consequente desequilíbrio osmótico incluem neoplasias renais, causas nutricionais (excesso de proteína na dieta, hipovitaminose A, hipervitaminose D), inflamação (ex.: amiloidose), agentes infecciosos, toxinas (ex.: chumbo, flunixin meglumina), e doenças pós-renais (ex.: urolitíase) ( Pollock (2006).)

Segundo Lierz e Vet (2003), a gota deve ser encarada como um sinal de falência renal e não como uma doença. A gota pode apresentar-se sob dois padrões: gota visceral e gota articular. No primeiro caso, observa-se deposição de cristais de urato nas membranas viscerais, especialmente do pericárdio, fígado e baço, assim como no parênquima renal. A evolução da doença pode ser aguda, com uma morte rápida sem sinais clínicos perceptíveis, ou ser precedida de estados de anorexia e letargia (Lierz and

Vet 2003; Pollock 2006) . Por sua vez, a gota articular corresponde à deposição de cristais de urato nas articulações, com maior incidência na articulação metatarsofalângica. Os sinais clínicos associados são relutância no movimento, apoio alternado num só membro, claudicação e tumefação articular (Lierz and Vet 2003; Pollock 2006).

Uma vez em alto mar, as aves de ambiente marinho e costeiro, especialmente juvenis, podem desenvolver processos de emaciação e desidratação, como resultado da sua vulnerabilidade a fenómenos climatéricos adversos, como as tempestades. A ausência de recursos alimentares em mares distróficos é, também, um fator importante a considerar (Keeble 2003; Serafini and Lugarini 2014).

No caso da LA, quando se fala em estados de caquexia e desidratação, há que ter em conta a importância que a indústria pesqueira tem na alimentação da espécie - fenómeno também registado em Portugal (Calado et al. 2021), e o histórico de declínio populacional registado aquando da aplicação de moratórias sobre essa indústria (Oro 1995; Oro, Jover, et al. 1996). De acordo com a BirdLife International (2020), a nova política europeia das pescas, que teve implementação total em 2019, e que, entre outras medidas, proíbe as descargas em alto mar e obriga à descarga do peixe capturado em terra (União Europeia 2015), pode implicar uma redução do alimento disponível, podendo conduzir a declínios populacionais. Estas preocupações foram partilhadas por outros autores, que consideraram pertinente uma contínua monitorização da espécie (Calado et al. 2018; Calado et al. 2021).

### **3.2.2.3. Interações interespecíficas – Predação e Cleptoparasitismo**

As gaivotas são animais gregários que experienciam uma grande variedade de relações inter- e intraespecíficas, especialmente durante a época reprodutiva, quando partilham o habitat e os recursos alimentares com outras espécies. Dentre estas interações podem identificar-se comportamentos de dominância, como o cleptoparasitismo (roubo de alimentos de uma espécie por outra) e a predação, frequentemente exercidos pelas espécies de maior dimensão sobre as espécies de mais pequena dimensão. De acordo com um estudo das colónias do Delta do Ebro, Ilhas Chafarinas e Ilhas Columbretes, levado a cabo por Martínez-abraín et al. (2003), que avaliou o cleptoparasitismo e a predação de ovos e crias de LA por LM, concluiu-se que este tipo de interações não representava uma ameaça ao sucesso reprodutivo da espécie em nenhuma das três colónias, e que a frequência deste tipo de interações era menor do que aquele observado para outras espécies de aves marinhas. Na colónia da

Ilha Deserta ainda não foram realizados estudos sobre o impacto do cleptoparasitismo e da predação interespecífica.

Oro et al. (1996) e Martínez-abraín et al. (2003) relacionaram a dimensão das interações com o rácio do número de gaivotas das duas espécies presentes na colónia durante a época reprodutiva, hipótese sustentada pelos resultados do trabalho de aumentando com o aumento do rácio LM : LA; a disponibilidade de recursos alimentares, assim como as exigências energéticas parecem ser também fatores determinantes. Oro e Martinez-Vilalta (1994) identificaram um maior grau de interações na colónia do Delta do Ebro durante os períodos em que a moratória estava em vigor, assim como durante os períodos da época reprodutiva da LM em que as necessidades energéticas eram também maiores. As características e organização do habitat parecem ser também importantes, tendo sido identificado um maior grau de predação aquando de uma menor densidade de ninhos (Martínez-abraín et al. 2003).

Apesar de Martínez-abraín et al. (2003) apontarem para a disponibilidade alimentar como o fator determinante na ocorrência das interações, justificando que não existem dados suficientes que sustentem a occisão (morte provocada) de LM, com o objetivo de reduzir o rácio LM : LA, como medida justificável, o recurso à occisão tem produzido resultados importantes em algumas situações (Martínez-abraín et al. 2003; Paracuellos and Nevado 2010).

#### **3.2.2.4. Doenças Infeciosas e Parasitárias**

As aves marinhas podem ser afetadas por diversas doenças infecciosas. No âmbito deste estudo, incidiremos, principalmente, nas infeções parasitárias, em que podem participar agentes como céstodes, nemátodos, acantocéfalos, trematódes, e ectoparasitas (Ball 2003; Keeble 2003; Serafini and Lugarini 2014). Os rastreios parasitológicos levados a cabo na LA são escassos. Um trabalho levado a cabo por Roca et al. (1999), nesta espécie, identificou 9 espécies de helmintes intestinais: 5 Digenea (*Cardiocephalus longicollis*, *Knipowitschiatrema nicolai*, *Condylocotyla pilodora*, *Acanthotrema armata*, *Aporchis massiliensis*), 2 Cestoda (*Cyclophyllidea f. gen. sp.*, *Tetrabothrius cylindraceus*) e 2 Nematoda (*Cosmocephalus obvelatus*, *Paracuaria adunca*). Lafuente e Carbonell (1998) levaram a cabo um rastreio na colónia das Ilhas Chafarinas, listando todos os trematodes encontrados: *Ornithobilharzia* sp., Schistosomatinae gen. Sp, *Pachytrema calculus*, *Renicola lari*, *Brachylecithum microtesticulatum*, *Condylocotyla pilodora*, *Knipowitschiatrema nicolai*, *Cardiocephalus longicollis*, *Acanthotrema armata*, *Aporchis massiliensis*.

### 3.3. Metais

#### 3.3.1. Metais e Metais Pesados – uma definição

De entre os elementos químicos passíveis de serem classificados como metais, alguns são frequentemente classificados como “metais pesados”. Este termo tem sido definido de diversas formas, como apontado por Ansari et al. (2003): algumas definições apontam para que o grupo dos metais pesados inclua todos os metais com uma densidade relativa igual ou superior a 5 (Lapedes 1974), outras para uma densidade igual ou superior a 4 (Van Nostrand International Encyclopedia of Chemical Science 1964). Uma outra definição possível é o de elementos químicos que se encontram no bloco retangular da tabela periódica flanqueado pelo titânio (Ti), háfnio (Hf), arsênio (As) e bismuto (Bi), ao qual se acrescentam dois não metais, o selênio (Se) e o telúrio (Te) (Burrel 1974). Outros autores consideraram ainda como metais pesados todos os elementos classificados como metais que, na tabela periódica, se encontram para lá do cádmio (Venugopal and T. P. 1975). Não raras vezes, o termo é ainda utilizado quando se identificam propriedades de toxicidade elevada para um elemento metálico (Ansari et al. 2003).

Assim, este trabalho segue a proposta de Nieboer e Richardson (1980), utilizando uma classificação dos metais baseada nas preferências de ligação dos respetivos iões metálicos ao Oxigénio (O-), Azoto (N-) ou Enxofre (S-), que divide os metais em três classes: Classe A (ligação preferencial ao oxigénio) – metais alcalinos, metais alcalinoterrosos, lantanídeos, actinídeos e alumínio; Classe B (ligação preferencial ao azoto ou enxofre) –  $\text{Cu}^+$ , Rh, Pd,  $\text{Ag}^+$ , Ir,  $\text{Pt}^{2+}$ ,  $\text{Au}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Tl}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{\text{IV}}$ ,  $\text{Bi}^{3+}$ ; e Borderline (ou intermédios) – compreende a primeira linha dos metais de transição, no seu estado de oxidação, também o  $\text{Ga}^{3+}$ ,  $\text{In}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , e o hidrogénio ( $\text{H}^+$ ), assim como os metalóides As e Sb.

Alguns metais ocorrem naturalmente no ambiente, sendo essenciais para o funcionamento normal dos organismos, denominando-se metais essenciais (Ansari et al. 2003; Lopes et al. 2022). Nos animais, os metais essenciais são: cálcio (Ca), crómio (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), ferro (Fe), potássio (K), magnésio (Mg), manganês (Mn), molibdénio (Mo), sódio (Na), níquel (Ni), silício (Si), estanho (Sn), vanádio (V), arsênio (As) e zinco (Zn) (Ansari et al. 2003). O potencial tóxico atribuído a estes metais é, muitas vezes, subvalorizado; em concentrações atípicas ou excessivas, estes tornam-se problemáticos, pelo que a monitorização das suas concentrações é também de extrema importância (Ansari et al. 2003; Lopes et al. 2022). Em oposição, temos os metais não essenciais, tóxicos mesmo em muito baixas concentrações, como o Pb, Cd e Hg (Ansari et al. 2003; Lopes et al. 2022).

### **3.3.2. Os metais enquanto poluentes ambientais**

Os metais, pela sua vasta distribuição e disponibilidade, toxicidade e biomagnificação, constituem uma fonte importante e preocupante de poluição dos ecossistemas (Burger and Gochfeld 2000; Iyer et al. 2005; Streets et al. 2009; Lamborg et al. 2014; Aryal and Liakopoulou-Kyriakides 2015; Alvarez et al. 2017; Mohapatra et al. 2018). Esta poluição pode definir-se como de origem natural (e.g., por fenómenos geológicos) ou como de origem antropogénica, podendo identificar-se, dentro desta última, três setores de extrema importância: a industrialização, a urbanização e a agricultura (Burger and Gochfeld 2000; Ramos et al. 2013; Alvarez et al. 2017; Mohapatra et al. 2018).

Algumas indústrias provocam poluição direta do ambiente por metais, disponibilizando e libertando estes elementos para o ambiente aquando da sua operação, como é o caso da indústria mineira e metalúrgica (Alvarez et al. 2017; Mohapatra et al. 2018). Outras, por seu turno, provocam poluição indireta do ambiente pela queima de combustíveis fósseis durante a sua operação (Wuana and Okieimen 2011); é o caso da indústria têxtil e de curtumes, uma fonte importante de poluição dos ecossistemas aquáticos (Bhuiyan et al. 2010). No setor agrícola, através do uso de fertilizantes, pesticidas e corretores das propriedades químicas do solo, libertam-se também metais que poluem os ecossistemas (Wuana and Okieimen 2011; Alvarez et al. 2017; Mohapatra et al. 2018). Finalmente, a urbanização resulta na produção de grandes quantidades de resíduos e desperdício ricos em diversos metais. Os metais persistem no meio ambiente, podendo ser alvo de processos de bioacumulação e biomagnificação nos organismos e nas cadeias tróficas, respetivamente (Mohapatra et al. 2018).

A maior preocupação associada à poluição dos ecossistemas marinhos com metais prende-se com o seu efeito tóxico, que se pode manifestar tanto em organismos que integram esses ecossistemas (e.g., aves marinhas), como noutros que, não os integrando, se relacionam com eles, como é o caso do Homem. Os metais já foram apontados como tendo propriedades tóxicas, neurotóxicas, carcinogénicas, mutagénicas e teratogénicas (Duruibe and Egwurugwu 2007). Segundo Voica et al. (2016), os metais têm a capacidade de promover a disrupção das membranas plasmáticas, a desnaturação do ADN e a alteração da atividade enzimática. Como apontado por Koivula e Eeva (2010), interferem com a atividade de antioxidantes, (e.g., vitaminas e carotenoides) aumentando o stress oxidativo. Nas aves marinhas, a intoxicação por metais pode manifestar-se em efeitos deletérios na reprodução e desenvolvimento das crias, alterações comportamentais, aumento das infeções

parasitárias e diminuição da resposta imune (Lopes et al. 2022). Por exemplo, a contaminação por Pb está associada a redução da condição corporal e a um menor investimento na reprodução.(Lopes et al. 2022)

### **3.3.3. As aves marinhas enquanto bioindicadores da saúde ambiental**

As aves marinhas apresentam um conjunto de características que as torna excelentes bioindicadores da poluição metálica dos ambientes marinhos. Primeiro, são predadores de topo, que ocupam os níveis mais elevados das cadeias tróficas, acumulando e integrando metais por fenómenos de biomagnificação e bioacumulação (Furness and Camphuysen 1997; Arcos et al. 2002; Bocher et al. 2003). Segundo, são organismos altamente estudados e sobre os quais existe bastante informação relativa a fatores que podem influenciar a acumulação de metais, como a esperança média de vida, os comportamentos alimentares, sociais e reprodutivos e, ainda, os padrões de muda e de migração (Furness and Monaghan 1986; Schreiber and Burger 2001).

A posição na cadeia trófica é um fator importante, uma vez que os fenómenos de bioacumulação e biomagnificação estarão sempre dependentes desta: aves que se apresentem em níveis tróficos superiores deverão apresentar maiores níveis de metais acumulados (Bearhop et al. 2000; Anderson et al. 2009). Adicionam-se a isto as preferências alimentares da ave: os peixes bênticos e demersais, pela sua elevada posição na cadeia trófica e por ocuparem os fundos oceânicos, estão mais suscetíveis à acumulação de metais (Naccari et al. 2015), pelo que aves que se alimentam principalmente destas espécies tenderão a apresentar níveis de metais superiores às que se alimentam de espécies pelágicas, ou de fontes alimentares alternativas, que funcionam como tampão à acumulação de grandes quantidades de metais pesados (Arcos et al. 2002; Laranjeiro et al. 2020).

Assim, quando comparamos a acumulação de metais entre a LA e a LM, esperamos uma maior concentração da maioria de metais na LA, que tem um comportamento muito mais especialista, alimentando-se apenas de peixe, com um historial do uso de rejeições de pesca, em comparação com a LM, que recorre a ambientes terrestres e a fontes alimentares alternativas com muito mais frequência (Arcos et al. 2002; Laranjeiro et al. 2020). Contudo, para alguns metais em particular, mais abundantes e disponíveis em ambientes terrestres, como é o caso do Cu, esperam-se níveis mais elevados na LM (Laranjeiro et al. 2020).

Estas previsões foram confirmadas por Laranjeiro et al. (2020), que compararam os níveis de metais – usando penas como matriz analítica - entre as duas espécies de gaivotas que habitam em simpatria a ilha Deserta.

A idade também condiciona as concentrações de metais acumulados. De um modo geral, pode afirmar-se que as concentrações de metais aumentam com a idade, por fenómenos de bioacumulação (Barbieri et al. 2010; Carravieri et al. 2014). Contudo, em crias, pode verificar-se uma tendência inversa, uma vez que metais essenciais acumulados são incorporados em tecidos e penas durante o desenvolvimento, e metais não essenciais acumulados durante o período de ovo veem a sua concentração diluída pelo aumento da massa corporal e pela excreção nas penas em desenvolvimento (Paiva et al. 2008; Kim et al. 2010; Ackerman et al. 2011; Lerma et al. 2020).

O sexo também constitui um fator importante, uma vez que, durante a época reprodutiva, as concentrações de metais em fêmeas diminuem devido à excreção de metais para o ovo (Monteiro and Furness 1995; Ramos, González-Solís, et al. 2009). Este fenómeno pode ser amplificado por estratégias alimentares diferentes entre os sexos, favorecendo a acumulação de metais em machos (González-Solís et al. 2002; Carvalho et al. 2013; Tavares et al. 2013; Bustamante et al. 2016).

A concentração de metais acumulados também depende de fatores ambientais, como a localização geográfica, os ciclos ecológicos e a presença ou ausência de correntes, que condicionam a disponibilidade dos metais no ambiente (Furness and Camphuysen 1997; González-Solís et al. 2002; Ramos, González-Solís, et al. 2009).

### **3.3.4. Métodos de monitorização de metais**

Para avaliar a concentração de metais pesados em aves marinhas podem utilizar-se diversas matrizes analíticas: órgãos internos (e.g. coração, fígado, rim), penas, ovos, sangue, osso, ou fezes (Mukhtar et al. 2020; Lopes et al. 2022). A escolha de matriz depende de fatores como a espécie de ave, o metal pesado a pesquisar e a sua cinética na ave, e as limitações associadas a cada matriz (Mukhtar et al. 2020; Lopes et al. 2022).

A utilização de tecidos internos para quantificação de metais tem sido utilizada para avaliar a acumulação destes elementos em aves marinhas (Gochfeld et al. 1996a; Monteiro et al. 1998; Burger and Gochfeld 1999). Apesar de constituírem uma matriz adequada, os tecidos internos apresentam limitações associadas, implicando, frequentemente, o sacrifício do animal (Monteiro and Furness 1995); em casos em que provêm de animais mortos, torna-se, muitas vezes, difícil recolher informação importante, como a causa e circunstâncias da morte (Lopes et al. 2022).

O recurso a ovos, penas ou sangue parece permitir ultrapassar as questões de ética e acessibilidade, porém, nenhuma destas matrizes alternativas é perfeita. No caso das penas, por exemplo, surge o problema de eventuais contaminações externas ambientais (Furness and Camphuysen 1997). Por outro lado, as concentrações de metais nas penas refletem as suas concentrações no organismo durante a altura de formação da pena (Goede and De Bruin 1986) - quando os metais com origem na água de bebida ou alimento, ou mobilizados a partir dos tecidos, são transportados até à pena via aporte sanguíneo (Braune and Gaskin 1987; Walsh 2018) - o que implica conhecer o ambiente da ave na altura de formação da pena (Burger and Gochfeld 1999).

Os ovos apenas permitem avaliar a contaminação por metais em fêmeas (Monteiro and Furness 1995), e só refletem a contaminação relativa aos períodos de pré-postura e postura (Albert et al. 2019). Quando na presença de uma técnica de deteção de elevada sensibilidade, o sangue parece ser uma boa opção, não estando sujeito a contaminações externas e fornecendo informação importante sobre o estado atual e pontual de contaminação, refletindo os metais de origem alimentar e mobilizados a partir dos tecidos (Monteiro and Furness 1995; Albert et al. 2019). Contudo, a obtenção de amostras de sangue exige a captura e contenção de animais vivos (Lopes et al. 2022).

Assim, é difícil nomear uma matriz analítica preferencial, até porque a cinética de cada metal no organismo é variável. Por exemplo, nos seus trabalhos com a galinha-d' água-de-peito-branco (*Amaurornis phoenicurus*) e com a galinha d'água (*Gallinula chloropus*), em Taiwan, Mukhtar et al. (2020), identificaram uma afinidade do Pb para o tecido ósseo. Cd e Cu acumulam-se principalmente no fígado e rim, enquanto o Zn acumula essencialmente no fígado; por seu turno, as penas foram identificadas como uma matriz fiável para a pesquisa de As, Ni, Cr e Pb.

Na LA, a pesquisa de metais pesados tem sido essencialmente feita em matrizes alternativas (e.g. penas, ovos), em alternativa aos órgãos internos (Ayas et al. 2008; Espín et al. 2016; Bianchi et al. 2018; Laranjeiro et al. 2020).

## **4. Material e Métodos**

### **4.1. Objetivo do estudo**

A bibliografia científica disponível acerca das dinâmicas populacionais e da caracterização sanitária das populações conhecidas de LA permanece limitada. A recente expansão da colónia nacional e os relatos do aumento exponencial de ingressos em centros de recuperação justificam o estudo da colónia portuguesa da LA, com a intenção de aumentar o conhecimento científico disponível acerca desta população. Para este efeito, os objetivos deste estudo são: 1) caracterizar os ingressos da LA no centro de recuperação que atua na região onde se insere a colónia, entre os anos de 2010 e 2023 e fazer o levantamento de alterações patológicas registadas; 2) comparar o ritmo de evolução da colónia com o ritmo de evolução dos ingressos no centro; 3) identificar e quantificar os níveis de metais contaminantes nos tecidos de LA e de LM da colónia, estudando tendências de acumulação inter- e intraespecíficas.

### **4.2. Origem da população - Centro de Recuperação (RIAS)**

Para a caracterização da população em estudo, foi utilizada a base de dados do RIAS - Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa -, onde se encontram informações sobre todos os animais ingressados no centro.

O RIAS funciona há mais de 40 anos, estando sediado no Parque Natural da Ria Formosa (PNRF). Desde 2009, o RIAS é gerido pela associação ALDEIA, sob supervisão do Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF), integrando, desde 2012, a Rede Nacional de Centros de Recuperação para a Fauna (RNCRF). Podem identificar-se como principais entidades/fundos financiadores do centro a ANA Aeroportos de Portugal, SA, e o Fundo Ambiental (RIAS 2024).

Enquanto centro de recuperação, o RIAS atua na recuperação e reintrodução na natureza de animais selvagens doentes ou debilitados em várias vertentes: a) como hospital de fauna selvagem; b) na investigação; c) na vigilância sanitária; e d) na educação ambiental.

O RIAS é, em todo o território nacional, o Centro que tem registado o maior número de animais ingressados por ano, com 2529 animais de 129 espécies representadas em 2023. A ordem Charadriiforme é a mais representada, com a LM a ser a espécie com maior percentagem de ingressos (27% dos ingressos em 2023), seguida da gaivota-d'asa-escura (8% dos ingressos em 2023). A principal causa de ingresso registada foi o Traumatismo (19%), seguido do Síndrome Parético (18,7%), e da Queda do Ninho/Orfão (17%) (RIAS 2024).

O RIAS é o único centro que atua na região do Algarve, recebendo animais de uma área vasta, que inclui a Ilha Deserta, onde se situa a maior colónia reprodutiva mundial da LA. Tem tido um papel importante no projeto LIFE Ilhas Barreiras (LIFE18/NAT/PT/000927), que, entre outros objetivos, visa a conservação desta espécie (RIAS 2024).

### **4.3. Caracterização da população em estudo**

Aquando do ingresso no centro, os animais são numerados para efeitos de identificação interna, permitindo o acesso ao histórico de cada animal, através da base de dados interna do centro.

No caso das LA, a base de dados do RIAS possui informação de casos que remonta até ao ano de 2010, pelo que se fez um levantamento de informação sobre todas as LA ingressadas desde o início desse ano até ao final do ano de 2023. As aves foram classificadas e separadas com base nos seguintes parâmetros: 1) ano de ingresso; 2) idade; 3) sexo; 4) causa de ingresso; 5) origem geográfica;

Quanto à variável idade, através da avaliação de características biométricas e da plumagem, definiram-se quatro grupos etários: cria (até 1 / 2 meses), juvenil (1 / 2 meses – 1 ano), subadulto (1 ano – 3 anos) e adulto (a partir dos 3 anos)

Dada a ausência de dimorfismo sexual, e como a sexagem molecular não é realizada por rotina nos centros de recuperação, só puderam ser classificados como machos e fêmeas as aves submetidas a necropsia (pela observação direta das gónadas). Todas as outras aves foram automaticamente classificadas como de sexo indeterminado.

Relativamente à causa de ingresso, foram consideradas as 23 possíveis categorias estabelecidas pelo RIAS: 1) afogamento; 2) arame farpado/vedação; 3) atropelamento; 4) captura acidental (animais encontrados em locais impróprios, como chaminés, estradas...); 5) captura ilegal (animais apreendidos/capturados com fins comerciais); 6) cativo ilegal; 7) colisão com estruturas (janelas, edifícios, carros, eólicas ...); 8) colisão com linha elétrica; 9) debilidade/desnutrição; 10) doença; 11) eletrocussão; 12) intoxicação/envenenamento; 13) laço/armadilha; 14) petroleada/conspuração; 15) poço/piscina/outro (animal encontrado preso); 16) predação; 17) queda de ninho/órfão; 18) rede/fio/anzol; 19) síndrome parética; 20) tiro; 21) traumatismo; 22) ingresso indevido (animal capturado e ingressado sem necessidade); 23) desconhecido.

Quanto à variável da origem geográfica, foram considerados os concelhos e freguesias de onde se fez o resgate das diferentes aves, de forma a tentar pesquisar eventuais pontos problemáticos.

#### **4.4. Recolha de dados relativos à anatomo- e histopatologia**

Para uma melhor caracterização da população em estudo, procedeu-se à recolha de informações relativas aos achados de necrópsia e às análises histopatológicas realizadas a animais necropsiados, que estavam, na sua maioria, presentes na base de dados previamente mencionada. Contudo, uma vez que o estudo decorreu durante o ano de 2023 (entre 3 de agosto e 14 de dezembro), alguns dos animais incluídos no estudo só ingressaram no centro durante este período. Nestes casos, foi o autor, sob supervisão de um médico veterinário, quem executou a necrópsia e fez a identificação e registo das alterações anátomo-patológicas.

Sempre que as circunstâncias o permitiram, a necrópsia dos animais mortos ou eutanasiados foi realizada no mesmo dia. Nestes casos, os cadáveres foram refrigerados a 4°C até ao início do protocolo. Nos casos em que tal não foi possível, os cadáveres foram congelados a aproximadamente -20°C, sendo a descongelação posteriormente realizada a uma temperatura de 4°C.

Durante a necrópsia, foram registadas todas as alterações relevantes, externas e internas e, sempre que possível, feita a sexagem pela observação direta das gónadas. De forma a complementar a informação recolhida, em alguns animais foi feita recolha de amostras para histopatologia. Assim, foi decidida a recolha de porções de órgãos vitais (pulmão, coração, fígado, rim) e intestino, assim como de lesões encontradas durante a necrópsia. Em resultado de um reduzido número de LA em bom estado de conservação ingressadas durante o período de estudo, o número de casos elegíveis para histopatologia foi reduzido (n=2).

As amostras para histopatologia foram fixadas em formol a 10% e processadas no laboratório de anatomia patológica da FMV-ULisboa, para inclusão em parafina e preparação de cortes de 3µm corados com hematoxilina-eosina (H&E). Adicionalmente, foram realizadas as colorações histoquímicas de Gram, de Grocott-Gomori (GMS) e de Giemsa. A observação das lâminas e os registos fotográficos efetuados foram feitos com recurso a um microscópio ótico “Olympus DP21”.

#### **4.5. Quantificação de metais contaminantes**

De forma a estudar o nível de contaminação por metais dos órgãos da LA, e de averiguar a influência que os hábitos alimentares têm nesta contaminação, foi protocolada a recolha de amostras de três órgãos (fígado, rim e coração), de LA ingressadas no centro, assim como de LM (que funcionaram como grupo de comparação) também ingressadas no centro, durante o mesmo período.

Para a recolha de amostras, recorreu-se ao banco de tecidos do RIAS, que permitiu a seleção de casos desde o início de 2019 até ao final de 2023. As amostras recolhidas estavam conservadas em arcas frigoríficas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , dentro de sacos de plástico selados e/ou envoltas em papel de alumínio.

As amostras foram recolhidas para recipientes de plástico estanques, com uma capacidade de 20ml, previamente pesados e identificados. Após a recolha, foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Seguidamente, foi registada a massa de cada um dos recipientes contendo as amostras e as mesmas foram rearmazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , aguardando processamento.

As amostras foram colocadas, em 3 lotes de até 90 amostras, num liofilizador, para desidratação, por um período que variou entre as 72 e as 96h, após o qual se registou o peso de cada frasco com a amostra seca.

Seguidamente, foi efetuada a moagem, com recurso a um moinho de café Qilive Q.5321. A moagem foi feita de forma sequencial de acordo com o órgão, com vista a reduzir eventuais contaminações cruzadas. Entre cada órgão moído, foi efetuada lavagem do moinho e de todos os utensílios utilizados, com água e sabão, seguida de desinfeção com álcool etílico a 70%.

Após a moagem, fez-se a pesagem de cerca de 300mg de amostra para frascos de digestão.

Após a pesagem, fez-se o transporte das amostras para o laboratório de análise química e bioquímica de plantas do Departamento de Sistemas e Engenharia de Biosistemas do Instituto Superior de Agronomia – ISA, onde se realizou a restante técnica, aí protocolada:

A cada um dos frascos de digestão com a amostra fez-se a adição de 8 ml de  $\text{HNO}_3$  (70% m/m) e 2 ml de  $\text{HCl}$  (37% m/m). A um tubo de digestão sem amostra fez-se a adição apenas dos ácidos (branco). Da mesma forma, fez-se a adição dos ácidos a um tubo com uma amostra-padrão (NIST Standard Reference Material 1570a– folhas de alface secas e moídas). Os tubos foram deixados numa câmara ventilada durante a noite. No dia seguinte, procedeu-se, imediatamente antes da digestão, à adição de 1 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% m/v) a cada tubo. As amostras foram colocadas a digerir num digestor durante 2 horas: 1h até atingir  $95^{\circ}\text{C}$  e 1h a  $95^{\circ}\text{C}$ . No final, as amostras foram retiradas do digestor e deixadas a arrefecer até à temperatura-ambiente numa câmara ventilada. A digestão foi feita em 6 lotes de até 47 tubos de digestão (45 amostras + 1 branco + 1 padrão).

Após arrefecerem, as amostras foram diluídas com água destilada e seguidamente foram filtradas (papel de filtro de 90 mm) para frascos eláveis. A seguir, fez-se a passagem para tubos de leitura (Figura 7), para que pudessem ser feitas as leituras por Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) - Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente, segundo um painel padronizado para a pesquisa de quinze elementos metálicos e não metálicos,



**Figura 7. Amostras em tubos de ICP, organizadas nas racks. Original**

utilizado por rotina no laboratório (limites de deteção e de quantificação, indicados, por esta ordem, e separados por “;” em mg / Kg, após o nome do elemento, entre parênteses : Na (50; 150), K (50; 150), Ca (7; 20), Mg (7; 20), P (20; 50), S (20; 50), Cu (0,3; 1,0), Zn (0,3; 1,0), Fe (0,3; 1,0), Mn (0,3; 1,0), Cd (0,02; 0,05), Pb (0,2; 0,5), As (0,7; 1,5), Ni (0,7; 2,0), Cr (0,7; 2,0). Apesar de a técnica em uso permitir a análise de todos estes elementos, em simultâneo, o interesse para o presente estudo foca-se apenas no Cu, Zn, Fe, Mn, Cd, Pb, As, Ni e Cr. O estudo da contaminação por mercúrio (Hg), não foi realizado uma vez que, a sua análise não está incluída na técnica em questão, não sendo realizada no ISA.

#### **4.6. Análise de dados**

O registo do ano de ingresso permitiu avaliar a evolução no número de ingressos ao longo dos anos. Esta informação foi depois comparada com informação facultada por grupos de estudo relativa às tendências de crescimento da colónia reprodutiva, recolhida no âmbito do projeto LIFE Ilhas Barreira (LIFE18/NAT/PT/000927), de forma a perceber se a evolução do número de ingressos acompanhava a evolução da população segundo uma mesma tendência. A organização dos dados para caracterização dos ingressos foi feita com recurso às ferramentas do Microsoft Excel.

O tratamento dos dados relativos às concentrações de metais foi feito com recurso à plataforma R. 4. 4. 1. De forma a cumprir com os objetivos do estudo, foram realizados diferentes testes estatísticos. Numa primeira fase, testou-se a normalidade dos grupos a comparar, através de um teste de normalidade Shapiro-Wilk. No caso de comparações entre dois grupos, perante uma distribuição normal, recorreu-se ao teste t de amostras independentes (t), e perante uma distribuição não normal ao teste Mann-

Whitney (U). No caso de comparações entre três ou mais grupos (comparações múltiplas), recorreu-se ao teste de Kruskal-Wallis (H) para comparar medianas de grupos com distribuição não normal, e ao One-Way Anova (F), para comparar médias de grupos com distribuição normal e homocedasticidade (variâncias entre grupos aproximadamente iguais) ou ao Welch's Anova em caso de heterocedasticidade (variâncias entre grupos são diferentes). Na presença de diferenças significativas em comparações múltiplas, recorreu-se, em seguida, a testes post hoc para efetuar comparações emparelhadas, de forma a identificar com que pares de grupos se prendiam estas diferenças: no caso de ter sido realizado o teste de Kruskal-Wallis, seguiu-se, então, o teste Dunn (z) com a correção de Benjamini-Hochberg (BH), e, no caso da realização do Anova, seguiu-se o teste de Tukey (t). Para todos estes testes considerou-se um nível de significância de 95% ( $p = 0,05$ ).

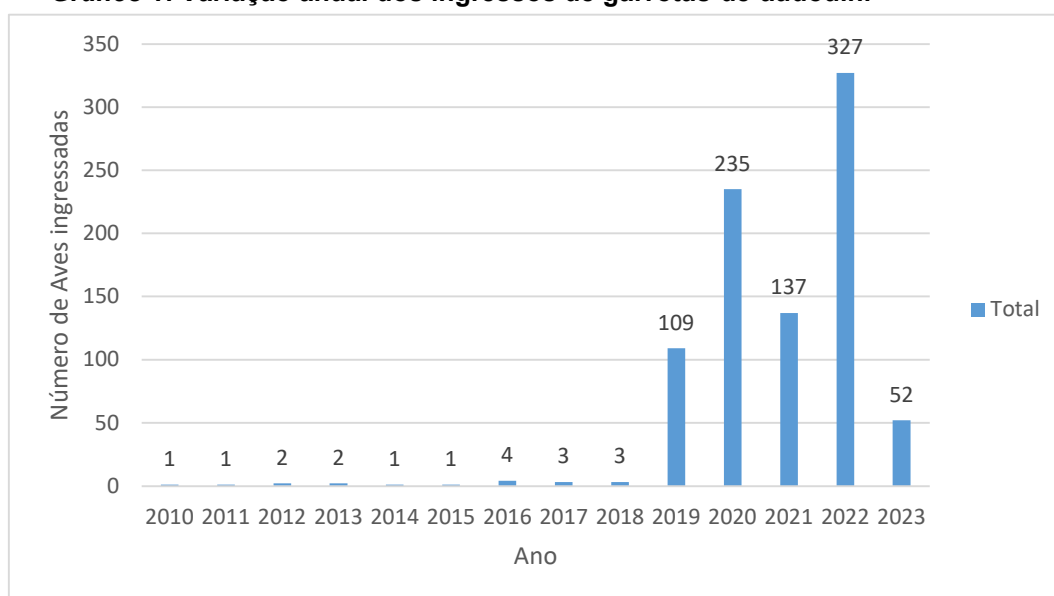
## 5. Resultados

### 5.1. Estudo Populacional

#### 5.1.1. Caracterização de Ingressos

Entre janeiro de 2010 e dezembro de 2023, ingressaram no RIAS 878 gaivotas-de-audouin. No Gráfico 1 pode observar-se a contagem anual do número de LA ingressadas: até 2018, inclusive, observou-se um reduzido número de ingressos, que nunca ultrapassou os 4 animais. A partir de 2019, contudo, registou-se um aumento exponencial dos ingressos, com o registo de 109 animais nesse ano, ao qual se seguiu o ingresso de 235 indivíduos em 2020, 137 em 2021, e 327 em 2022. Em 2023 observou-se uma redução drástica das LA ingressadas, registando-se apenas 52 indivíduos.

**Gráfico 1. Variação anual dos ingressos de gaivotas-de-audouin.**

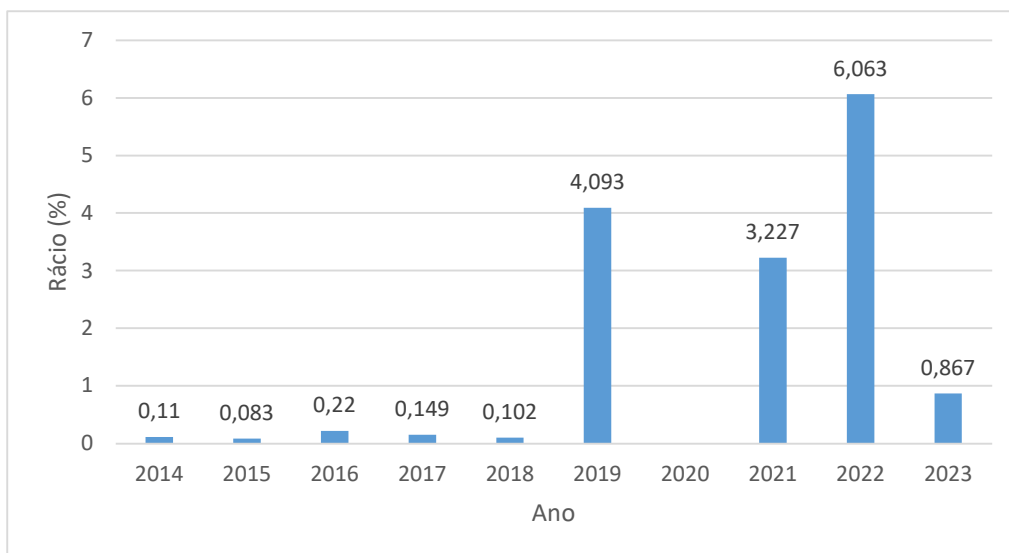


Os dados recolhidos no âmbito do projeto Life Ilhas Barreira (LIFE18/NAT/PT/000927), relativos à dimensão da colónia desde 2014: 900 casais em 2014, 1203 em 2015, 1808 em 2016, 2017 em 2017, 2934 em 2018, 2663 em 2019, 4245 em 2021, 5393 em 2022 e 5996 em 2023 (em 2020 não foi realizado o censo de casais), permitiram o cálculo do rácio ingressos / número de casais desde 2014 (Gráfico 2.).

Em relação ao sexo das gaivotas, registaram-se os ingressos de 17 machos e 28 fêmeas (o reduzido número explica-se pelo elevado número de cadáveres recolhidos em estado de autólise avançada ou mumificação). Todas as restantes LA (833) foram classificadas como sexo indeterminado. Os juvenis constituíram a maioria dos ingressos

(n=771, 87,81%), seguidos das crias (n=68, 7,74%), dos adultos (n=27, 3,08%), e dos subadultos (n=2, 0,23%). Não foi possível determinar a faixa etária de 10 indivíduos.

**Gráfico 2. Rácio ingressos / número de casais de gaivotas-de-audouin da colónia da Ilha Deserta, desde 2014 (%).**



A maioria das gaivotas (n=838 – 96%) foi recolhida no concelho de Faro. Nos restantes concelhos, o número de animais recolhido foi reduzido: 18 gaivotas recolhidas em Olhão, 7 em Tavira, 6 em Loulé, 2 em Castro Marim, Vila Real de Santo António e Albufeira, e uma nos concelhos de Aljezur, Lagoa e Silves (Figura 8).



**Figura 8. Caracterização dos ingressos, com determinação das frequências absolutas segundo o concelho de origem. Adaptado de: <https://www.iberian-escapes.com/algarve-lifestyle-concierge-pt.html>**

Uma vez que a maioria dos animais provinha do concelho de Faro, foi feito o levantamento dos locais de recolha no interior do concelho, e determinadas as frequências absolutas de ingressos associados a cada localização. Das 838 LA recolhidas no concelho de Faro, 610 (73%) provinham da ETAR de Faro/Olhão, 114 (14%) das Salinas de Faro, 89 (11%) da ilha Deserta, 8 da antiga freguesia de São

Pedro (1%) e 7 (1%) da antiga freguesia da Sé, 5 (< 1%) da Ilha do Farol, 3 (< 1%) da Ilha da Culatra e 2 (< 1%) da Praia de Faro (Figura 9).



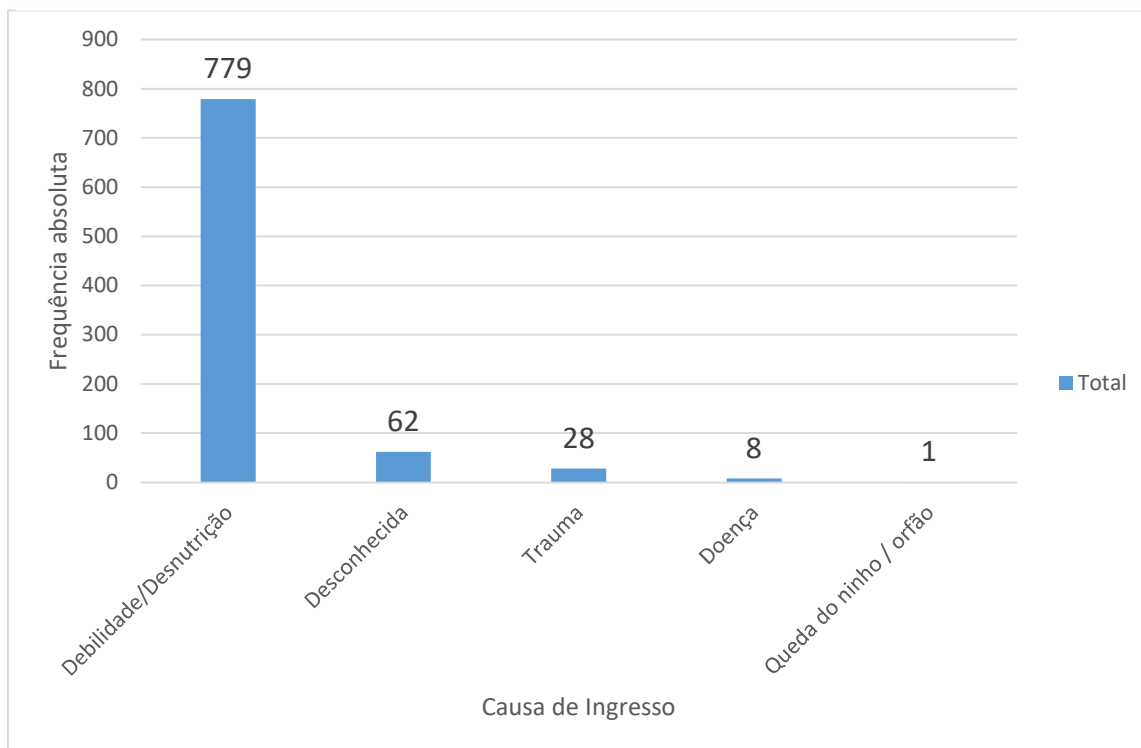
**Figura 9.** Número de gaivotas-de-audouin recolhidas em cada uma das zonas de recolha do concelho de Faro. Adaptado de Google earth

A causa mais frequente de ingresso foi a debilidade / desnutrição, representando 779 dos 878 ingressos (89%). Registaram-se ainda 28 gaivotas ingressadas por traumatismo, 9 das quais por lesão relacionada com rede/ fio /anzol, 8 por doença, 3 das quais por síndrome parética, e uma por queda de ninho / órfão. Em 62 (7%) das 878 LA ingressadas, não foi possível identificar a causa de ingresso (“desconhecida”) (Gráfico 3)

Uma vez que a maioria dos ingressos correspondiam a LA juvenis, com causa de ingresso atribuída a “debilidade / desnutrição” (739 das 838 gaivotas ingressadas) foi explorada a possível associação destes fatores com o local de recolha nestes casos.

De 739 aves, 726 (98%) foram recolhidas no distrito de Faro: 595 na ETAR de Faro / Olhão, 114 nas salinas de Faro, 9 na Ilha Deserta, 4 na antiga freguesia da Sé, 3 na Ilha do Farol e 1 na antiga freguesia de São Pedro (Tabela 1).

**Gráfico 3. Caracterização dos ingressos, com determinação das frequências absolutas, segundo a causa de ingresso.**



**Tabela 1. Caracterização, quanto ao local de origem, das gaivotas-de-audouin juvenis ingressadas por debilidade / desnutrição.**

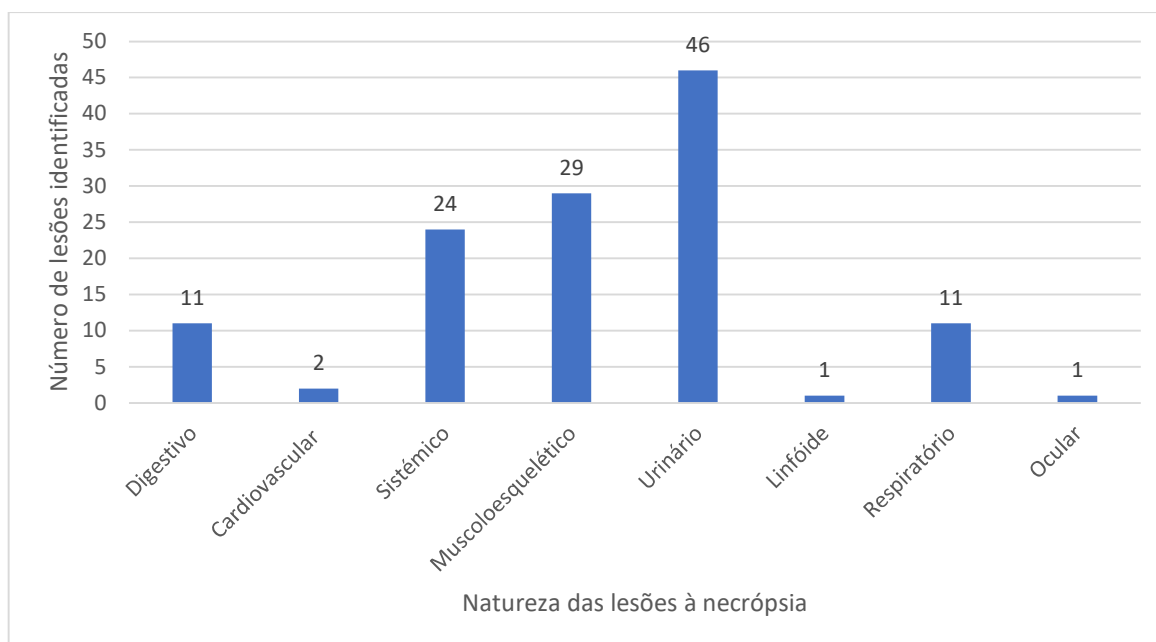
<b>Localização</b>	<b>Frequência Absoluta</b>
<b>Faro</b>	<b>726</b>
ETAR Faro / Olhão	595
Salinas de Faro	114
Ilha Deserta	9
Sé	4
Ilha do Farol	3
São Pedro	1
<b>Olhão</b>	<b>11</b>
Albufeira	1
Lagoa	1
<b>Total Geral</b>	<b>739</b>

### 5.1.2. Recolha de dados anatomopatológicos

Entre janeiro de 2010 e dezembro de 2023, foram necropsiadas 176 LA, sendo possível identificar 125 lesões em 96 animais – 48 animais encontravam-se em estado de decomposição avançada ou mumificados, não sendo possível a observação de lesões à necropsia; em trinta e duas aves (18,2%) não foram identificadas lesões evidentes à necropsia. A caracterização das lesões, quanto ao sistema afetado, está descrita no Gráfico 4: o sistema urinário foi o mais afetado, registando-se 46 lesões identificadas (36,8%), seguido do musculoesquelético com 29 lesões (23,2%). Tanto no sistema digestivo como no respiratório foram identificadas 11 lesões por sistema (8,8%). O sistema cardiovascular surge com duas lesões identificadas (1,6%), enquanto o sistema linfóide e o sistema ocular apresentam, cada um, uma lesão identificada (0,8%). Das 24 alterações sistémicas, 21 correspondiam a estados de caquexia.

Dentro das 46 lesões urinárias, registaram-se, isoladas ou em conjunto, 30 alterações de cor (rins pálidos ou marmoreados), 6 alterações da textura (superfície rugosa), e 14 alterações de tamanho – 12 registos de renomegália e dois de atrofia renal. Das alterações musculoesqueléticas, 12 corresponderam a situações de anquilose da articulação do cotovelo - 8 bilaterais e 4 unilaterais -, e 4 a artrites da articulação do cotovelo.

**Gráfico 4. Caracterização das lesões à necropsia, segundo a sua natureza / sistema afetado.**



A recolha de informações relativas à histopatologia foi também possível através da análise histopatológica do rim e da articulação do cotovelo de duas gaviotas mortas

em 2021, levada a cabo pela Idexx Laboratories, no âmbito do projeto Life Ilhas Barreira (LIFE18/NAT/PT/000927).

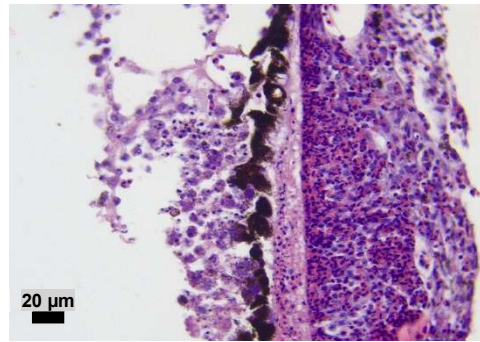
Numa das gaivotas, juvenil ( $\approx$  3 meses de idade), recolhida na ETAR de Faro Olhão, ingressada por debilidade / desnutrição, haviam sido registadas à necrópsia caquexia, renomegália, e lesões articulares do cotovelo. A análise histopatológica revelou intensa congestão e desorganização do parênquima renal pela deposição de cristais de ácido úrico, rodeados de macrófagos epitelioides, depósitos de fibrina e algumas células degeneradas. Observou-se ainda intensa distensão dos ductos coletores e hiperplasia do urotélio. O conjunto destas alterações a nível renal permitiu o diagnóstico de urolitíase crónica grave, compatível com um processo de gota visceral. Por sua vez, a nível da região entre o braço e o antebraço, observaram-se compatíveis com aterosclerose crónica e grave das paredes das artérias, com degenerescência fibroadiposa marcada.

A outra gaivota, também juvenil, recolhida também na ETAR de Faro / Olhão, e ingressada com debilidade / desnutrição, tendo morrido dois dias após ingresso, apresentava um quadro de caquexia e artrite na articulação do cotovelo direito, assim como renomegália, à necrópsia. A análise histopatológica do rim revelou congestão e microlitíase causando resposta inflamatória caracterizada por macrófagos epitelioides, depósitos de fibrina, heterófilos acompanhados por linfócitos e plasmócitos. Observou-se ainda intensa distensão dos ductos coletores e hiperplasia do urotélio. Esta apresentação histológica permitiu o diagnóstico de nefrite crónica, moderada e difusa, possivelmente associada a microlitíase. Por seu turno, a nível da articulação do cotovelo, observou-se um espessamento variável das paredes das artérias, que se apresentavam expandidas por deposição de uratos e por infiltração por heterófilos, macrófagos, e linfócitos e plasmócitos. Identificou-se ainda uma porção de cartilagem articular degenerada, com depósitos superficiais de uratos e hiperplasia difusa do revestimento sinovial, em cujo estroma se identificou infiltração inflamatória, com predomínio de linfócitos e plasmócitos. O diagnóstico foi de artrosinovite crónica degenerativa moderada, por depósitos de urato. O conjunto destas alterações a nível renal permitiu o diagnóstico de gota articular e visceral com nefrite crónica associada.

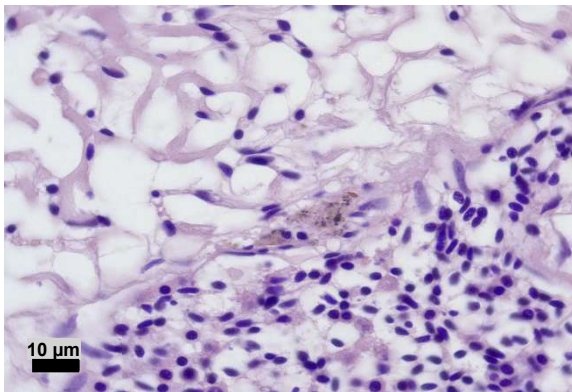
Em ambos os casos, a exclusão de diagnósticos diferenciais associados a agentes infecciosos foi feita com recurso às colorações de Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Gram, que não revelaram a presença de fungos e bactérias Gram-positivas.

Em relação às duas aves necropsiadas em agosto e setembro de 2023, cujo estado de conservação permitiu a análise histopatológica, a primeira ave era um indivíduo adulto, de sexo indeterminado, recolhido devido a traumatismo, em Tavira, no dia 14 de setembro. Após, aproximadamente, duas semanas de recuperação, o animal

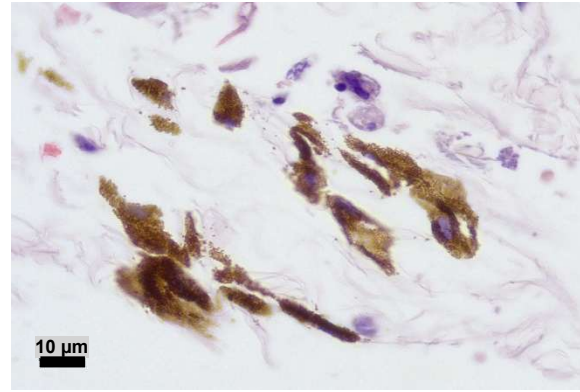
foi diagnosticado com cegueira bilateral grave, apresentando ainda sinais neurológicos, como perda de equilíbrio. Por suspeita de gripe-aviária, foi efetuada eutanásia, tendo sido recolhidos, para além dos órgãos inicialmente protocolados, os olhos e cérebro do animal. A análise histopatológica revelou grave infiltração linfoplasmocítica da úvea, acompanhados de degenerescência das células epiteliais pigmentares que compõem a retina. Esta imagem histológica é compatível com um fenómeno de uveíte (Figura 10). A nível pulmonar, observaram-se alterações compatíveis com um processo de antracose (Figura 11) e com pigmentação melânica das serosas pulmonares (Figura 12).



**Figura 10. Uveíte em olho de gaivota-de-audouin (H&E). Original**

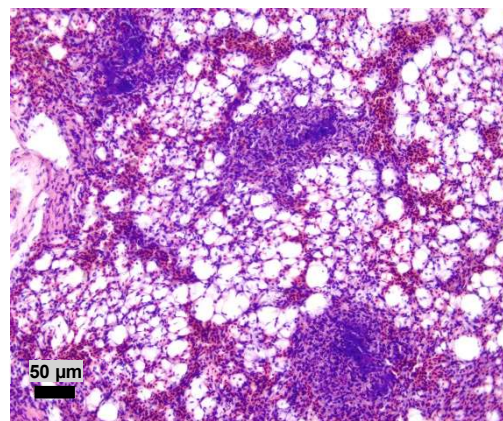


**Figura 11. Pulmão. Macrófagos repletos de carbono – antracose (H&E). Original**



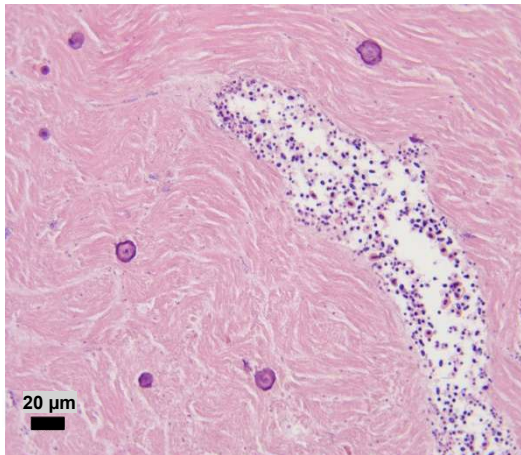
**Figura 12. Pulmão. Melanose da serosa (H&E). Original**

A segunda, juvenil, de sexo indeterminado, foi recolhida, já morta, em Olhão, a 2 de Agosto. À necropsia apenas se registou a presença de uma massa de aspeto granulomatoso e de uma úlcera a nível da moela. A análise histopatológica permitiu observar congestão pulmonar, acompanhada de intensa infiltração inflamatória, com predomínio de heterófilos, acompanhados por linfócitos e plasmócitos, associada à presença de coco-bacilos gram negativos; esta imagem sugere um quadro de pneumonia de origem bacteriana (Figura 13). No coração, foi possível observar ocasional mineralização multifocal entre as fibras musculares (Figura 14). No rim, observou-se deposição de cristais de ácido

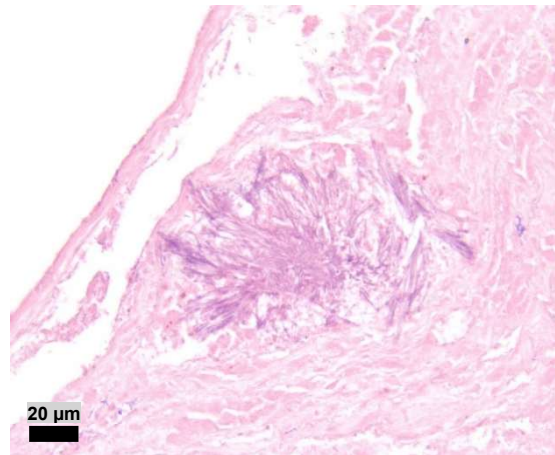


**Figura 13. Pulmão. Pneumonia (H&E). Original**

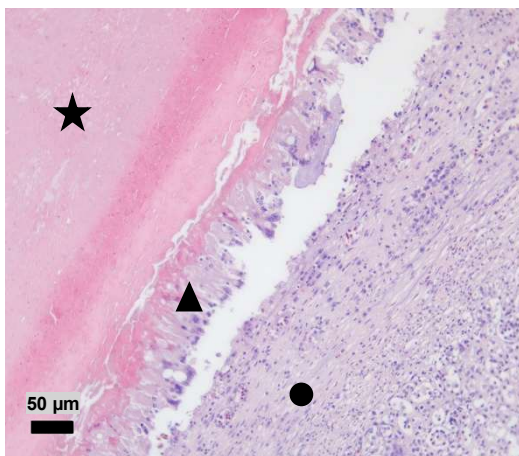
úrico, compatíveis com um fenômeno de gota visceral (Figura 15). Num dos ureteres (Figura 16), foi possível identificar uma grave ureterite focal, caracterizado por extensa infiltração por heterófilos e por números baixos a moderados de células gigantes multinucleadas (Figura 17), que rodeavam um centro necrótico, organização fortemente sugestiva de um abscesso. Finalmente, na articulação do cotovelo, a nível da metáfise do úmero, foi possível observar uma zona de retenção de cartilagem hialina, num processo compatível com uma osteocondrose.



**Figura 14. Coração. Mineralização (H&E). Original**

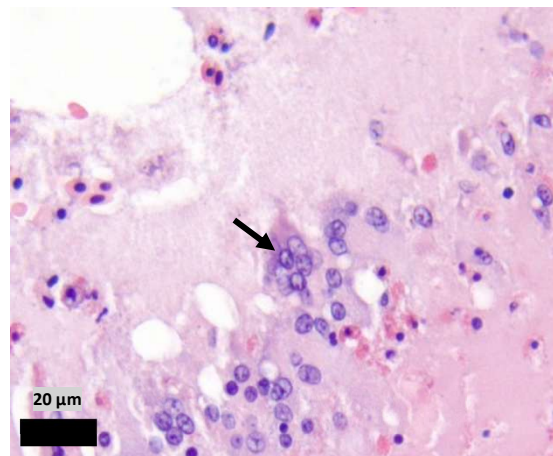


**Figura 15. Deposição de cristais de ácido úrico no rim (H&E). Original**



**Figura 16. Abscesso na parede do ureter (H&E). Original**

Legenda: centro necrótico (estrela), margem inflamatória (triângulo), cápsula serosa (círculo).

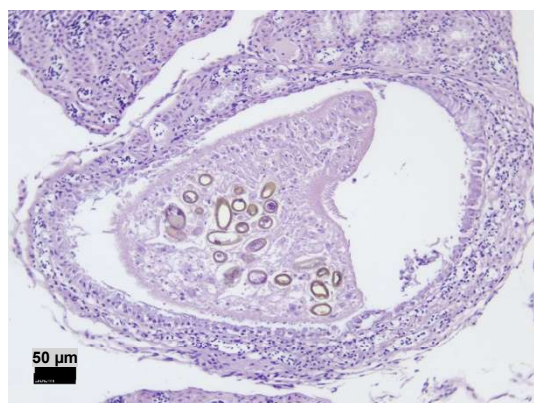


**Figura 17. Abscesso na parede do ureter (H&E). Original**

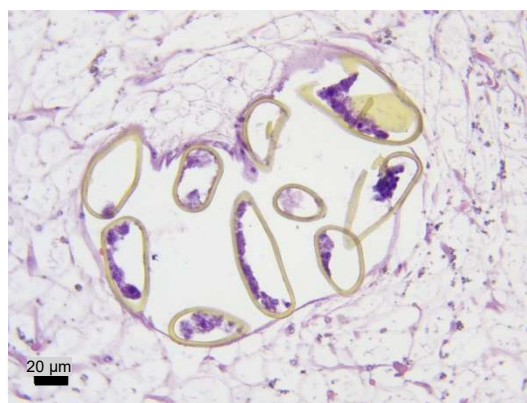
Legenda: Célula gigante multinucleada (seta)

Na cavidade celômica da ave juvenil e no lúmen do ureter da gaiivota adulta (Figuras 18), foi possível ainda observar exemplares de um parasita de aspeto verminoso e de forma foliácea, acelomado, com simetria bilateral, uma ventosa bucal e uma cutícula externa, sendo evidentes glândulas vitelogéneas e um ovário repleto de ovos não embrionados elípticos, operculados, de casca amarela-dourada (Figura 19), permitindo a sua classificação como pertencendo à classe *Trematoda*. O parasita apresentava um comprimento de eixo menor variável, entre os 321 μm e os 3 mm, e os

seus ovos mediam cerca de 95  $\mu\text{m}$  x 29  $\mu\text{m}$ , com uma casca de aproximadamente 3  $\mu\text{m}$  de espessura.



**Figura 18.** Trematode identificado na gaivota-de-audouin (H&E). Original



**Figura 19.** Ovos do trematode identificado na gaivota-de-audouin (H&E). Original

## 5.2. Estudo de Elementos Contaminantes

### 5.2.1. Caracterização da amostra em estudo

Para a pesquisa de elementos contaminantes, procedeu-se à recolha de órgãos internos (rim, coração e fígado) de 44 gaivotas-de-audouin e de 46 LM, ingressadas entre 2019 e 2023. Na Tabela 2, é possível observar a caracterização da população quanto à sua espécie, faixa-etária e ano de recolha. Contudo, só em 41 LA e em 43 LM é que foi possível a recolha de todos os três órgãos, sendo que nos restantes só foram recolhidos 1 ou 2 órgãos. A Tabela 3 apresenta o número de amostras por órgão, espécie e faixa-etária.

**Tabela 2.** Caracterização, quanto à espécie, faixa-etária e ano de recolha, da população para o estudo dos elementos contaminantes.

Faixa Etária	2019	2020	2021	2022	2023	Total Geral
<b>LA</b>	<b>4</b>	<b>12</b>	<b>9</b>	<b>12</b>	<b>7</b>	<b>44</b>
cria	0	5	0	8	3	16
juvenil	2	7	5	2	4	20
subadulto	0	0	0	0	0	0
adulto	2	0	4	2	0	8
<b>LM</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>10</b>	<b>46</b>
cria	0	0	0	0	1	1
juvenil	2	1	4	7	5	19
subadulto	1	2	5	1	2	11
adulto	1	4	3	5	2	15

**Tabela 3.** Caracterização, quanto à espécie, faixa-etária e órgão de recolha da amostra utilizada para o estudo dos elementos contaminantes.

Faixa Etária	Coração	Fígado	Rim	Total Geral
<b>LA</b>	<b>43</b>	<b>41</b>	<b>43</b>	<b>127</b>
cria	16	15	15	46
juvenil	19	18	20	57
subadulto	0	0	0	0
adulto	8	8	8	24
<b>LM</b>	<b>45</b>	<b>44</b>	<b>45</b>	<b>134</b>
cria	1	1	1	3
juvenil	19	18	18	55
subadulto	11	10	11	32
adulto	14	15	15	44
<b>Total Geral</b>	<b>88</b>	<b>85</b>	<b>88</b>	<b>261</b>

### 5.2.2. Identificação e Quantificação de Elementos Contaminantes

Nas amostras analisadas, para ambas as espécies, foi possível a identificação de todos os 15 elementos pesquisados e quantificação de 12 dos 15 elementos pesquisados: os metais Na, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe, Mn, Cd e Pb, e os não metais P e S (Tabela 4). À exceção do Mn, Cd e Pb, que se apresentaram em concentrações relativamente baixas, todos os elementos apresentaram valores relativamente elevados. Apesar de detetados, não foi possível a quantificação dos elementos, Cr, Ni e As, respetivamente.

**Tabela 4.** Concentrações medianas de Na, K., Ca, P, S, Cu, Zn, Fe, Mn, Cd e Pb, e médias de Mg, na amostra de gaivotas-de-audouin (LA) e de gaivotas-de-patas-amarelas (LM).

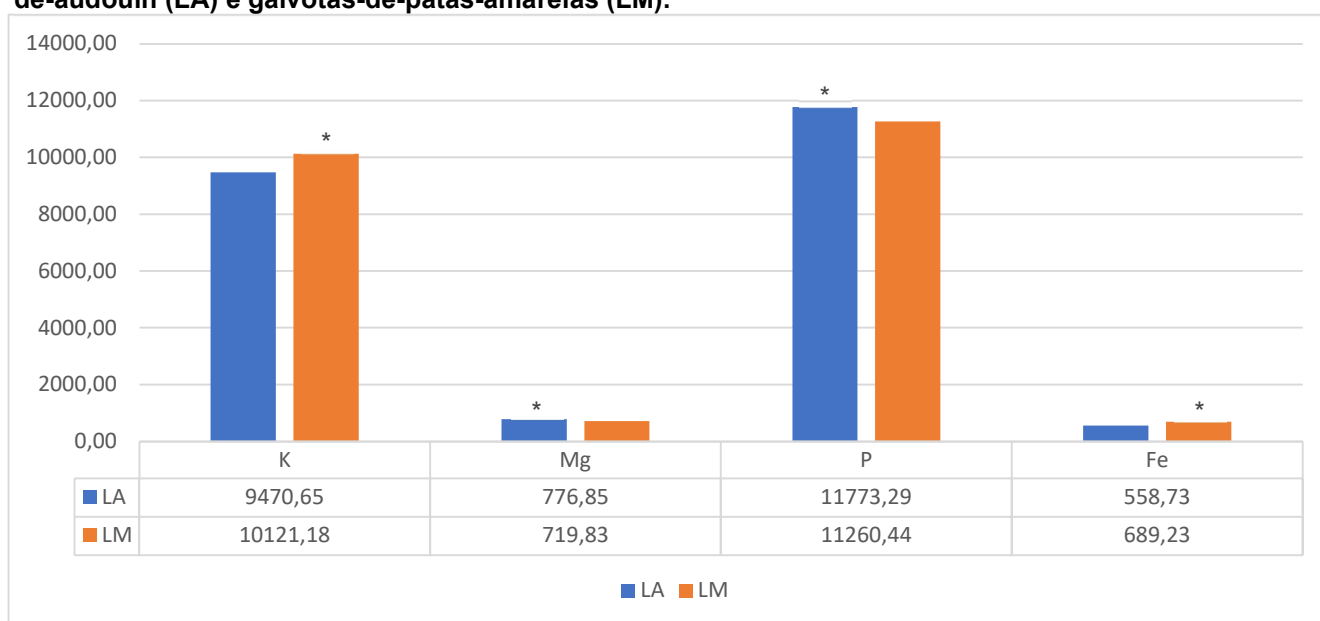
Metal	Concentração (mg / Kg) mediana, (AIQ)	
	LA	LM
Na	5826,15 (2051,38)	5424,44 (2441,93)
K	9470,65 (2214,92)	10121,18 (2090,08)
Ca	561,84 (470,98)	665,52 (454,72)
P	11773,29 (2872,61)	11260,44 (3116,01)
S	9692,74 (1505,58)	9932,16 (1446,57)
Cu	11,68 (6,62)	11,18 (4,96)
Zn	124,21 (120,59)	107,41 (74,64)
Fe	558,73 (443,97)	689,23 (737,78)
Mn	5,14 (5,76)	6,76 (6,48)
Cd	0,20 (0,37)	0,81 (3,19)
Pb	0,184 (0,22)	0,24 (0,31)
	Concentração (mg / Kg) média ± desvio padrão	
Mg	776,85 ± 227,16	719,83 ± 170,54

### 5.2.3. Comparação entre espécies

Numa primeira fase, compararam-se as medianas / médias de cada elemento entre as duas espécies (Tabela 4) de modo a perceber de que forma o diferente comportamento alimentar e biológico poderia condicionar os resultados.

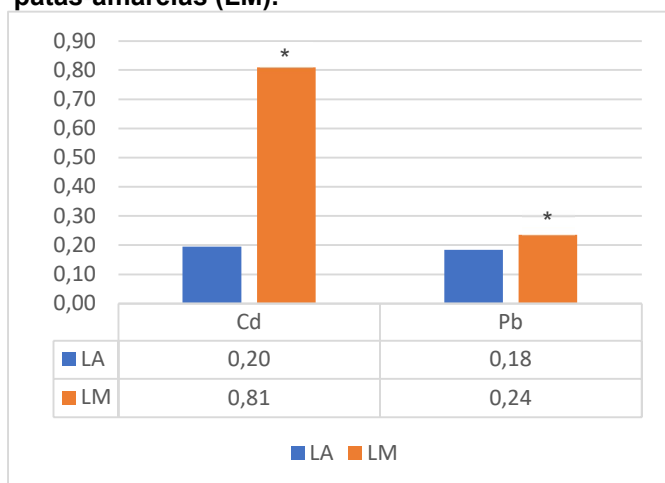
Constataram-se diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de K, P, Cu, Zn, Fe, Cd, Pb e Mg entre as LA e as LM. Verificaram-se concentrações medianas maiores de K, Fe, Cd e Pb nas LM do que nas LA, e concentrações medianas maiores de P, Cu e Zn nas LA do que nas LM. Da mesma forma, observaram-se concentrações médias maiores de Mg nas LA do que nas LM (Gráficos 5 a 7).

**Gráfico 5. Concentrações medianas (mg/Kg) de K, P, Fe e concentrações médias (mg/Kg) de Mg em gaiotas-de-audouin (LA) e gaiotas-de-patas-amarelas (LM).**



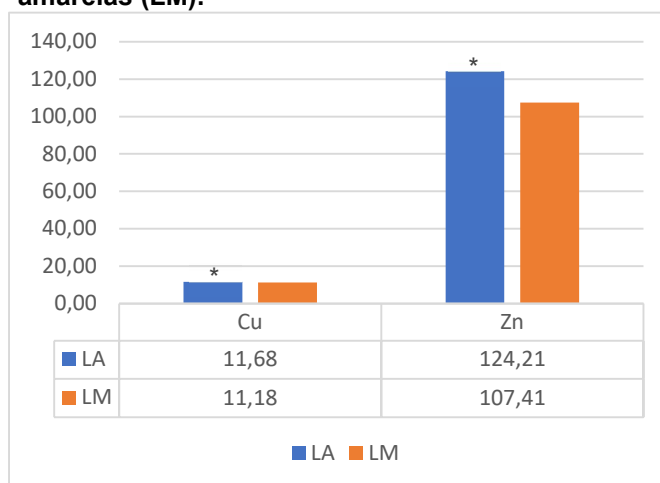
Legenda: O símbolo \* indica uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

**Gráfico 6. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd e Pb em gaiotas-de-audouin (LA) e gaiotas-de-patas-amarelas (LM).**



Legenda: O símbolo \* indica uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

**Gráfico 7. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Zn em gaiotas-de-audouin (LA) e gaiotas-de-patas-amarelas (LM).**



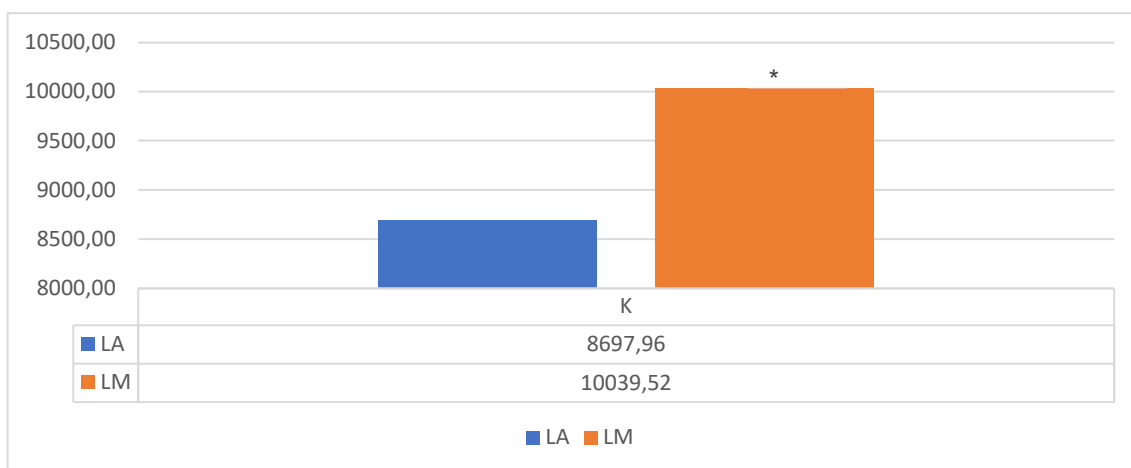
Legenda: O símbolo \* indica uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

#### 5.2.4. Comparação entre espécies tendo em conta a idade

Uma vez que cada grupo apresentou diversos níveis etários, testou-se se as diferenças significativas nas concentrações de elementos contaminantes entre as espécies se mantinham quando eram comparados animais dos mesmos grupos etários. Contudo, tendo em conta que na população em estudo não existiam LA subadultas, e apenas existia uma cria de LM, não foi possível incluir comparações entre animais destas faixas etárias no estudo.

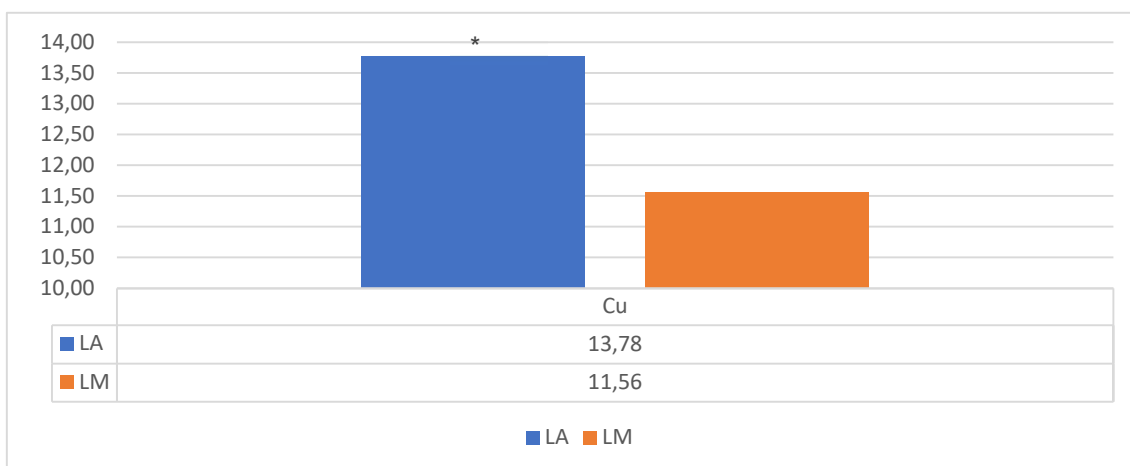
Observou-se que, no caso das aves adultas, apenas se mantinham as diferenças significativas para o K e para o Cu, sendo as concentrações de K mais altas nas LM (Gráfico 8) e enquanto as de Cu eram mais elevadas nas LA (Gráfico 9).

**Gráfico 8. Concentrações medianas (mg/Kg) de K em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas de patas-amarelas (LM) adultas.**



Legenda: O símbolo \* indica uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

**Gráfico 9. Concentrações medianas (mg /Kg) de Cu em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) adultas.**



Legenda: O símbolo \* indica uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

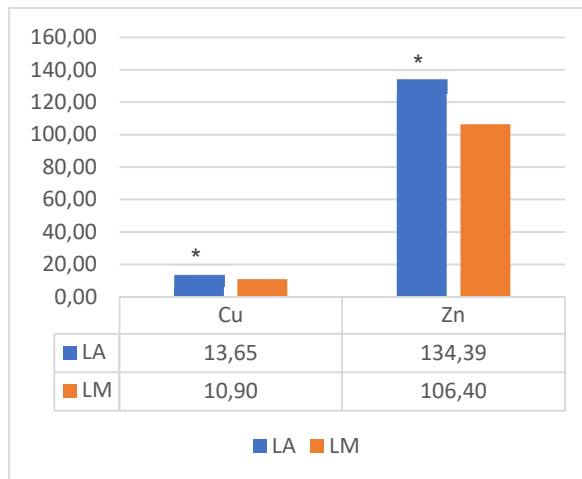
Por outro lado, verificou-se que, no caso das aves juvenis, se mantinham as diferenças significativas no caso de K, Cu, Zn e Cd, com os mesmos padrões de acumulação observados na análise geral entre espécies (Gráficos 10 a 12).

**Gráfico 10. Concentrações medianas (mg/Kg) de K em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) juvenis.**



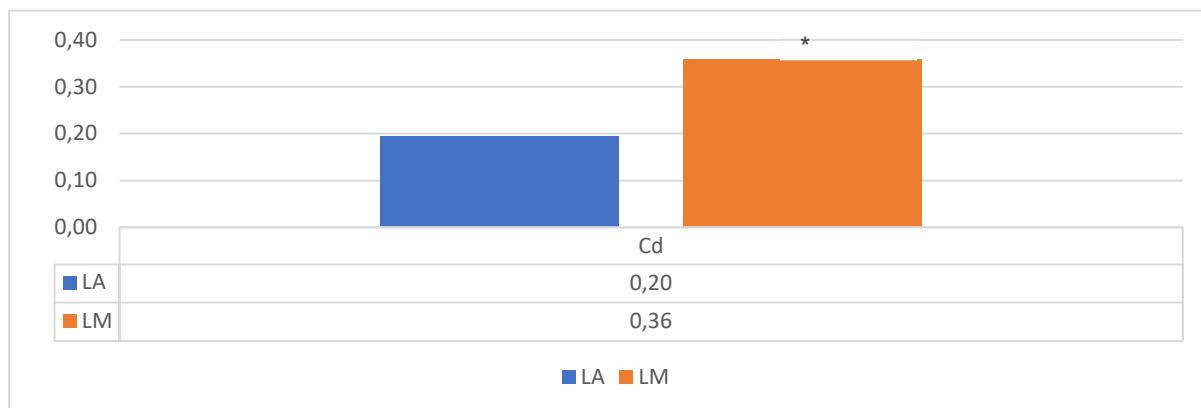
Legenda: O símbolo \* indica uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ )

**Gráfico 11. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Zn em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) juvenis.**



Legenda: O símbolo \* indica uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ )

**Gráfico 12. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd em gaivotas-de-audouin (LA) e gaivotas-de-patas-amarelas (LM) juvenis.**

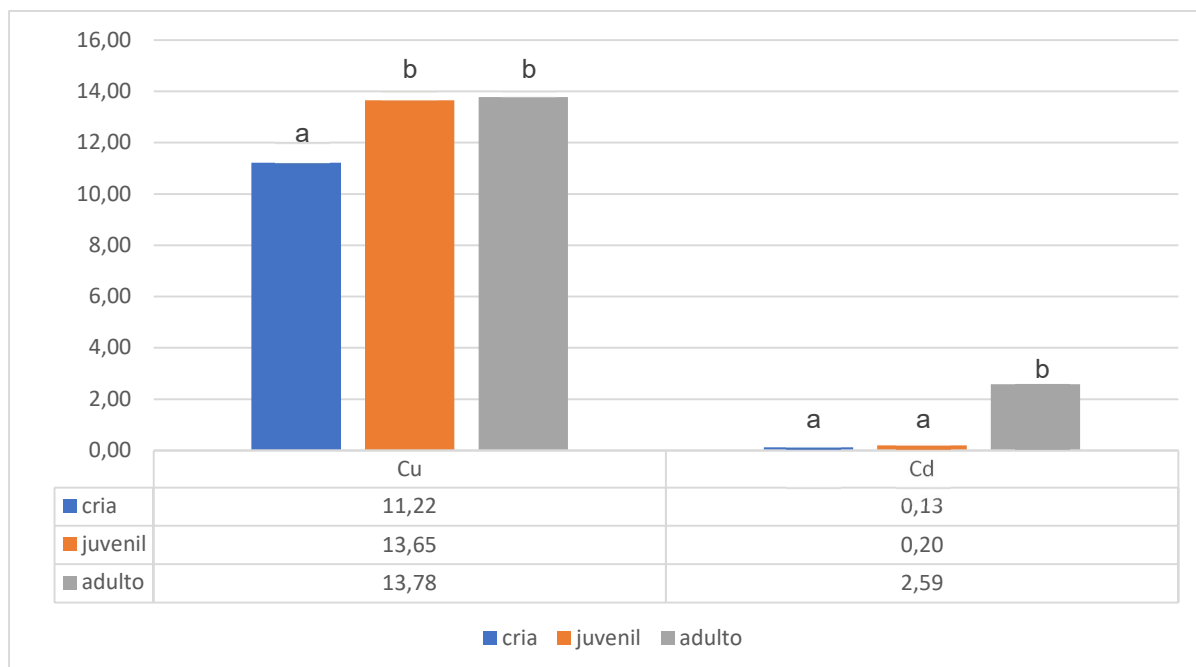


Legenda: O símbolo \* indica uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ )

### 5.2.5. Comparação entre grupos etários intra-espécie

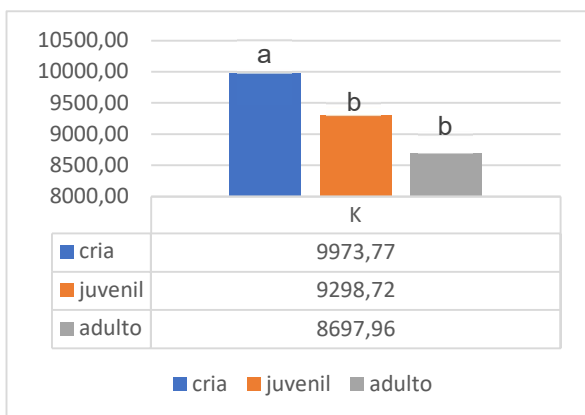
De forma a perceber como é que a variável idade influencia a concentração dos metais em estudo, para cada uma das espécies foram feitas comparações entre as concentrações de elementos contaminantes acumulados em cada grupo etário. Numa primeira fase compararam-se as medianas / médias de cada elemento entre os três diferentes grupos etários de gaivotas-de-audouin, verificando-se diferenças significativas entre as medianas das concentrações de K, Cu, Zn, Fe e Cd nos três grupos etários em estudo. Testes post hoc evidenciaram valores de K significativamente superiores e valores de Cu significativamente inferiores nas crias, em comparação com os restantes grupos etários (Gráficos 13 e 14); valores superiores de Fe nos adultos quando comparados com as crias (Gráfico 15); e valores superiores de Cd em adultos quando comparados com os restantes grupos etários (Gráfico 13). O teste de Dunn não conseguiu identificar diferenças significativas entre os grupos etários no caso das concentrações de Zn, apesar do teste de Kruskal-Wallis ter apontado para diferenças globais ( $p < 0,05$ ).

**Gráfico 13. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Cd nos diferentes grupos etários das gaivotas-de-audouin.**



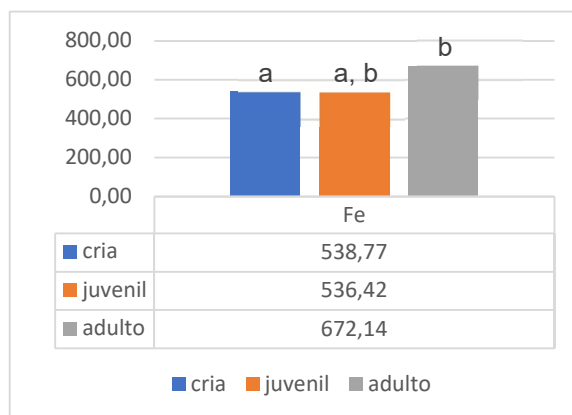
Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

**Gráfico 14. Concentrações medianas (mg/Kg) de K nos diferentes grupos etários das gaivotas-de-audouin.**



Legenda: Grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0.05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0.05$ )

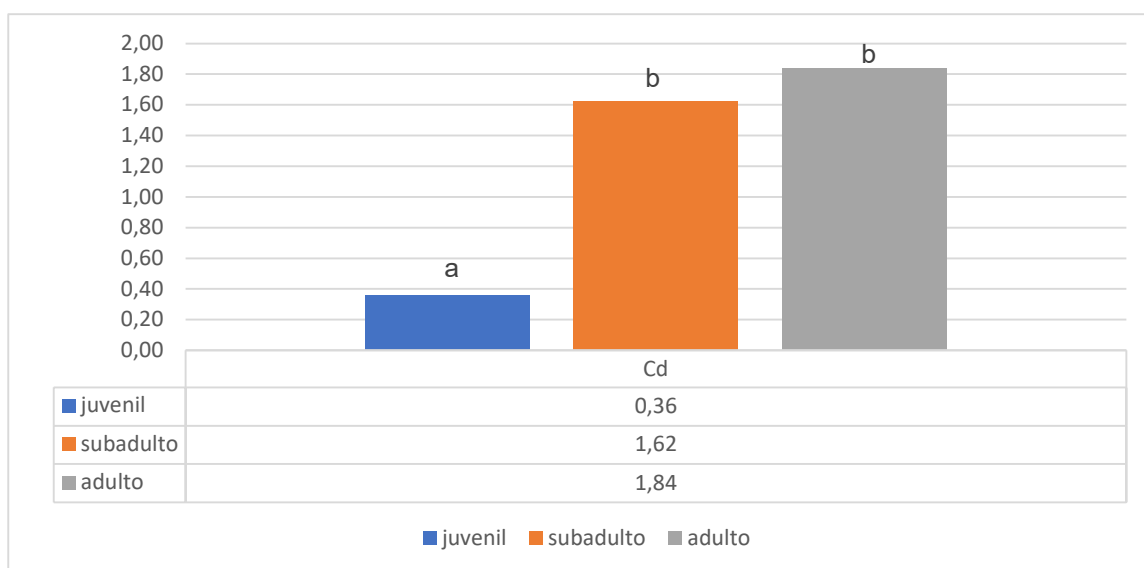
**Gráfico 15. Concentrações medianas (mg/Kg) de Fe nos diferentes grupos etários das gaivotas-de-audouin.**



Legenda: Grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0.05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0.05$ )

Em virtude de, na amostra de LM, só existir uma cria, este grupo etário não foi incluído nas comparações. Assim, compararam-se as concentrações medianas / médias de metais entre juvenis, subadultos e adultos, apenas se verificando diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para as concentrações de Cd. Testes post hoc evidenciaram valores significativamente inferiores nas concentrações medianas de Cd dos juvenis quando comparados com os subadultos e adultos (Gráfico 16).

**Gráfico 16. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd nos diferentes grupos etários das gaivotas-de-patas-amarelas.**

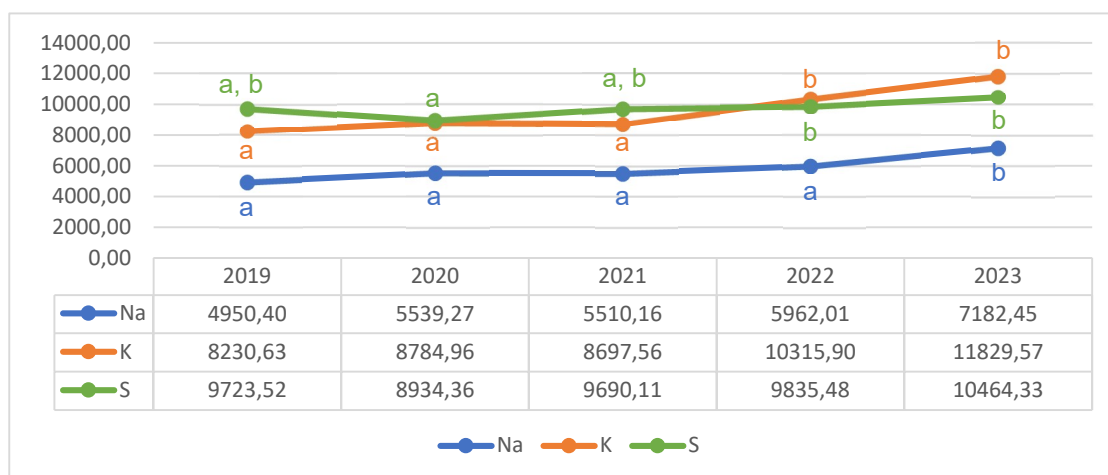


Legenda: Grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0.05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0.05$ )

### 5.2.6. Comparação entre anos de recolha

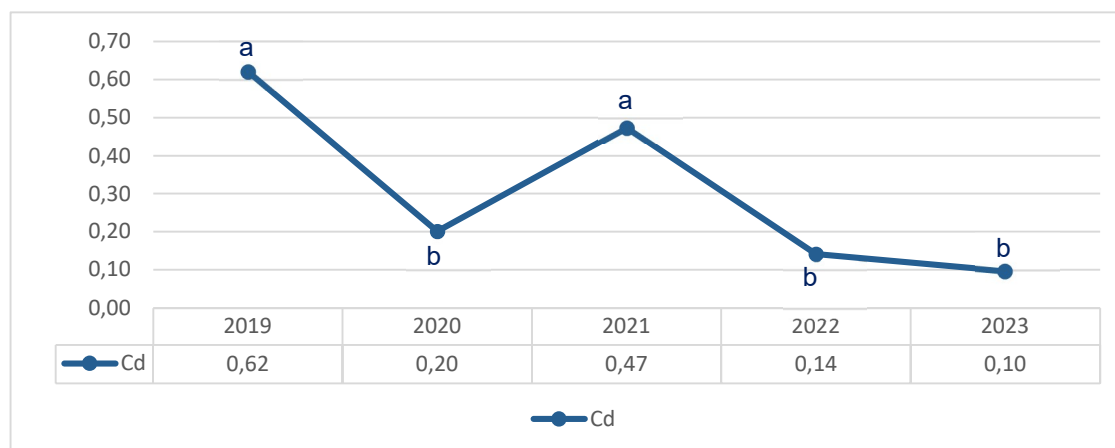
Para explorar variações na acumulação de metais ao longo dos anos, compararam-se, para cada uma das espécies, as concentrações medianas / médias de cada metal entre os anos de 2019 e 2023. Numa primeira fase, fez-se a pesquisa nas LA, nas quais se observaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as medianas das concentrações de Na, K e Cd, e nas médias das concentrações de S, ao longo dos cinco anos. Testes post hoc revelaram valores significativamente superiores de Na em 2023, em comparação com os restantes anos, valores significativamente superiores de K em 2022 e 2023 em relação aos restantes anos, valores significativamente inferiores de S em 2020 em relação a 2022 e 2023 (Gráfico 17), e, finalmente, valores superiores de Cd em 2019 e 2021 em comparação com os restantes anos (Gráficos 18.).

**Gráfico 17. Variação nas concentrações medianas (mg/Kg) de Na e K, e médias (mg/Kg) de S, entre os anos de 2019 e 2023, em gaiotas-de-audouin.**



Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

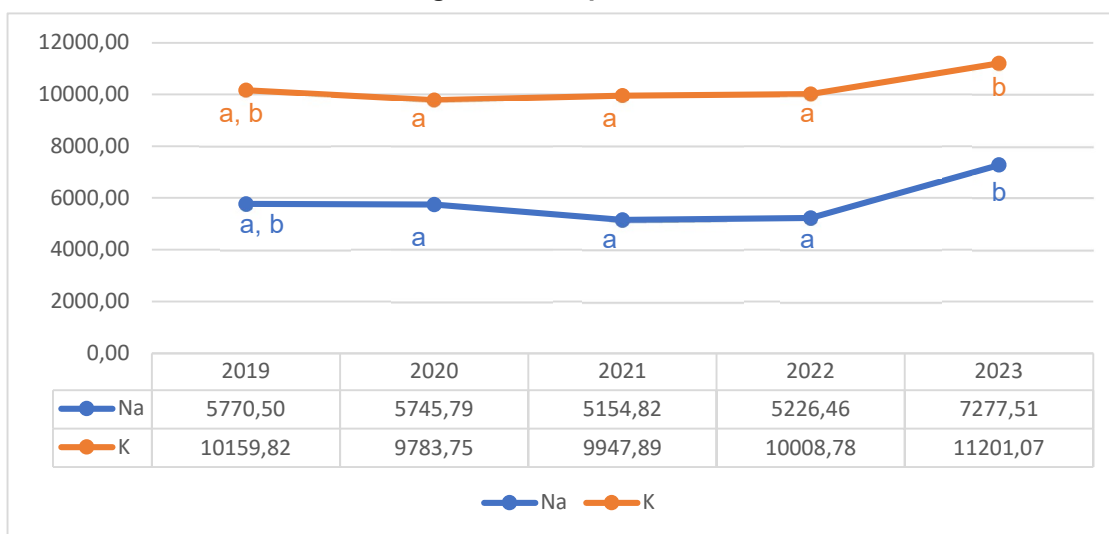
**Gráfico 18. Variação nas concentrações medianas (mg/Kg) de Cd entre os anos de 2019 e 2023, em gaiotas-de-audouin.**



Legenda: Grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

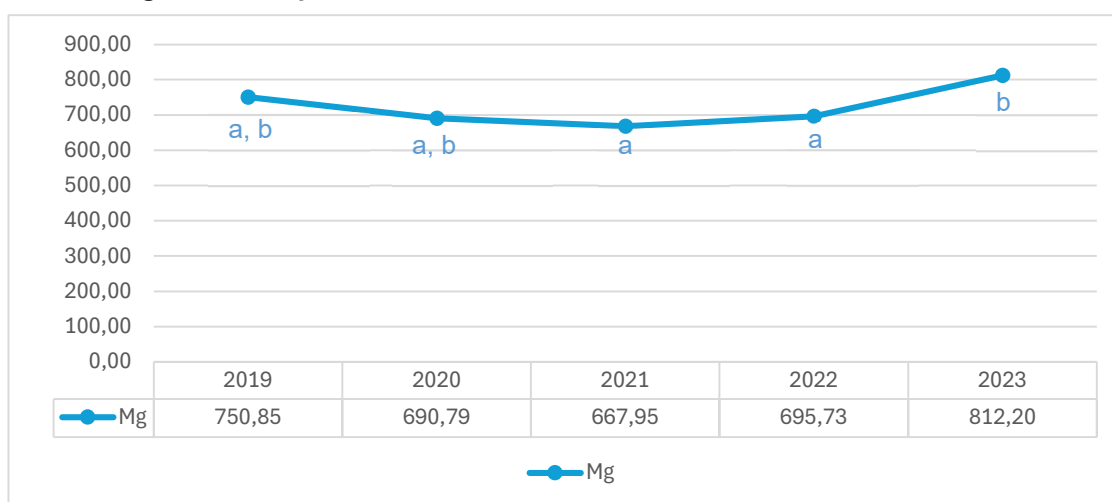
O mesmo raciocínio foi aplicado para as LM, nas quais se observaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as medianas das concentrações de K, e entre as médias das concentrações de Na e Mg, ao longo dos cinco anos. Testes post hoc revelaram valores significativamente superiores de Na e K em 2023, em relação aos anos 2020, 2021 e 2022 (Gráfico 19), e valores de Mg significativamente superiores em 2023 em comparação aos anos de 2021 e 2022 (Gráfico 20).

**Gráfico 19. Variação nas concentrações medianas (mg/Kg) de K e médias (mg/Kg) de Na entre os anos de 2019 e 2013 em gaivotas-de-patas-amarelas**



Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

**Gráfico 20. Variação nas concentrações médias (mg/kg) de Mg entre os anos de 2019 e 2023, em gaivotas-de-patas-amarelas**

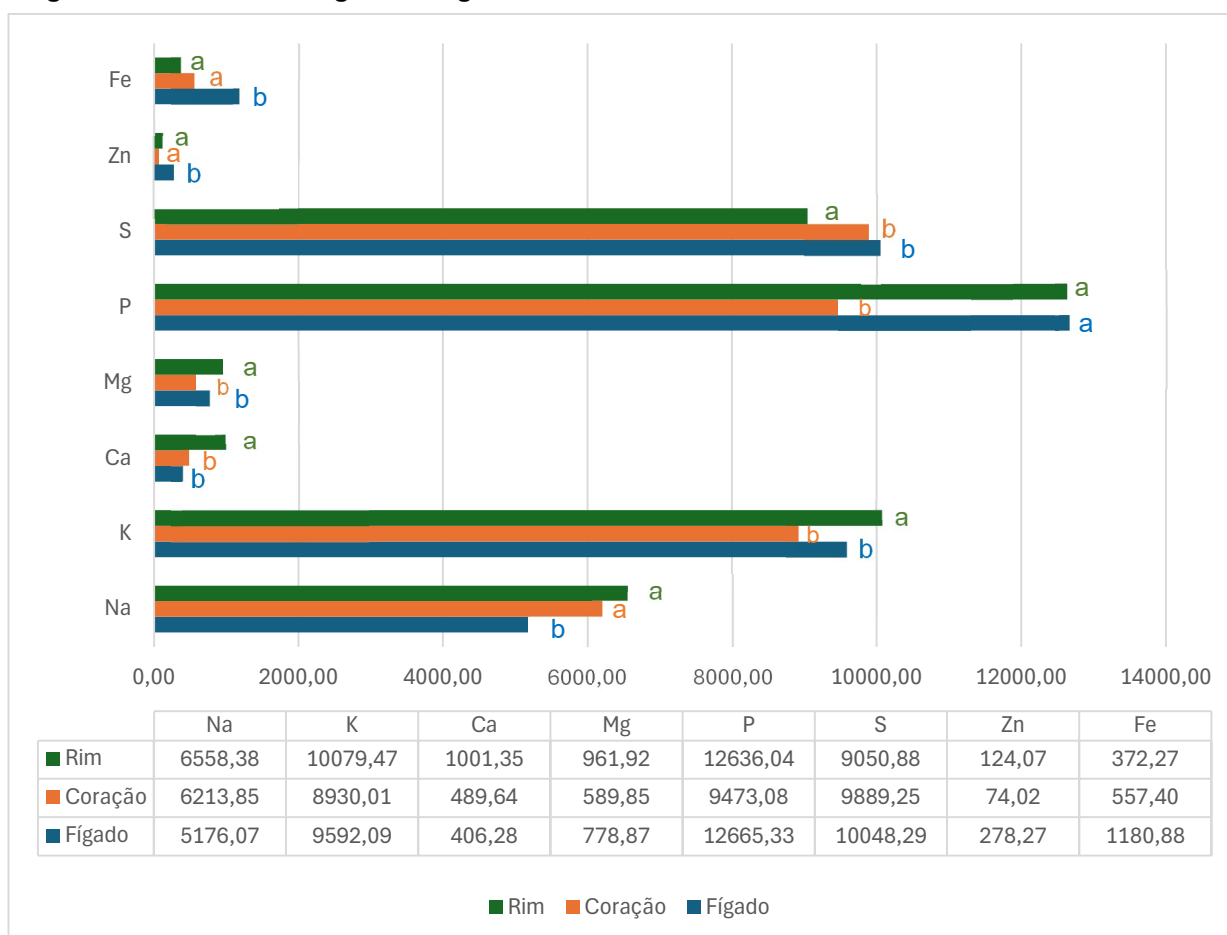


Legenda: Grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

### 5.2.7. Comparação entre órgãos

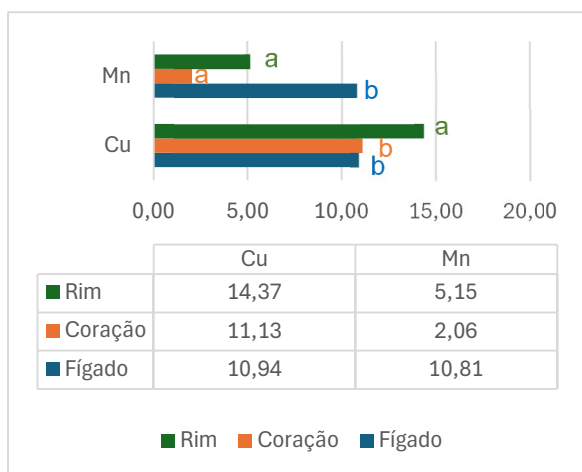
Finalmente, de forma a estudar a cinética dos metais em estudo em ambas as espécies de gaivota em estudo, compararam-se, para cada uma delas, as concentrações medianas / médias de cada elemento nos diferentes órgãos amostrados. Numa primeira fase, fez-se a pesquisa nas gaivotas-de-audouin, nas quais se verificaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para as concentrações de todos os elementos pesquisados nos diferentes órgãos. Testes post hoc revelaram valores significativamente inferiores de Na e de Pb no fígado em comparação com o rim e com o coração, e valores superiores de K, Ca, Mg, Cu e Cd no rim que no fígado e no coração (Gráficos 21 a 23). Revelaram ainda concentrações significativamente inferiores de P no coração em relação ao fígado e ao rim, concentrações significativamente inferiores de S no rim em relação ao fígado e ao coração, e concentrações significativamente superiores de Zn, Mn e Fe no fígado, em relação ao coração e rim (Gráficos 21 e 23).

**Gráfico 21. Concentrações medianas (mg/Kg) de K, Ca, P, Zn, Fe, Cd, Pb e médias (mg/Kg) de Na, Mg e S nos diferentes órgãos das gaivotas-de-audouin.**



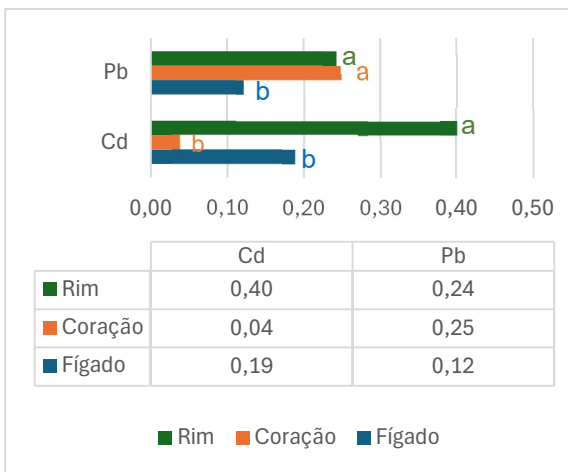
Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

**Gráfico 22. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Mn nos diferentes órgãos das gaivotas-de-audouin.**



Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0.05$ ) enquanto

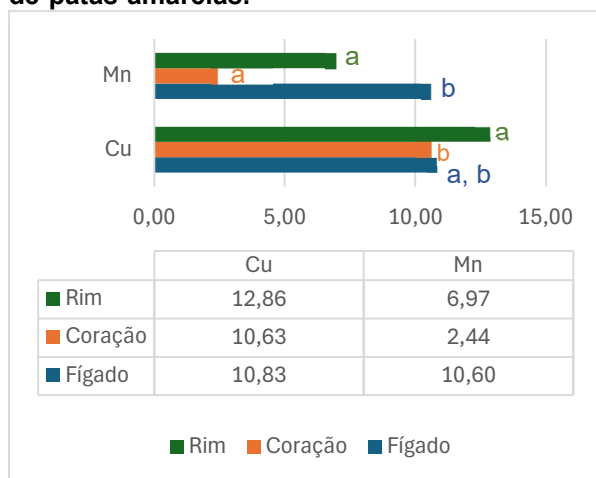
**Gráfico 23. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd e Pb nos diferentes órgãos das gaivotas-de-audouin.**



Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0.05$ ) enquanto

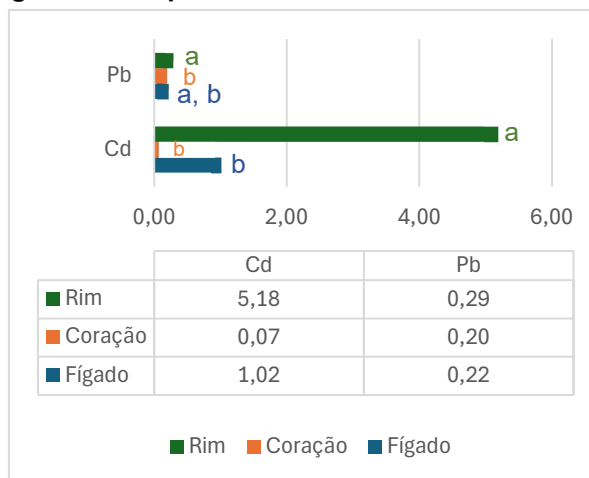
O mesmo raciocínio foi seguido para as LM, tendo sido identificadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre todos os metais em estudo, exceto o K, nos três órgãos em análise. Testes post hoc revelaram valores significativamente superiores de Na no rim em comparação com o fígado, concentrações significativamente superiores de Ca, Cd, Mg e P no rim em relação ao coração e ao fígado, valores significativamente superiores de S no coração em comparação com o rim, valores significativamente superiores de Cu, Pb no rim em comparação com o coração, e valores significativamente superiores de Zn, Fe e Mn no fígado em relação ao rim e coração (Gráficos 24 a 26).

**Gráfico 24. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cu e Mn nos diferentes órgãos das gaivotas-de-patas-amarelas.**



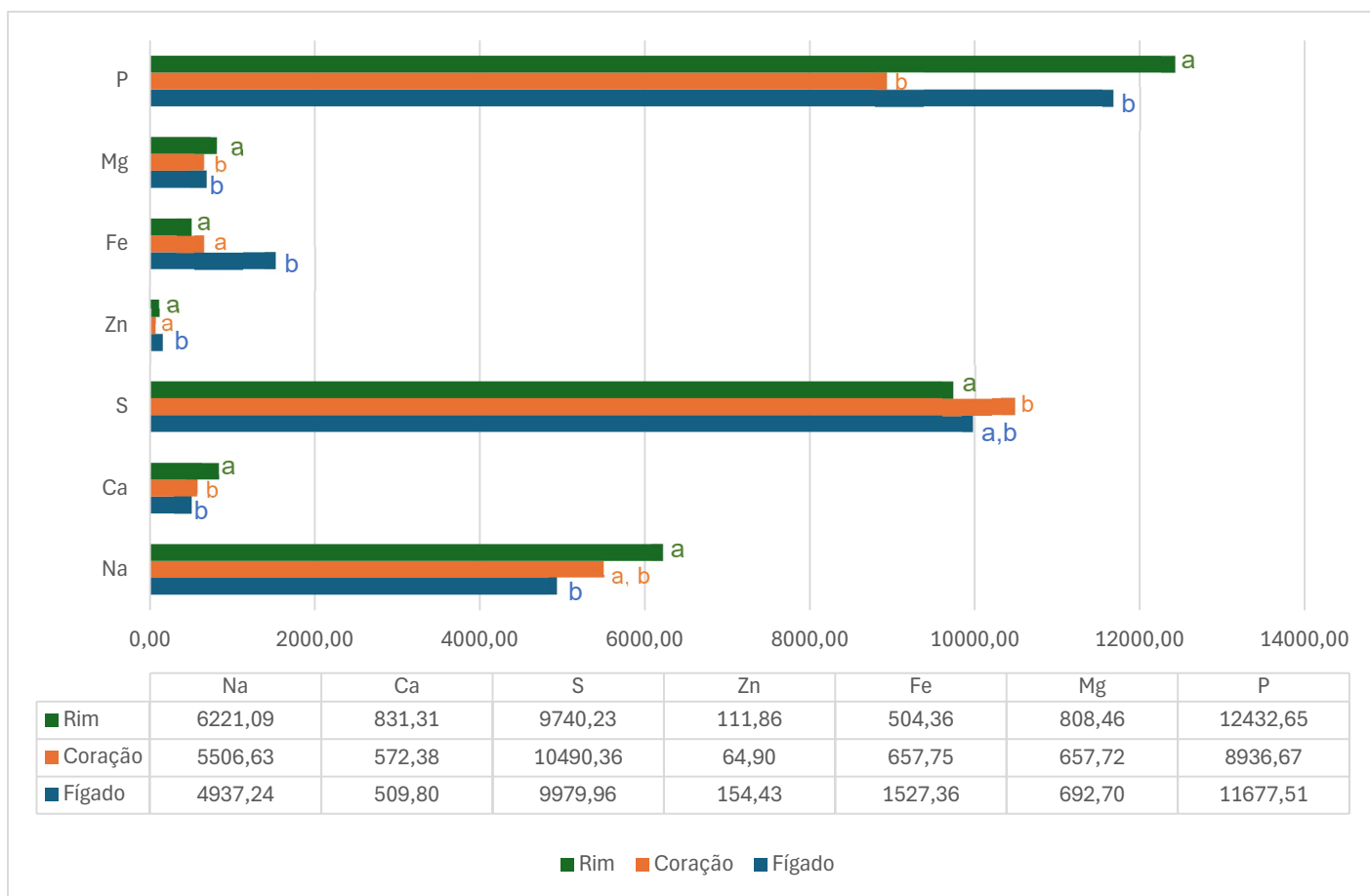
Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0.05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0.05$ )

**Gráfico 25. Concentrações medianas (mg/Kg) de Cd e Pb nos diferentes órgãos das gaivotas-de-patas-amarelas.**



Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0.05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0.05$ )

**Gráfico 26. Concentrações medianas de Na, Ca, S, Cu, Zn, Fe, Mn, Cd e Pb, e médias de Mg e P nos diferentes órgãos das gaivotas-de-patas-amarelas.**



Legenda: Para cada metal, grupos que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p > 0.05$ ) enquanto grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas ( $p < 0.05$ )

## 6. Discussão

### 6.1. Análise Populacional e de Causas de Doença

Os dados recolhidos no âmbito do projeto Life Ilhas Barreira (LIFE18/NAT/PT/000927) relativos à dimensão da colónia mostram que, contrariamente ao que aconteceu na Colónia do Delta do Ebro, e ao que se temia que ocorresse em Portugal, após aplicação total da nova política europeia das pescas, em 2019, que envolveu a aplicação de moratórias e proibiu as descargas em alto mar (Oro, Jover, et al. 1996; BirdLife International 2020), não se verificou um declínio da colónia. Pelo contrário, após 2019, a colónia cresceu, com aumento do número de casais. Estes dados podem ser explicados por diferentes hipóteses: na colónia algarvia ocorre, no âmbito do projeto Life Ilhas Barreira (LIFE18/NAT/PT/000927), a monitorização e tentativa de controlo de predadores, que foram uma das principais ameaças associadas ao declínio das colónias anteriores (Payo-Payo et al. 2018; BirdLife International 2020). Da mesma forma, o *bycatch* na pesca de palangre, que surge, tradicionalmente, como uma das principais ameaças à espécie (Laner et al. 2010; BirdLife International 2020), não parece ter tanta importância na colónia da Ilha Deserta (nem mesmo após a aplicação da moratória), na medida em que em apenas 9 das 883 gaivotas ingressadas no RIAS (1%) deram entrada por lesão relacionada com rede / fio / anzol.

Uma explicação possível é que, à semelhança do observado no passado, em colónias anteriores, a maior escassez alimentar causada pela moratória tenha levado as LA a recorrer a fontes alimentares alternativas, com a diferença de que, neste caso, esta potencial fonte alimentar alternativa parece ser abundante e de qualidade suficiente para garantir o sucesso reprodutivo da colónia, ao contrário das situações passadas (Gutiérrez and Guinard 2008). Infelizmente, o estudo mais recente da composição alimentar das LA da colónia da Ilha Deserta é relativo às populações reprodutivas dos anos de 2017 e 2018 (Calado et al. 2021), pelo que não é possível confirmar esta hipótese.

Curiosamente, a incidência de doença grave ou de mortalidade não parece acompanhar o ritmo de crescimento da colónia: o rácio entre os ingressos e o número de casais, indicador de morbilidade e mortalidade destas gaivotas, demonstra por exemplo que, entre 2022 e 2023, apesar do aumento do número de casais contabilizados, o rácio ingressos / número de casais reduziu de forma marcada, situação observada, em menor grau, entre 2019 e 2021. Estes dados estatísticos sugerem que as causas de doença ou de quebra do estado hígido parecem variar ao longo dos anos.

O facto dos juvenis constituírem o grupo etário mais representado entre as aves ingressadas, numa fração (88%) que ultrapassa largamente a dos outros grupos etários

(que totalizam entre si menos de 12%), permite-nos concluir que este é o grupo etário mais afetado pelas doenças desta espécie. A análise da origem geográfica dos ingressos permite-nos também concluir que a maioria das gaivotas doentes / mortas provém do concelho de Faro, onde a colónia se localiza. Porém, a análise da distribuição no concelho aponta para a ETAR de Faro / Olhão como a localização associada a um maior número de ingressos (73%), seguida das Salinas de Faro (14%), que é, de todas as outras zonas de recolha no concelho, a que se encontra geograficamente mais próxima da ETAR. A Ilha Deserta, onde se localiza a colónia surge em terceiro lugar (11%). Estes dados sugerem que o fator que está na origem da maioria da morbidade / mortalidade da espécie na colónia algarvia parece ter um componente geográfico.

Quando cruzamos estes dados com as causas de ingresso das aves juvenis, observamos que 4 em cada 5 aves ingressadas por debilidade / desnutrição provém da ETAR de Faro / Olhão, e que as aves recolhidas no conjunto da ETAR e das Salinas totaliza 95% dos juvenis debilitados / desnutridos ingressados. Estes dados reforçam o carácter geográfico da ocorrência de doença e que este fator parece de alguma forma estar relacionado com a ETAR de Faro / Olhão.

A análise dos registos anatomopatológicos aponta para os sistemas urinário e musculoesquelético como os mais frequentemente afetados, sendo observadas lesões renais compatíveis com nefrite e urolitíase, assim como doença articular, como anquilose e artrite (confirmado por análise histopatológica, tanto no âmbito do projeto Life Ilhas Barreira (LIFE18/NAT/PT/000927) como no âmbito deste trabalho). Segundo a bibliografia disponível, estas alterações são compatíveis com lesões de gota, em que, resultado de fenómenos de desidratação ou de excesso de produção de ácido úrico se verifica a deposição visceral e / ou articular de cristais de ácido úrico (Lumeij 1994; Lierz and Vet 2003; Pollock 2006).

Ainda que estes dados possam sugerir que a generalidade dos casos de debilidade / desnutrição possa estar relacionada com processos de gota, é importante ressaltar as limitações causadas pelo número limitado de gaivotas necropsiadas, face ao total de LA ingressadas (176 gaivotas necropsiadas de 878 ingressadas), e ao número ainda mais reduzido de casos com análise histopatológica (4 animais), que não permitem excluir outros fatores potenciais de doença.

Apesar destas limitações, a prevalência destas alterações nos cadáveres necropsiados justifica explorar causas possíveis de gota. Como abordado anteriormente, vários fatores, como neoplasias renais, causas nutricionais, inflamatórias, infecciosas, tóxicas (ex. intoxicação por Pb) e doenças pós-renais, podem conduzir a insuficiência renal ou a um excesso de produção de ácido úrico e desencadear este tipo de sinais (Pollock 2006). Fatores externos, como condições

climatéricas adversas ou ausência de recursos alimentares, podem, igualmente, desencadear deposição de cristais de ácido úrico, devido a desidratação (Keeble 2003; Serafini and Lugarini 2014).

A intoxicação por elementos presentes nas águas da ETAR não parece ser um fator determinante de doença, uma vez que na ETAR estão presentes números elevados de aves de muitas outras espécies, não se registando níveis comparáveis de recolhas nessas outras espécies. Da mesma forma, à necrópsia e histopatologia, não parece existir uma prevalência elevada de neoplasias, ou de agentes infecciosos.

Assim, sugerem-se hipóteses alternativas, a testar em trabalhos futuros:

- Como a ETAR de Faro / Olhão é a maior fonte de água doce mais próxima da Ilha Deserta, é possível que as aves juvenis - mais vulneráveis aos processos de emaciação e desidratação (Keeble 2003; Serafini and Lugarini 2014) - se desloquem até à ETAR após o *fledging* (sob supervisão parental variável (Burger et al. 2020)) à procura de água doce e de alimento, mas que cheguem aí já muito debilitadas e desidratadas (o que explicaria as lesões de gota), acabando por morrer ou ser recolhidas. Esta hipótese explicaria o componente etário, geográfico, e os sinais clínicos observados nos animais ingressados; contudo, não explica a variação anual do rácio ingressos / número de casais, a menos que existam outros fatores implicados.

- A presença de trematodes renais observados à histopatologia sugere um potencial componente parasitário. Com base no trabalho de Lafuente e Carbonell (1998), a morfologia e dimensões dos trematodes observados, assim como a sua localização renal, sugere que estes poderão pertencer à família *Renicolidae*. Contudo, não conseguimos obter uma imagem completa do seu corpo, pelo que não foi possível uma classificação taxonómica mais detalhada. Por outro lado, o único trematode desta família registado nas LA até ao momento, foi a espécie *Renicola lari*, identificada por Lafuente e Carbonell (1998), em gaivotas das Ilhas Chafarinas. Estudos futuros, que visassem um rastreio parasitológico da LA permitiriam determinar se estamos perante a mesma espécie, se a carga parasitária na população em estudo é suficiente para implicar estes trematodes nos processos de insuficiência renal e subsequente quadro de gota dos animais afetados, e se os juvenis apresentam cargas parasitárias mais intensas ou maior suscetibilidade a desenvolver doença parasitária. Adicionalmente, o rastreio parasitológico permitiria avaliar se a carga parasitária varia de ano para ano na população, e se essa variação é paralela à do rácio ingressos / número de casais.

- A variação no rácio poderia ainda ser explicada por variações na abundância alimentar de ano para ano, o que explicaria uma maior ou menor fração de juvenis afetados pelos fenómenos de emaciação e desidratação.

Apesar das hipótese acima poderem não explicar, cada uma por si, os padrões de morbidade/mortalidade observados, todas poderiam contribuir para essa explicação.

## **6.2. Estudo da Contaminação com Metais**

### **6.2.1. Premissa inicial**

Importa referir que, nas diversas comparações e análises relativas à acumulação de metais, foram analisados grupos muitas vezes heterogêneos no que à idade, sexo, origem geográfica, data de recolha e estado de saúde diz respeito, o que constitui uma limitação importante na interpretação dos resultados, não permitindo anular por completo a influência destas variáveis nas comparações. Da mesma forma, uma vez que se analisaram amostras de três órgãos, presentes em números quase sempre iguais ou muito próximos, nos grupos em análise, em grande parte das comparações (à exceção da que se debruçou particularmente sobre a distribuição de metais entre os diferentes órgãos), contribuíram para o valor apresentado como concentração de determinado metal, os valores ponderados das concentrações deste metal nos diferentes órgãos. Esta ressalva torna-se particularmente importante na comparação dos resultados obtidos com os registados na bibliografia, onde, na maioria das vezes, se recorre a um único tipo de matriz analítica.

Apenas serão discutidos os elementos com interesse para o presente estudo: Cu, Zn, Fe, Mn, Cd, Pb, As, Ni, Cr.

### **6.2.2. Identificação de metais**

O estudo permitiu a identificação de todos os 13 metais pesquisados, e a quantificação de 10 dos 13 metais pesquisados. Destes, apenas três, Mn, Cd e Pb, apresentaram concentrações relativamente baixas. Os restantes sete, Na, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe, estão presentes em concentrações marcadamente superiores. Isto pode ser explicado porque todos estes sete metais são classificados como metais essenciais, sendo normal a sua presença até níveis relativamente elevados no organismo. Por outro lado, eram exetáveis concentrações muito baixas de Cd e de Pb, uma vez que estes constituem metais não essenciais, que apresentam efeitos tóxicos mesmo em baixas concentrações (Ansari et al. 2003). O Mn, apesar de ser um metal essencial, não deixa de estar presente em concentrações relativamente baixas, tal como observado noutros trabalhos (Laranjeiro et al. 2020; Antunes et al. 2023).

Apesar de detetados, a quantificação não foi possível no caso de três metais: Cr, Ni, As; permitindo concluir que, apesar de presentes, se encontravam abaixo dos

limites de deteção: 2,0 mg/Kg, 2,0 mg/Kg e 1,5 mg/Kg. No estudo de Laranjeiro et al. (2020), que pesquisaram e quantificaram metais nas LA da Ilha Deserta, as concentrações médias de As eram muito mais baixas que o LQ da técnica utilizada neste trabalho. Por outro lado, as concentrações médias de Cr e Ni que aqueles autores registaram eram relativamente superiores às do LQ neste trabalho, resultados que indicam que os valores obtidos por Laranjeiro et al. eram superiores aos obtidos no presente estudo. Esta diferença poderá ser talvez explicada pelas diferentes matrizes utilizados. Enquanto Laranjeiro et al. (2020) recorreram a penas, outros trabalhos, como o de Antunes et al. (2023), que recorreram a órgãos internos para identificação e quantificação de metais em larídeos, obtiveram, para estes elementos, concentrações muito menores dos que os LQ utilizados neste trabalho. Isto não só explica a discrepância, como vai ao encontro aos nossos resultados.

### **6.2.3. Comparação com a bibliografia - Toxicidade**

No Anexo 1. é possível observar os valores que, na bibliografia, são indicados como threshold de toxicidade, para cada um dos metais potencialmente tóxicos em aves marinhas. É ainda indicado o órgão em que foram determinadas estas concentrações, assim como as espécies que foram alvo de estudo. Devido à ausência, na literatura disponível, de trabalhos que recorrem a órgãos internos de LA e/ou LM saudáveis como matriz para a determinação de metais, os valores apresentados são referentes a estudos em aves sem sinais de doença de outras espécies de aves marinhas. Deve atender-se, porém, às limitações que advêm da comparação interespecífica de aves de diferentes espécies e com uma maior ou menor relação filogenética entre si. Para alguns elementos, nomeadamente Na, K, Ca, P, S e Mg, não foram encontrados registos de toxicidade em larídeos, ou noutras aves marinhas.

Neste estudo, dos metais com toxicidade conhecida, apenas o Cd (e apenas em LM) apresentou uma concentração mediana ligeiramente superior ao *threshold* hepático de toxicidade, ainda assim inferior ao *threshold* de toxicidade renal. Sabe-se que a intoxicação por Cd está associada a problemas no desenvolvimento físico e comportamental das crias (Lopes et al. 2022); isto justifica estudos futuros que avaliem a taxa de sobrevivência e os parâmetros de crescimento das crias de LM da colónia da ilha deserta.

#### **6.2.4. Comparação com a bibliografia – LA e LM**

A comparação direta dos nossos resultados com os valores registados na bibliografia exige cautela, por diferentes motivos. Primeiramente, não parece existir nenhum estudo prévio que tenha recorrido a órgãos internos para a avaliação da acumulação de metais em LA. A escolha de uma matriz diferente, por exemplo penas, como Laranjeiro et al. (2020) usaram no seu trabalho, pode conduzir a valores distintos e não-comparáveis, uma vez que existem estudos (Mukhtar et al. 2020) que demonstram que metais como o Cr ou o As têm uma maior afinidade pelas penas que por órgãos internos; a situação inversa também pode ser observada, por exemplo com o Cd e Cu, que parece apresentar deposição preferencial no rim e não nas penas (Mukhtar et al. 2020).

Além disso, as distribuições quase sempre assimétricas dos grupos deste estudo implicaram que os resultados fossem frequentemente expressos sob a forma da mediana, em detrimento da média, enquanto a maioria dos trabalhos anteriores recorre mais frequentemente a valores médios. Ainda que a comparação entre valores medianos e médios seja possível, esta não é necessariamente fácil ou direta.

Antunes et al. (2023) quantificaram vários metais no fígado de LM, representando os resultados sob a forma de mediana, o que permite uma comparação direta entre os resultados daqueles autores e os obtidos no nosso estudo, para as concentrações dos diversos metais pesquisados no fígado da nossa amostra de LM. As concentrações de Zn, Fe, Cu, Mn e Cd obtidas no nosso trabalho são superiores às que Antunes et al. (2023) obtiveram, sendo que apenas os níveis de Pb foram inferiores no nosso trabalho. Destacam-se os valores de Zn e Mn, que são cerca de 3 e 7 vezes, respetivamente, superiores aos que Antunes et al. (2023) observaram. Também o Cd, que no estudo de Antunes et al. (2023) não foi detetado, apresentou concentrações superiores no nosso estudo, de aproximadamente 1,02 mg/Kg. Estas diferenças podem estar relacionadas com o facto de Antunes et al. (2023) ter construído a sua amostra com base em LM de várias colónias portuguesas, entre as quais podem variar os níveis de contaminação ambiental, ou as fontes alimentares, enquanto o presente estudo incidiu exclusivamente sobre gaivotas da região algarvia. Os valores aumentados de Zn, Fe, Cu e Mn e Cd no nosso estudo sugerem, assim, uma contaminação superior da colónia da Ilha Deserta relativamente ao valor mediano nacional, por diferenças na saúde ambiental ou no comportamento alimentar – por exemplo, as maiores concentrações de Cd poderiam ser explicadas se, na colónia da Ilha Deserta, as gaivotas recorressem, com maior frequência, a alimentos ricos em Cd, como, por exemplo, cefalópodes (Bustamante et al. 1998). Por seu turno, os valores mais reduzidos de Pb no nosso estudo indicam uma contaminação inferior da colónia

relativamente à mediana nacional. Não se pode também descartar que o diferente período temporal sobre o qual o estudo incidiu, uma vez que o estudo de Antunes et al. (2023) terminou em 2020, o que sugere a necessidade de novos estudos a nível nacional.

No trabalho realizado por Laranjeiro et al. (2020), que analisou penas das LM da colónia da Ilha Deserta, observaram-se maiores concentrações de Zn e Pb, enquanto o nosso estudo detetou maiores concentrações de Fe, Cd e Mn. As concentrações de Cu foram semelhantes em ambos os trabalhos. Uma vez que o Zn, Fe, Cd, Mn e Cu apresentam maior afinidade para os órgãos internos (Mukhtar et al. 2020), não podemos excluir a possibilidade das concentrações deste metal estarem subvalorizados no estudo de Laranjeiro et al. (2020). Estudos futuros, utilizando matrizes comparáveis, seriam interessantes para averiguar se, findo o trabalho de Laranjeiro et al. (2020), em 2018, e em resposta à aplicação total da moratória sobre as pescas, em 2019, o comportamento alimentar da LM mudou, explicando a discrepância entre os estudos.

Da mesma forma, Laranjeiro et al. (2020) pesquisaram metais pesados em penas de LA da Ilha Deserta. Quando comparados os valores obtidos pelos autores com os deste estudo, verificamos uma tendência semelhante à que se registou para a LM: maiores concentrações de Zn e Pb no estudo de Laranjeiro et al. (2020), e maiores concentrações de Cu, Fe, Mn e Cd no nosso trabalho. Contudo, à semelhança do anteriormente explicado para a LM, não podemos excluir uma subvalorização dos valores de Zn, Cu, Fe e Mn por Laranjeiro et al. (2020). Esta variação na concentração de metais em gaivotas da mesma colónia ao longo dos anos poderia também ser explicada por uma alteração na dieta após aplicação da moratória sobre as pescas, justificando estudos futuros nesta área.

### **6.2.5. Comparação entre espécies – A variável espécie**

A LA apresenta níveis superiores de Zn e Cu do que a LM, que, por sua vez, regista níveis mais elevados de Cd, Pb e Fe. Estes resultados são discrepantes com o esperado: por apresentar uma dieta unicamente à base de peixe, era espectável que os órgãos de LA apresentassem concentrações mais elevadas da maioria dos metais que os de LM. Por outro lado, na LM, que tem uma escolha alimentar muito mais ampla, esperavam-se concentrações maiores de metais associados a ambientes terrestres ou a fontes alimentares alternativas, como o Cu (Calado et al. 2016; Calado et al. 2018; Matos et al. 2018; Laranjeiro et al. 2020; Calado et al. 2021).

Várias hipóteses podem ser levantadas na tentativa de explicar este fenómeno. A implantação da moratória sobre a pesca, em 2019, associado ao contínuo crescimento da colónia, pode ter implicado o recurso, a fontes alimentares alternativas pelas LA -

como crustáceos, peixes de água-doce, ou mesmo despojos alimentares humanos - comportamento já antes registado em colónias anteriores, em circunstâncias semelhantes (Gutiérrez and Guinard 2008). Esta mudança no comportamento alimentar poderia ser suficiente para desencadear um efeito tampão sobre a acumulação de metais mais abundantes nos ambientes aquáticos, como o Fe, Cd e Pb, explicando ainda os elevados níveis de Cu na LA (Arcos et al. 2002; Laranjeiro et al. 2020). Como já referido, as informações mais recentes relativas à constituição da dieta das gaivotas da ilha Deserta, datam à época reprodutiva de 2017 e 2018 (Calado et al. 2021), pelo que carecemos de novos estudos sobre este tema para verificar a credibilidade desta hipótese.

Por outro lado, é importante mencionar que a heterogeneidade na constituição dos dois grupos em análise pode ter influenciado os resultados.

#### **6.2.6. Comparação entre espécies tendo em conta a idade**

Uma forma de tentar reduzir o eventual efeito da heterogeneidade das amostras foi cingir as comparações interespecíficas às diferentes faixas etárias, nomeadamente entre os adultos e entre os juvenis das duas espécies.

Os juvenis de LA apresentavam valores superiores de Cu e Zn, enquanto os de LM apresentavam valores superiores de Cd. As diferenças entre as concentrações de Fe e Pb observadas na comparação geral não se mantiveram nesta faixa etária. Já nos adultos, apenas se verificou uma diferença significativa nas concentrações de Cu, com valores mais elevados nas LA. Tal como acima, estes resultados contrariam as expectativas associadas aos diferentes comportamentos alimentares entre as espécies (Calado et al. 2016; Calado et al. 2018; Matos et al. 2018; Calado et al. 2021).

No seu trabalho, apenas com adultos, Laranjeiro et al. (2020), obtiveram uma tendência inversa nas concentrações de Cu. Para além disso, ao contrário dos nossos resultados, em que não se registaram diferenças significativas nas concentrações interespecíficas de Fe, Cd e Pb, os autores determinaram concentrações significativamente maiores nas LA que nas LM. Mais uma vez, a utilização de penas como matriz para a pesquisa de metais por Laranjeiro et al. poderá explicar estas diferenças.

O facto das diferenças nas concentrações de determinados metais na comparação geral, que não se mantêm na comparação cingida aos juvenis e adultos (e.g., Fe e Pb), sugere que a origem destas diferenças pode prender-se com o grupo dos subadultos ou das crias, que não foi visado nesta comparação. Estudos futuros, que se debrucem sobre as diferenças interespecíficas de indivíduos pertencentes a estes

grupos etários, ou que trabalhem com amostras mais uniformes, poderiam clarificar o efeito da heterogeneidade etária na comparação interespecífica geral.

### **6.2.7. A variável Idade**

Nas LA, as crias apresentavam os valores mais baixos de Cu, em comparação com os juvenis e adultos, o que sugere menor ingestão, ou maior capacidade de eliminação, de Cu nas crias. Não foram encontrados estudos que comparem as concentrações de cobre (em nenhuma matriz) entre crias e juvenis ou adultos de LA. Contudo, sabe-se que, tanto na colónia da ilha Deserta como noutras colónias anteriormente estudadas, alimentos de origem terrestre, sobretudo invertebrados, faziam parte da alimentação das crias, especialmente nas primeiras fases do desenvolvimento (González-Solís et al. 1996; Pedrocchi et al. 2002; Calado et al. 2018). Mais uma vez, esta característica do comportamento alimentar da espécie entra em confronto com os nossos resultados; sendo o Cu característico de ambientes terrestres (Calado et al. 2016; Calado et al. 2018; Matos et al. 2018; Calado et al. 2021) seriam esperadas concentrações mais elevadas de Cu nas crias do que nos juvenis ou adultos.

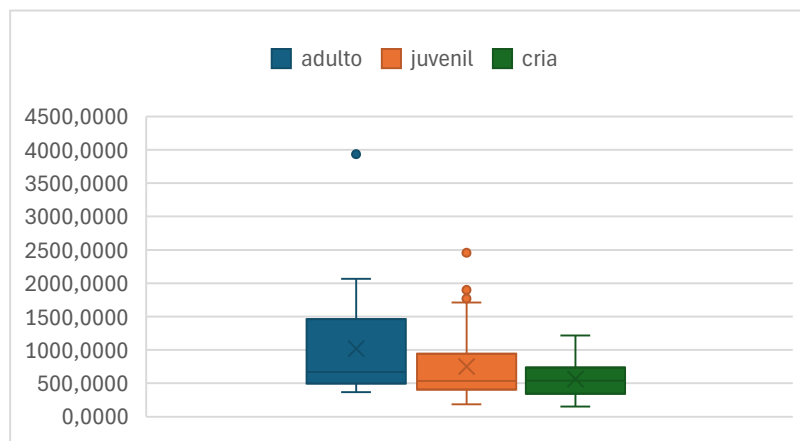
Assim, apenas podemos levantar algumas hipóteses para explicar este fenómeno, que carecerão de estudos futuros. Por exemplo, a partir do momento em que saem do ninho e apresentam uma pesquisa ativa de alimentos, as aves poderão ter acesso a uma fonte alimentar rica em cobre, marinha ou terrestre, que não está acessível às crias, que dependem das estratégias alimentares (possivelmente mais seletivas) dos seus progenitores. Esta fonte poderia estar relacionada com o aumento da exploração de ambientes terrestres. Por outro lado, o cobre poderá apresentar cinética diferente no organismo das crias, que promova a sua excreção. Mais uma vez, as diferenças observadas poderão ainda ser devidas a enviesamento causado pela heterogeneidade das amostras.

Relativamente ao Cd, as concentrações eram vestigiais até à fase de juvenil, inclusive, observando-se um aumento exponencial nos adultos. Como não existe informação relativa aos subadultos, não é possível inferir se este aumento ocorre durante esta fase, ou se por outro lado, se verifica apenas na transição para a fase adulta. Estes resultados estão de acordo com o esperado, refletindo aumento das concentrações de cádmio por fenómenos de bioacumulação (Gochfeld et al. 1996b; Barbieri et al. 2010; Carravieri et al. 2014).

Finalmente, observamos diferenças etárias nos níveis de Fe, com concentrações significativamente maiores nos adultos que nas crias, mas não significativamente maiores que nos juvenis. Isto, contudo, pode parecer paradoxal, uma vez que o valor da concentração mediana de Fe nos juvenis é inferior ao valor registado nas crias. Várias hipóteses podem ser levantadas para tentar explicar este fenómeno. Primeiro, há que considerar a variabilidade inerente ao grupo dos juvenis, que apesar de apresentar uma mediana inferior à das crias, apresenta uma distribuição assimétrica caracterizada por uma maior sobreposição de valores com o grupo dos adultos (Gráfico 27); isto pode levar a que a diferença entre os valores das concentrações de Fe entre adultos e juvenis não atinja significância estatística. Por outro lado, o teste post-hoc utilizado, de Dunn, é um teste conservador, ainda mais quando

associado a uma correção para comparações múltiplas, como a de Benjamini-Hochberg (BH), que se traduz numa maior cautela na identificação de diferenças

**Gráfico 27. Boxplot relativo à distribuição das concentrações (mg/Kg) de Fe nos três grupos etários das gaivotas-de-audouin.**

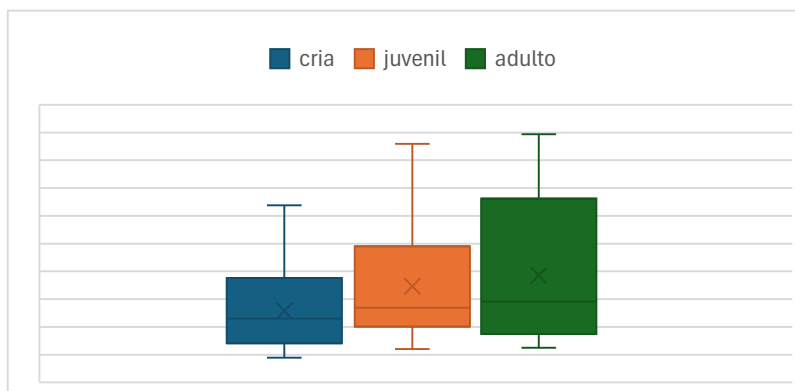


significativas, com o objetivo de evitar falsos positivos, que implica uma maior probabilidade na ocorrência de falsos negativos. A decisão de associar a correção de BH ao teste post-hoc nas comparações múltiplas visou precaver eventuais falsos positivos que pudessem advir da diferente dimensão dos grupos, ou da variabilidade entre eles. Ainda que esta correção seja menos conservadora que outras, como a de Bonferroni, não deixa, contudo, de poder dar origem a falsos negativos (Mcdonald 2009).

Em relação ao Zn, observaram-se novamente resultados aparentemente paradoxais, uma vez que no teste de Kruskal-Wallis, foram identificadas diferenças significativas, mas não foi possível concluir entre que pares de grupos tinham origem no teste post-hoc de Dunn. Mais uma vez, podemos recorrer à premissa do conservadorismo do teste de Dunn associado à correção de Benjamini-Hochberg, que

pode exigir um maior poder estatístico que o teste de Kruskal-Wallis para a identificação de significância. Igualmente, a distribuição assimétrica dos grupos em estudo, e a sua relativa heterogeneidade (Gráfico 28) podem

**Gráfico 28.** Boxplot relativo à distribuição das concentrações (mg/Kg) de Zn nos três grupos etários das gaivotas-de-audouin.



condicionar os resultados do teste post-hoc.

De qualquer das formas, os valores mais elevados das medianas de Fe e Zn foram observados nos adultos, o que está de acordo com o esperado, como resultado de fenómenos de bioacumulação destes metais com a idade (Lopes et al. 2022)

Em relação às concentrações dos restantes metais em estudo (Mn e Pb) não foram detetadas alterações significativas com a idade, sugerindo um efeito pouco importante do fenómeno de bioacumulação.

No que diz respeito às LM, de acordo com o esperado, registaram-se menores concentrações de cádmio nos juvenis, e maiores nos subadultos e adultos. À semelhança do que ocorre nas LA, estes valores podem ser explicados por fenómenos de bioacumulação (Gochfeld et al. 1996b; Barbieri et al. 2010; Carravieri et al. 2014). Para os restantes metais em estudo (Cu, Zn, Fe, Mn, Cd, Pb) não foram identificadas variações significativas com a idade, sugerindo que a bioacumulação é pouco importante.

### 6.2.8. A variável ano de recolha

De todos os metais de interesse para este trabalho, só o Cd, e apenas nas LA, apresentou diferenças significativas de concentração entre os diferentes anos de recolha, sendo os valores mais elevados em 2019 e 2021.

A tendência de variação das concentrações medianas de Cd nas LA, durante os anos em estudo, parece acompanhar a tendência de variação das concentrações medianas de Cd em moluscos bivalves - amplamente reconhecidos como indicadores da saúde ambiental (Yusof et al. 2004)-, recolhidos pelo IPMA, durante a época em que a LA está presente em Portugal (fevereiro – outubro), na zona de produção algarvia (Anexo 2), espelhando o papel das aves marinhas enquanto bioindicadores da poluição ambiental por metais descrito na bibliografia (Furness and Camphuysen 1997; Arcos et

al. 2002; Bocher et al. 2003). O nosso estudo permite ainda concluir que os picos de contaminação por Cd não estão relacionados com os picos de maior mortalidade / doença das gaivotas-de-audouin, uma vez que nos anos de 2019 e 2021 registaram-se rácios de ingressos inferiores aos do ano 2022 (Gráfico 1).

Estudos futuros serão necessários para determinar se a variação anual dos níveis de Cd nas aves são devidos a variações na sua disponibilidade ambiental e/ou a alterações no comportamento alimentar da gaivota, numa tentativa de adaptação face à moratória, como anteriormente sugerido.

Nas LM parecem não haver variações significativas nas quantidades de Cd ao longo do ano, o que pode ser explicado pela exploração de diferentes ambientes alimentares (Lopes et al. 2022), diminuindo a sazonalidade da disponibilidade do metal.

As concentrações pouco variáveis dos outros metais de interesse, nos órgãos de ambas as espécies, ao longo dos anos, poderão indicar que a disponibilidade destes elementos na área de forrageamento tendeu a manter-se estável entre 2019 e 2023.

#### **6.2.9. A variável órgão**

O estudo das variações nas concentrações dos diversos metais nos vários órgãos fornece-nos informação sobre a cinética destes no organismo das gaivotas.

Em ambas as espécies, o fígado é o órgão com maior concentração de Zn, Fe, e Mn, remetendo para o importante papel deste órgão no metabolismo e armazenamento de metais (Ninomiya et al. 2004). Resultados que acompanham esta tendência foram obtidos para o Zn, noutros estudos que se debruçam sobre aves marinhas (Barrales et al. 2021) e aquáticas (Mukhtar et al. 2020). Em relação ao Fe, o fígado também se verificou como o órgão com maior concentração deste metal em estudos efetuados em pinguins (Ninomiya et al. 2004). Desconhecemos quaisquer estudos que avaliem as concentrações de Fe em diferentes órgãos em aves marinhas. Finalmente, em relação ao Mn, foi observada uma tendência semelhante noutros estudos com larídeos (Burguer and Gochfeld 2020)

Neste estudo, o rim surgiu, em ambas as espécies, como o órgão com maiores concentrações de Cd, o que vai ao encontro dos resultados de Dietz et al. (1996) e Burguer e Gochfeld (2020), nos seus trabalhos com larídeos. Este fenómeno parece estar relacionado com a ligação do Cd à metalotioneína, uma proteína com a qual tem grande afinidade, formando um complexo que é filtrado e reabsorvido no rim, onde se deposita (Fujishiro et al. 2022).

Em relação ao Pb, o coração apresenta as concentrações mais elevadas na LA, surgindo o rim, porém, com valores muito próximos. Já na LM, é o rim que apresenta valores mais elevados, surgindo o coração, curiosamente, como o órgão em que

ocorrem as menores concentrações. Esta tendência observada na LM está de acordo com os dados bibliográficos: nos seus trabalhos com larídeos Burguer e Gochfeld (2020) determinaram que o rim surgia como o órgão de deposição preferencial, tanto em aves adultas como em aves jovens. Outros trabalhos com aves marinhas / aquáticas apontam também para uma afinidade entre o Pb e o rim (Kim et al. 1998; Mukhtar et al. 2020). Os resultados observados para a LA podem ser melhor interpretados se atendermos aos resultados do trabalho de Burguer and Gochfeld (2020) com a gaivota-de-franklin (*Larus pipixcan*): apesar de em aves adultas as concentrações de Pb no rim serem muito superiores àquelas que se observam no coração, em aves jovens esta diferença é pouco acentuada. Assim, a distribuição etária assimétrica da nossa amostra de LA, com um maior número de aves jovens (crias e juvenis) que adultas, levanta a hipótese de que os resultados relativos ao Pb podem encontrar-se enviesados. Estudos futuros seriam interessantes para explorar se este enviesamento é real, ou se, por outro lado, se verifica uma repetibilidade dos resultados, que poderia ser explicada por uma diferente cinética ou dinâmica do metal. Os órgãos internos, contudo, parecem não ser o material ideal para a pesquisa de Pb, que parece ter maior afinidade para o osso e penas (Kim et al. 1998; Laranjeiro et al. 2020; Mukhtar et al. 2020).

Em ambas as espécies o rim surge como o órgão com maiores concentrações de Cu. Esta tendência acompanha a de outros estudos em aves marinhas (Kim et al. 1998) e aquáticas (Mukhtar et al. 2020).

Podemos concluir, através destes resultados, que as duas espécies aparentam ter uma cinética semelhante no que diz respeito a estes metais, uma vez que em ambas, para cada metal, o órgão mais contaminado revela-se quase sempre o mesmo.

## 7. Conclusão

O presente trabalho tinha como objetivos a caracterização de ingressos e levantamento de alterações patológicas dos animais ingressados, comparação do ritmo de ingressos com o ritmo de crescimento da colónia da Ilha Deserta, e identificação e quantificação de metais potencialmente tóxicos nas espécies em estudo. Todos estes serviram de pano de fundo para o propósito de aumentar o conhecimento científico sobre a espécie e sobre as suas eventuais causas de doença. Ainda que não tenha sido possível chegar a conclusões definitivas sobre a origem e desenvolvimento de doença na colónia da ilha Deserta, por limitações inerentes ao estudo, foram cumpridos os objetivos iniciais, tendo-se não só contribuído para o conhecimento científico sobre a colónia portuguesa da gaivota-de-audouin, como criado bases e hipóteses para o desenvolvimento de futuros trabalhos.

No que às dinâmicas populacionais diz respeito, este é, à data, o primeiro trabalho a fazer um levantamento e descrição tão extensos dos ingressos de gaivotas-de-audouin em centros de recuperação da fauna. Constitui ainda o primeiro registo de parasitas em gaivotas-de-audouin na colónia da ilha Deserta.

A conclusão de que um eventual fator de doença que possa afetar a espécie tem um componente etário e geográfico, e que se relaciona com sinais de debilidade / desnutrição constitui uma nova informação, até então desconhecida. Da mesma forma, o levantamento de sinais compatíveis com gota, numa elevada percentagem dos ingressos na espécie, sugerem de que este quadro patológico pode ter uma maior importância na morbidade e mortalidade das aves do que até então se havia considerado. Algumas hipóteses relativas à origem e comportamento do eventual fator de doença puderam ser levantadas, e poderão ser alvo de futuro estudo.

Em relação aos metais, à data, este é o primeiro trabalho em que se realiza a pesquisa de metais em órgãos internos de gaivota-de-audouin, e que avalia a influência de tantas variáveis na contaminação por metais, assim como o primeiro em que foi feita a pesquisa e quantificação de Fe noutros órgãos que não o fígado em aves marinhas.

Se por um lado, para alguns metais, os resultados vêm a confirmar as tendências observadas na bibliografia, para outros, vêm a desafiá-las. Níveis superiores de Cd, Pb e Fe na gaivota-de-patas amarelas, assim como níveis mais elevados de Cu na gaivota-de-audouin contrariam as expectativas criadas pelo tradicional comportamento alimentar observado em cada uma das espécies. Da mesma forma, níveis de Cu que aumentam com a idade, em gaivotas-de-audouin põem em causa o que se sabe sobre a alimentação diferencial de crias e adultos

nesta espécie. Tudo isto levanta a hipótese de eventuais alterações no comportamento alimentar da gaivota-de-audouin após a aplicação total da moratória sobre as pescas e descargas em alto mar, em 2019, que poderá ser investigada em trabalhos futuros.

## 8. Bibliografia

- Ackerman JT, Eagles-Smith CA, Herzog MP. 2011. Bird Mercury Concentrations Change Rapidly as Chicks Age: Toxicological Risk is Highest at Hatching and Fledging. *Environ Sci Technol.* 45(12):5418–5425. doi:10.1021/es200647g.
- Albert C, Renedo M, Bustamante P, Fort J. 2019. Using blood and feathers to investigate large-scale Hg contamination in Arctic seabirds: A review. *Environ Res.* 177:108588. doi:10.1016/j.envres.2019.108588.
- Alvarez A, Saez JM, Davila Costa JS, Colin VL, Fuentes MS, Cuozzo SA, Benimeli CS, Polti MA, Amoroso MJ. 2017. Actinobacteria: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. *Chemosphere.* 166:41–62. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.09.070.
- Anderson O, Phillips R, McDonald R, Shore R, McGill R, Bearhop S. 2009. Influence of trophic position and foraging range on mercury levels within a seabird community. *Mar Ecol Prog Ser.* 375:277–288. doi:10.3354/meps07784.
- Ansari TM, Marr IL, Tariq N. 2003. Heavy Metals in Marine Pollution Perspective—A Mini Review. *Journal of Applied Sciences.* 4(1):1–20. doi:10.3923/jas.2004.1.20.
- Antunes R, Paiva V, Correia J. 2023. Avaliação de metais pesados e do quadro lesional de gaivotas (*Larus fuscus* e *Larus michahellis*) com síndrome parético.
- Arcos J, Ruiz X, Bearhop S, Furness R. 2002. Mercury levels in seabirds and their fish prey at the Ebro Delta (NW Mediterranean): the role of trawler discards as a source of contamination. *Mar Ecol Prog Ser.* 232:281–290. doi:10.3354/meps232281.
- Aryal M, Liakopoulou-Kyriakides M. 2015. Bioremoval of heavy metals by bacterial biomass. *Environ Monit Assess.* 187(1):4173. doi:10.1007/s10661-014-4173-z.
- Ayas Z, Levent Aksu M, AYafi Z, Çelkkan H, Levent AKSU M. 2008. Lead (Pb) and Copper (Cu) Concentration in the Eggshells of Audouin's Gulls (*Larus audouinii*) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology.* 32(4):379–384. <https://www.researchgate.net/publication/288381643>.
- Baker AJ, Pereira SL, Paton TA. 2007. Phylogenetic relationships and divergence times of Charadriiformes genera: multigene evidence for the Cretaceous origin of at least 14 clades of shorebirds. *Biol Lett.* 3(2):205–210. doi:10.1098/RSBL.2006.0606. [accessed 2023 Nov 16]. <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsbl.2006.0606>.
- Ball R. 2003. Charadriiformes (Gulls, Shorebirds). In: Fowler M, Miller RE, editors. *Zoo and Wild Animal Medicine.* 5th ed. Missouri: Saunders. p. 136–140.
- Barbieri E, Passos E de A, Filippini A, dos Santos IS, Garcia CAB. 2010. Assessment of trace metal concentration in feathers of seabird (*Larus dominicanus*) sampled in the Florianópolis, SC, Brazilian coast. *Environ Monit Assess.* 169(1–4):631–638. doi:10.1007/s10661-009-1202-4.
- Barrales I, Hernández-Moreno D, Fidalgo LE, López-Beceiro A, Martínez-Morcillo S, Sánchez-Montero L, Prado Míguez M, Soler F, Pérez-López M. 2021. Levels of zinc, cadmium, and lead in liver, kidney, and feathers of Atlantic puffins (*Fratercula arctica*) from Spain. *Toxicol Environ Chem.* 103(1):104–117. doi:10.1080/02772248.2021.1872574.
- Bearhop S, Waldron S, Thompson D, Furness R. 2000. Bioamplification of Mercury in Great Skua *Catharacta skua* Chicks: the Influence of Trophic Status as Determined by Stable

- Isotope Signatures of Blood and Feathers. *Mar Pollut Bull.* 40(2):181–185. doi:10.1016/S0025-326X(99)00205-2.
- Belda EJ, Saà Nchez A. 2000. Seabird mortality on longline Fisheries in the western Mediterranean: factors affecting bycatch and proposed mitigating measures. [www.elsevier.com/locate/biocon](http://www.elsevier.com/locate/biocon).
- Bensch S, Hasselquist D. 1991. Territory Infidelity in the Polygynous Great Reed Warbler *Acrocephalus arundinaceus*: The Effect of Variation in Territory Attractiveness. *J Anim Ecol.* 60(3):857. doi:10.2307/5418.
- Bhuiyan MAH, Parvez L, Islam MA, Dampare SB, Suzuki S. 2010. Heavy metal pollution of coal mine-affected agricultural soils in the northern part of Bangladesh. *J Hazard Mater.* 173(1–3):384–392. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.08.085.
- Bianchi N, Baccetti N, Leonzio C, Giovacchini P, Ancora S. 2018. Temporal and geographical variations of mercury and selenium in eggs of *Larus michahellis* and *Larus audouinii* from central Mediterranean islands. *Chemistry and Ecology.* 34(7):595–609. doi:10.1080/02757540.2018.1482885.
- BirdLife International. 2018. *Larus fuliginosus*, Lava Gull. In: The IUCN Red List of Threatened Species 2018.
- BirdLife International. 2020. *Larus audouinii*. In: The IUCN Red List of Threatened Species 2020.
- Bocher P, Caurant F, Miramand P, Cherel Y, Bustamante P. 2003. Influence of the diet on the bioaccumulation of heavy metals in zooplankton-eating petrels at Kerguelen archipelago, Southern Indian Ocean. *Polar Biol.* 26(12):759–767. doi:10.1007/s00300-003-0552-6.
- Braune BM, Gaskin DE. 1987. A Mercury Budget for the Bonaparte's Gull during Autumn Molt. *Ornis Scandinavica.* 18(4):244. doi:10.2307/3676891.
- Brooke MDL. 1979. Differences in the Quality of Territories Held by Wheatears (*Oenanthe oenanthe*). *J Anim Ecol.* 48(1):21. doi:10.2307/4097.
- Burger J. 1988. Foraging Behavior in Gulls: Differences in Method. <http://www.jstor.org>.
- Burger J, Gochfeld M. 1999. Environmental Toxicology HEAVY METALS IN FRANKLIN'S GULL TISSUES: AGE AND TISSUE DIFFERENCES.
- Burger J, Gochfeld M. 2000. Metal levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean. *Science of The Total Environment.* 257(1):37–52. doi:10.1016/S0048-9697(00)00496-4.
- Burger J, Gochfeld M. 2019. Laridae, Sternidae, and Rynchopidae. In: *Encyclopedia of Ocean Sciences, Third Edition: Volume 1-5. Vol. 1–5.* Elsevier. p. V2-18-V2-30.
- Burger J, Gochfeld M, Garcia E, Sharpe C. 2020. Audouin's Gull (*Ichthyaetus audouinii*). In: del Hoyo J, Elliott A, Sargatal J, Christie D, de Juana E, editors. *Birds of the World.* Cornell Lab of Ornithology.
- Burguer J, Gochfeld M. 2020. Franklin's Gull (*Leucophaeus pipixcan*). In: *Birds of the World.* Cornell Lab of Ornithology.
- Burrell DC. 1974. *Atomic Spectrometric Analysis of Heavy Metal Pollutants in Water.* Michigan: Ann Arbor Science Publishers. p. 19–45.

- Bustamante P, Carravieri A, Goutte A, Barbraud C, Delord K, Chastel O, Weimerskirch H, Chereil Y. 2016. High feather mercury concentrations in the wandering albatross are related to sex, breeding status and trophic ecology with no demographic consequences. *Environ Res.* 144:1–10. doi:10.1016/j.envres.2015.10.024.
- Bustamante P, Caurant F, Fowler SW, Miramand P. 1998. Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. *Science of The Total Environment.* 220(1):71–80. doi:10.1016/S0048-9697(98)00250-2.
- Calado JG, Matos DM, Ramos JA, Moniz F, Ceia FR, Granadeiro JP, Paiva VH. 2018. Seasonal and annual differences in the foraging ecology of two gull species breeding in sympatry and their use of fishery discards. *J Avian Biol.* 49(1). doi:10.1111/JAV.01463.
- Calado JG, Paiva VH, Ramos JA. 2016. Stable isotopes and regurgitations reveal differential consumption of fishery discards by Yellow-legged (*Larus michahellis*) and Audouin's (*Larus audouinii*) gulls breeding in sympat. <http://www.mare-centre.pt>.
- Calado JG, Veríssimo SN, Paiva VH, Ramos R, Vaz PT, Matos D, Pereira J, Lopes C, Oliveira N, Quaresma A, et al. 2021. Influence of fisheries on the spatio-temporal feeding ecology of gulls along the western Iberian coast. *Mar Ecol Prog Ser.* 661:187–201. doi:10.3354/meps13601.
- Carravieri A, Chereil Y, Blévin P, Brault-Favrou M, Chastel O, Bustamante P. 2014. Mercury exposure in a large subantarctic avian community. *Environmental Pollution.* 190:51–57. doi:10.1016/j.envpol.2014.03.017.
- Carvalho PC, Bugoni L, McGill RAR, Bianchini A. 2013. Metal and selenium concentrations in blood and feathers of petrels of the genus *procellaria*. *Environ Toxicol Chem.* 32(7):1641–1648. doi:10.1002/etc.2204.
- Chu Philip C, Chu P C. 1998. A Phylogeny of the Gulls (Aves: Larinae) Inferred from Osteological and Integumentary Characters. *Cladistics.* 14(1):1–43. doi:10.1111/J.1096-0031.1998.TB00202.X. [accessed 2023 Nov 15]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1096-0031.1998.tb00202.x>.
- Cooke SW. 2003. Waterfowl: swans, geese, ducks, grebes and divers. In: Mullineaux E, Best D, Cooper JE, editors. *BSAVA Manual of Wildlife Casualties*. Gloucester: BSAVA. p. 219–231.
- Coulson JC. 1963. The status of the Kittiwake in the British Isles. *Bird Study.* 10(3):147–179. doi:10.1080/00063656309476048.
- Coulson JC, Coulson BA. 2009. Ecology and Colonial Structure of Large Gulls in an Urban Colony: Investigations and Management at Dumfries, SW Scotland. *Waterbirds.* 32(1):1–15. doi:10.1675/063.032.0101.
- Coulson JC, Coulson BA. 2015. The accuracy of urban nesting gull censuses. *Bird Study.* 62(2):170–176. doi:10.1080/00063657.2015.1013523.
- Cramp S, Simmons K. 1983. *Waders to Gulls*. In: *The Birds of the Western Palearctic*. Vol. 3. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Dietz R, Riget F, Johansen P. 1996. Lead, cadmium, mercury and selenium in Greenland marine animals. *Science of The Total Environment.* 186(1–2):67–93. doi:10.1016/0048-9697(96)05086-3.

- Duruibe J, Egwurugwu J. 2007. Heavy Metal Pollution and Human Biotoxic Effects. <http://www.academicjournals.org/IJPS>.
- Espín S, Martínez-López E, Jiménez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. 2016. Interspecific differences in the antioxidant capacity of two Laridae species exposed to metals. *Environ Res.* 147:115–124. doi:10.1016/j.envres.2016.01.029.
- Fujishiro H, Sumino M, Sumi D, Umemoto H, Tsuneyama K, Matsukawa T, Yokoyama K, Himeno S. 2022. Spatial localization of cadmium and metallothionein in the kidneys of mice at the early phase of cadmium accumulation. *J Toxicol Sci.* 47(12):507–517. doi:10.2131/jts.47.507.
- Furness R, Camphuysen. 1997. Seabirds as monitors of the marine environment. *ICES Journal of Marine Science.* 54(4):726–737. doi:10.1006/jmsc.1997.0243.
- Furness RW, Monaghan P. 1986. *Seabird Ecology*. Boston, MA: Springer US.
- Genovart M, Oro D, Bonhomme F. 2003. Genetic and morphological differentiation between the two largest breeding colonies of Audouin's Gull *Larus audouinii*. *Ibis.* 145(3):448–456. doi:10.1046/j.1474-919X.2003.00187.x.
- Gochfeld M, Belant JL, Shukla T, Benson T, Burger J. 1996a. Heavy metals in laughing gulls: Gender, age and tissue differences. *Environ Toxicol Chem.* 15(12):2275–2283. doi:10.1002/etc.5620151223.
- Gochfeld M, Belant JL, Shukla T, Benson T, Burger J. 1996b. Heavy metals in laughing gulls: Gender, age and tissue differences. *Environ Toxicol Chem.* 15(12):2275–2283. doi:10.1002/etc.5620151223.
- Goede AA, De Bruin M. 1986. The use of bird feathers for indicating heavy metal pollution. *Environ Monit Assess.* 7(3):249–256. doi:10.1007/BF00418017.
- González-Solís J, Pedrocchi V, Oro D, González-Solís Pedrocchi J. 1996. Differences between diet of adult and chick Audouin's Gulls *Larus audouinii* at the Chafarinas Islands, SW Mediterranean. <https://www.researchgate.net/publication/237525898>.
- González-Solís J, Sanpera C, Ruiz X. 2002. Metals and selenium as bioindicators of geographic and trophic segregation in giant petrels *Macronectes* spp. *Mar Ecol Prog Ser.* 244:257–264. doi:10.3354/meps244257.
- Gutiérrez R, Guinard E. 2008. The Ebro Delta Audouin's Gull colony and vagrancy potential to northwest Europe. *British Birds.*
- del Hoyo J, Collar N, Kirwan G, Sharpe C, Garcia E. 2020. Yellow-legged Gull (*Larus michahellis*). In: *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology.
- del Hoyo J, Elliot A, Sargatal J. 1996. Hoatzin to Auks. In: *Handbook of the Birds of the World*. Vol. 3. Barcelona, Spain: Lynx Edicions.
- Huig N, Buijs RJ, Kleyheeg E. 2016. Summer in the city: behaviour of large gulls visiting an urban area during the breeding season. *Bird Study.* 63(2):214–222. doi:10.1080/00063657.2016.1159179.
- ICNF. 2005. *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal*.
- Introduction to Phylogeny: What is a Sister Taxa? 2004. Department of Biological Sciences, California State University. [accessed 2023 Nov 16]. [biology.fullerton.edu/biol404/phylo/sisters.html](http://biology.fullerton.edu/biol404/phylo/sisters.html).

- Iyer A, Mody K, Jha B. 2005. Biosorption of heavy metals by a marine bacterium. *Mar Pollut Bull.* 50(3):340–343. doi:10.1016/j.marpolbul.2004.11.012.
- Keeble E. 2003. Seabirds: gulls, auks, gannets, petrels. In: Mullineaux E, Best D, Cooper JE, editors. *BSAVA Manual of Wildlife Casualties*. Gloucester: BSAVA. p. 202–213.
- Kim EY, Goto R, Tanabe S, Tanaka H, Tatsukawa R. 1998. Distribution of 14 Elements in Tissues and Organs of Oceanic Seabirds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*.
- Kim J, Lee D-P, Koo T-H. 2010. Effects of age on heavy metal concentrations of black-crowned night herons *Nycticorax nycticorax* from Korea. *J Environ Monit.* 12(3):600–607. doi:10.1039/B911598F.
- Kim SY, Monaghan P. 2005. Interacting effects of nest shelter and breeder quality on behaviour and breeding performance of herring gulls. *Anim Behav.* 69(2):301–306. doi:10.1016/j.anbehav.2004.06.002.
- Koivula MJ, Eeva T. 2010. Metal-related oxidative stress in birds. *Environmental Pollution.* 158(7):2359–2370. doi:10.1016/j.envpol.2010.03.013.
- Kubetzki U, Garthe S. 2007. Nests With a View: Distribution, Nest Habitats and Diets of Roof-Breeding Common Gulls (*Larus canus*) in Northern Germany. [https://doi.org/10.1675/1524-4695\(2007\)030\[0602:NWAVDN\]20CO;2](https://doi.org/10.1675/1524-4695(2007)030[0602:NWAVDN]20CO;2). 30(4):602–608. doi:10.1675/1524-4695(2007)030. [accessed 2023 Dec 7]. [https://bioone.org/journals/waterbirds/volume-30/issue-4/1524-4695\\_2007\\_030\\_0602\\_NWAVDN\\_2.0.CO\\_2/Nests-With-a-View--Distribution-Nest-Habitats-and-Diets/10.1675/1524-4695\(2007\)030\[0602:NWAVDN\]2.0.CO;2.full](https://bioone.org/journals/waterbirds/volume-30/issue-4/1524-4695_2007_030_0602_NWAVDN_2.0.CO_2/Nests-With-a-View--Distribution-Nest-Habitats-and-Diets/10.1675/1524-4695(2007)030[0602:NWAVDN]2.0.CO;2.full).
- Lafuente M, Carbonell E. 1998. Trematodes of Audouin's gull, *Larus audouinii* (Aves, Laridae), from Chafarinas Islands.
- Lamborg CH, Hammerschmidt CR, Bowman KL, Swarr GJ, Munson KM, Ohnemus DC, Lam PJ, Heimbürger L-E, Rijkenberg MJA, Saito MA. 2014. A global ocean inventory of anthropogenic mercury based on water column measurements. *Nature.* 512(7512):65–68. doi:10.1038/nature13563.
- Lanerri K, Louzao M, Martínez-Abraín A, Arcos JM, Belda EJ, Guallart J, Sánchez A, Giménez M, Maestre R, Oro D. 2010. Trawling regime influences longline seabird bycatch in the Mediterranean: New insights from a small-scale fishery. *Mar Ecol Prog Ser.* 420:241–252. doi:10.3354/meps08847.
- Lapedes DN. 1974. *Dictionary of Scientific and Technical Terms*. New York. p. 674.
- Laranjeiro MI, Alves LMF, Silva JM, Calado JG, Norte AC, Paiva VH, Lemos MFL, Ramos JA, Novais SC, Ceia FR. 2020. Assessment of environmental health based on a complementary approach using metal quantification, oxidative stress and trophic ecology of two gull species (*Larus michahellis* & *Larus audouinii*) breeding in sympatry. *Mar Pollut Bull.* 159:111439. doi:10.1016/j.marpolbul.2020.111439.
- Leal A, Lecoq M. 2006. Plano de Acção para a Conservação da Gaiivota de Audouin em Portugal.
- Lerma M, Castillo-Guerrero JA, García-Hernández J, Fernández G. 2020. Zinc concentrations in Blue-footed booby (*Sula nebouxii*) eggs, nestlings, and adults. *J Sea Res.* 165:101952. doi:10.1016/j.seares.2020.101952.

- Lierz M, Vet M. 2003. Avian renal disease: pathogenesis, diagnosis, and therapy.
- LifeSalinas. 2020. The nesting of *Larus audouinii* in Portugal. [accessed 2023 Dec 19].  
<https://lifesalinas.es/en/the-nesting-of-larus-audouinii-in-portugal/>.
- Lopes CS, Laranjeiro MI, Lavers JL, Finger A, Provencher J. 2022. Seabirds as Indicators of Metal and Plastic Pollution. In: *Seabird Biodiversity and Human Activities*. p. 169–188.
- Lumeij J. 1994. Nephrology. In: Ritchie B, Harrison G, Harrison L, editors. *Avian medicine. Principles and application*. Lake Worth: Wings Publishing. p. 538–555.
- Mañosa S, Oro D, Ruiz X. 2004. Activity patterns and foraging behaviour of Audouin's gulls in the Ebro Delta, NW Mediterranean. *Sci Mar*. 68(4):605–614.
- Martínez-abraín A, González-solis J, Pedrocchi V, Genovart M, Carles Abella J, Ruiz X, Jiménez J, Oro D. 2003. Kleptoparasitism, disturbance and predation of yellow-legged gulls on Audouin's gulls in three colonies of the western Mediterranean. *SCIENTIAMARINA*. 67:89–94.
- Matos DM, Ramos JA, Calado JG, Ceia FR, Hey J, Paiva VH. 2018. How fishing intensity affects the spatial and trophic ecology of two gull species breeding in sympatry. *ICES Journal of Marine Science*. 75(6):1949–1964. doi:10.1093/icesjms/fsy096.
- Mcdonald JH. 2009. *Handbook of biological Statistics* second edition.  
<http://udel.edu/~mcdonald/statpermissions.html>.
- Mohapatra RK, Parhi PK, Patra JK, Panda CR, Thatoi HN. 2018. Biodegradation of toxic heavy metals by marine metal resistant bacteria- a novel approach for bioremediation of the polluted saline environment. In: *Microbial Biotechnology*. Vol. 1. Springer Singapore. p. 343–376.
- Monteiro L, Granadeiro JP, Furness RW. 1998. Relationship between mercury levels and diet in Azores seabirds. *Mar Ecol Prog Ser*. 166:259–265.
- Monteiro LR, Furness RW. 1995. Seabirds as monitors of mercury in the marine environment. *Water Air Soil Pollut*. 80(1–4):851–870. doi:10.1007/BF01189736.
- Moynihan M. 1959. A revision of the family Laridae (Aves). *American Museum Novitates*. 1928:1–42.
- Mukhtar H, Chan CY, Lin YP, Lin CM. 2020. Assessing the association and predictability of heavy metals in avian organs, feathers, and bones using crowdsourced samples. *Chemosphere*. 252. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126583.
- Naccari C, Cicero N, Ferrantelli V, Giangrosso G, Vella A, Macaluso A, Naccari F, Dugo G. 2015. Toxic Metals in Pelagic, Benthic and Demersal Fish Species from Mediterranean FAO Zone 37. *Bull Environ Contam Toxicol*. 95(5):567–573. doi:10.1007/s00128-015-1585-6.
- Nieboer E, Richardson DHS. 1980. THE REPLACEMENT OF THE NONDESCRIPT TERM "HEAVY METALS" BY A BIOLOGICALLY AND CHEMICALLY SIGNIFICANT CLASSIFICATION OF METAL IONS.
- Ninomiya R, Koizumi N, Murata K. 2004. Metal Concentrations in the Liver and Kidney of Aquatic Mammals and Penguins.
- Olsen K, Larsson H. 2003. *Gulls of Europe, Asia and North America*. Helm C, editor. London, UK.
- Oro D. 1995. The influence of commercial fisheries in daily activity of Audouin's Gull *Larus audouinii* in the Ebro Delta, NE Spain.

- Oro D, Genovart X, Ruiz X, Jiménez J, García-Gans J. 1996. Differences in Diet, Population Size and Reproductive Performance between Two Colonies of Audouin's Gull *Larus audouinii* Affected by a Trawling Moratorium.
- Oro D, Jover L, Ruiz X. 1996. Influence of trawling activity on the breeding ecology of a threatened seabird, Audouin's gull *Larus audouinii*. *Mar Ecol Prog Ser.* 139(1–3):19–29. doi:10.3354/meps139019.
- Oro D, Martínez-Vilalta A. 1994. Factors affecting kleptoparasitism and predation rates upon a colony of Audouin's gull (*Larus audouinii*) by yellow-legged gulls (*Larus cachinnans*) in Spain. *Colonial Waterbirds.* 17(1):35–41. doi:10.2307/1521379.
- Paiva VH, Tavares PC, Ramos JA, Pereira E, Antunes S, Duarte AC. 2008. The Influence of Diet on Mercury Intake by Little Tern Chicks. *Arch Environ Contam Toxicol.* 55(2):317–328. doi:10.1007/s00244-007-9118-x.
- Paracuellos M, Nevado JC. 2010. Culling Yellow-legged Gulls *Larus michahellis* benefits Audouin's Gulls *Larus audouinii* at a small and remote colony. *Bird Study.* 57(1):26–30. doi:10.1080/00063650903271936.
- Payo-Payo A, Sanz-Aguilar A, Genovart M, Bertolero A, Piccardo J, Camps D, Ruiz-Olmo J, Oro D. 2018. Predator arrival elicits differential dispersal, change in age structure and reproductive performance in a prey population. *Sci Rep.* 8(1). doi:10.1038/s41598-018-20333-0.
- Pedrocchi V, Oro D, González-Solís J, Ruiz X, Jover L. 2002. Differences in diet between the two largest breeding colonies of Audouin's gulls: the effects of fishery activities\*. *SCIENTIA MARINA.* 66(3):313–320.
- Pokras M. 1996. Clinical management and biomedicine of sea birds. In: Roskopf W, Woerpel R, editors. *Disease of cage and aviary birds.* 3th ed. Baltimore . p. 981–1000.
- Pollock C. 2006. Diagnosis and treatment of avian renal disease. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice.* 9(1):107–128. doi:10.1016/j.cvex.2005.10.007.
- Pons JM, Hassanin A, Crochet PA. 2005. Phylogenetic relationships within the Laridae (Charadriiformes: Aves) inferred from mitochondrial markers. *Mol Phylogenet Evol.* 37(3):686–699. doi:10.1016/j.ympev.2005.05.011.
- Ramos R, González-Solís J, Forero MG, Moreno R, Gómez-Díaz E, Ruiz X, Hobson KA. 2009. The influence of breeding colony and sex on mercury, selenium and lead levels and carbon and nitrogen stable isotope signatures in summer and winter feathers of *Calonectris shearwaters*. *Oecologia.* 159(2):345–354. doi:10.1007/s00442-008-1215-7.
- Ramos R, Ramírez F, Jover L. 2013. Trophodynamics of inorganic pollutants in a wide-range feeder: The relevance of dietary inputs and biomagnification in the Yellow-legged gull (*Larus michahellis*). *Environmental Pollution.* 172:235–242. doi:10.1016/j.envpol.2012.09.014.
- Ramos R, Ramírez F, Sanpera C, Jover L, Ruiz X. 2009. Feeding ecology of yellow-legged gulls *Larus michahellis* in the western Mediterranean: a comparative assessment using conventional and isotopic methods. *Mar Ecol Prog Ser.* 377:289–297. doi:10.3354/MEPS07792. [accessed 2023 Nov 28]. <https://www.int-res.com/abstracts/meps/v377/p289-297/>.
- Raven SJ, Coulson JC. 1997. The distribution and abundance of *Larus* gulls nesting on buildings in Britain and Ireland. *Bird Study.* 44(1):13–34. doi:10.1080/00063659709461035.

- RIAS. 2024. Relatório de atividades 2023. <http://www.rias.pt>.
- Roca V, Lafuente M, Carbonell E. 1999. Helminth Communities in Audouin's Gulls, *Larus audouinii* from Chafarinas Islands (Western Mediterranean). *J Parasitol.* 85(5):984. doi:10.2307/3285845.
- Rock P. 2005. Urban gulls: problems and solutions. *British Birds.* 98:338–355.
- Scheuhammer AM. 1987. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: A review. *Environmental Pollution.* 46(4):263–295. doi:10.1016/0269-7491(87)90173-4.
- Schoener TW. 1971. Theory of Feeding Strategies. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 2(1):369–404. doi:10.1146/ANNUREV.ES.02.110171.002101.
- Schreiber EA, Burger J. 2001. *Biology of Marine Birds.* Schreiber EA, Burger J, editors. CRC Press.
- Serafini P, Lugarini C. 2014. Procellariiformes e outras Aves de Ambientes Marinhos (Albatroz, Petrel, Fragata, Atobá, Biguá e Gaivota). In: *Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária.* Vol. 1. 2th ed. gen . p. 417–440.
- Simon E. 1981. The osmoregulatory system of birds with salt glands.
- Sociedade Portuguesa para o Estudo das Aves. 2014. Gaivota-de-audouin. Atlas das Aves Marinhas de Portugal. [accessed 2023 Dec 20]. <https://www.atlasavesmarinhas.pt/gaivota-de-audouin/>.
- Spelt A, Soutar O, Williamson C, Memmott J, Shamoun-Baranes J, Rock P, Windsor S. 2021. Urban gulls adapt foraging schedule to human-activity patterns. *Ibis.* 163(1):274–282. doi:10.1111/ibi.12892.
- Streets DG, Zhang Q, Wu Y. 2009. Projections of Global Mercury Emissions in 2050. *Environ Sci Technol.* 43(8):2983–2988. doi:10.1021/es802474j.
- Svensson L, Mullarney K, Zetterström D. 2022. *Collins bird guide.* 4th ed. British Birds.
- Tavares S, Xavier JC, Phillips RA, Pereira ME, Pardal MA. 2013. Influence of age, sex and breeding status on mercury accumulation patterns in the wandering albatross *Diomedea exulans*. *Environmental Pollution.* 181:315–320. doi:10.1016/j.envpol.2013.06.032.
- Van Nostrand International Encyclopedia of Chemical Science. 1964. New Jersey. p. 533.
- Venugopal B, T. P. L. 1975. Toxicology of non-radioactive heavy metals and their salts. In: *heavy metal toxicity, safety and hormology, supplement, environmental quality and safety.* Stuttgart. p. 4–73.
- Voica DM, Bartha L, Banciu HL, Oren A. 2016. Heavy metal resistance in halophilic *Bacteria* and *Archaea*. *FEMS Microbiol Lett.* 363(14):fnw146. doi:10.1093/femsle/fnw146.
- Vulcano A. 2021. Seabird of the month: Audouin's Gull (*Larus audouinii*). BirdLife International . [accessed 2023 Dec 7]. <https://www.birdlife.org/news/2021/11/05/seabird-of-the-month-audouins-gull-larus-audouinii/>.
- Walsh PM. 2018. The Use of Seabirds as Monitors of Heavy Metals in the Marine Environment. In: *Heavy Metals in the Marine Environment.* CRC Press. p. 183–204.

- Winkler DW, Billerman SM, Lovette IJ. 2020. Gulls, Terns, and Skimmers (Laridae). In: Billerman SM, Keeney BK, Rodewald PG, Schulenberg TS, editors. *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology.
- Wuana RA, Okieimen FE. 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *ISRN Ecol.* 2011:1–20. doi:10.5402/2011/402647.
- Yoon KB, Cho CU, Park YC. 2015. The mitochondrial genome of the Saunders's gull *Chroicocephalus saundersi* (Charadriiformes: Laridae) and a higher phylogeny of shorebirds (Charadriiformes). *Gene.* 572(2):227–236. doi:10.1016/j.gene.2015.07.022.
- Yusof AM, Yanta NF, Wood AKH. 2004. The use of bivalves as bio-indicators in the assessment of marine pollution along a coastal area.

## 9. Anexos

Anexo 1. Concentrações medianas / médias de todos os elementos identificados nos órgãos internos das LA e das LM, e respetivas concentrações threshold de toxicidade registadas na bibliografia. Original

Metal	Concentração (mg / Kg) mediana, (AIQ)		threshold toxicidade (mg / Kg)	Orgão	Espécie	Fonte
	LA	LM				
Na	5826,15 (2051,38)	5424,44 (2441.93)	s/ estudos*	NA	NA	NA
K	9470,65 (2214,92)	10121,18 (2090.08)	s/ estudos*	NA	NA	NA
Ca	561,84 (470,98)	665,52 (454,72)	s/ estudos*	NA	NA	NA
P	11773,29 (2872,61)	11260,44 (3116.01)	s/ estudos*	NA	NA	NA
S	9692,74 (1505,58)	9932,16 (1446.57)	s/ estudos*	NA	NA	NA
Cu	11,68 (6,62)	11,18 (4,96)	15	Fígado e Rim	Pardela-preta; albatroz-de-sobrancelha;	(Kim et al. 1998)
Zn	124,21 (120,59)	107,41 (74,64)	150 - 160	Fígado e Rim	albatroz de cabeça - Pardela-preta; albatroz-de-sobrancelha;	(Kim et al. 1998)
Fe	558,73 (443,97)	689,23 (737.78)	23 078	Fígado	albatroz de cabeça - Estornídeos	(Mete et al. 2005)
Mn	5,14 (5,76)	6,76 (6,48)	6; 7	Fígado e Rim	Pardela-preta; albatroz-de-sobrancelha;	(Kim et al. 1998)
Cd	0,20 (0,37)	0,81 (3,19)	19,4 ; 106	Fígado ; Rim	albatroz de cabeça - Pardela-preta; albatroz-de-sobrancelha;	(Kim et al. 1998)
Pb	0,184 (0,22)	0,24 (0,31)	4.20	Fígado	albatroz de cabeça - cinza Gaivota-alegre	(Munoz et al. 1976)
	Concentração (mg / Kg) média ± desvio padrão		t	Valor p	Espécie	Fonte
Mg	776,85 ± 227,16	719,83 ± 170,54	s/ estudos*	NA	NA	NA

\* para estes elementos (Na, K, Ca, P, S e Mg) não existem, ao que temos conhecimento, estudos de toxicidade em aves

**Anexo 2. Variação nas concentrações medianas (mg/Kg) de Cd em moluscos bivalves, entre os meses de fevereiro e outubro de cada ano, na zona de produção algarvia, segundo registos do IPMA. Original**

