

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

Material Suplementar Ambiente Costeiro – Tema Ecotoxicologia

RT- 43/ JUN 23

RA2022 PMBA/Fest

Vitória,

Junho de 2023

SUMÁRIO

1	HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL	3
2	METODOLOGIA	3
2.1	COLETA DE AMOSTRAS DE ÁGUA, SEDIMENTO E BIOTA.....	3
2.2	ANÁLISES DE LABORATÓRIO	16
2.3	HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS.....	20
3	RESULTADOS DOS INDICADORES	20
3.1	ÍNDICE DE BIOACUMULAÇÃO (<i>IBR BIOACUMULAÇÃO</i>)	21
3.2	ÍNDICE DE RESPOSTA BIOLÓGICA (<i>IBR BIOMARCADOR</i>)	34
4	ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS	43
5	REFERÊNCIAS	43

1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL

O histórico de malha e frequência amostrais do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I (PMBA/Fest) abrange informações de suma importância para o balizamento do presente programa, uma vez que passou por modificações ao longo do tempo, visando melhor atender aos objetivos do PMBA/Fest. Todas as modificações foram aprovadas pela Câmara Técnica da Biodiversidade (CTBio) por meio do ofício SEI nº 1/2020-CTBio/DIBIO/ICMBio, de outubro de 2019, para o período de transição.

As modificações implementadas se encontram nos seguintes Materiais Suplementares: 1) MS - Malha e frequência amostrais, onde as diferentes malhas e frequências amostrais são apresentadas nas abas “Ano 1”, “Transição” e “Histórico Frequências” e 2) MS – Mapas das malhas amostrais, com a espacialização referente às malhas amostrais dos Ambientes. Como forma de esclarecer os períodos contemplados em cada uma delas, “Ano 1” se refere às estações amostrais coletadas entre setembro de 2018 e setembro de 2019 e “Transição” às estações entre outubro de 2019 e setembro de 2022.

Cabe destacar que o tema Ecotoxicologia, diferentemente dos demais temas componentes do PMBA/Fest, apenas teve sua Proposta Técnica de continuidade do monitoramento, denominada “Novo Ciclo” aprovada e implementada em janeiro de 2023. Deste modo, as modificações realizadas de malha e frequência amostral não são consideradas neste documento, que tem abrangência temporal de amostragem de setembro de 2018 a setembro de 2022.

2 METODOLOGIA

A metodologia apresentada neste relatório contempla o escopo de amostragens e análises vigentes entre setembro de 2018 e setembro de 2022, referentes ao Plano de Trabalho de 2018, do início do monitoramento. Especificamente para o tema Ecotoxicologia, o mesmo não abarca o período denominado “Novo Ciclo”, pois este tema teve sua Proposta Técnica de continuidade do monitoramento aprovada e implementada somente em janeiro de 2023.

. Após a descrição da metodologia implementada, será apresentado um breve descritivo sobre as modificações metodológicas (parâmetros, análise de parâmetros ou grupo de parâmetros, dentre outros) que ocorreram ao longo da evolução do PMBA/Fest a fim de determinar os indicadores.

2.1 COLETA DE AMOSTRAS DE ÁGUA, SEDIMENTO E BIOTA

Os protocolos de coleta e análise das amostras ambientais e biológicas foram aqueles já descritos anteriormente no âmbito do PMBA/Fest (RRDM, 2022), considerando-se, no entanto, as recomendações do *“Parecer técnico dos métodos adotados para quantificação de metais e arsênio em tecidos e vísceras da biota aquática - Avaliação da adequação e eficiência metodológica das análises de metais e arsênio no âmbito do PMBA/Fest”* emitido pela Fundação Renova em agosto de 2022. Neste caso, foram sugeridas alterações, adotadas a partir da Campanha 8 (set/out 2022), na coleta das amostras de água, sedimento destinadas as análises de arsênio e metais, conforme segue:

- (1) os frascos destinados às coletas, mesmo que ainda não tenham sido utilizados, foram banhados em ácido nítrico 5%, por 24 horas, completados por lavagem em água deionizada em abundância, para se evitar qualquer fonte de contaminação.
- (2) As coletas de água, ao longo da coluna d'água, foram realizadas utilizando-se uma garrafa horizontal do tipo *Van Dorn*. Em todas as estações amostrais foram coletadas 6 amostras de água (3 amostras de superfície e 3 amostras de fundo) para a análise das concentrações de metais totais e 6 amostras (3 amostras de superfície e 3 amostras de fundo) de água filtrada (filtro de 0,45 µm de malha) para a análise das concentrações de metais na fração dissolvida. O volume de amostra de água coletado por réplica, que era de 100 mL, passou a ser de 250 mL. Sendo assim, foi adicionado em cada réplica acidificada um volume de 3,5 mL de ácido nítrico Suprapur 65%. As amostras de água acidificadas foram mantidas refrigeradas.
- (3) As coletas de amostras de sedimento destinadas às análises químicas seguiram a metodologia padrão empregada desde a Campanha 1 (set/out 2018). Em todas as estações amostrais utilizadas para a coleta de água foram coletadas também amostras de sedimento superficial com auxílio de draga do tipo *Van Veen*. Em cada local de amostragem foram coletadas 4 amostras de sedimento. As amostras foram abertas em caixas plásticas, buscando-se gerar um mínimo de perturbação na superfície do sedimento, e fotografadas imediatamente após a coleta, a fim de registrar as características visuais do sedimento. Para a análise de metais, as amostras foram coletadas com o auxílio de espátula de plástico, raspando-se apenas os primeiros centímetros (0 - 5 cm) e obtendo-se apenas o sedimento superficial. A partir da Campanha 8 (set/out 2022), a massa de sedimento coletada por réplica, que era de 50 g, passou a ser de, no mínimo, 200 g. Potes com capacidade total de 250 g foram preenchidos, deixando-se apenas o espaço de expansão do congelamento, para garantir a massa necessária de amostra para as determinações. As amostras de sedimentos foram mantidas congeladas.

As determinações dos elementos Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Mercúrio (Hg) e Zinco (Zn), Níquel (Ni) e Alumínio (Al) nas amostras de água, sedimento referentes à Campanha 7 (março 2022 – período chuvoso) ainda se encontram em fase de discussão e definição por parte da Fundação Renova. Por sua vez, as determinações destes elementos nas amostras de água e sedimento referentes à Campanha 8 (set/out 2022 – período seco) serão encaminhadas para análise em laboratórios acreditados, por determinação da Fundação Renova.

No momento da coleta das amostras de água, foram realizadas as medidas da temperatura, condutividade elétrica, salinidade, pH e oxigênio dissolvido, utilizando-se uma sonda multiparâmetro (YSI Professional Plus). As determinações das concentrações de carbono orgânico e sulfatos, bem como da alcalinidade total e composição iônica (concentrações de Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} e Na^+) nas amostras coletadas na Campanha 7 ainda estão em discussão e definição por parte da Fundação Renova. Por sua vez, as análises das amostras coletadas na Campanha 8 serão enviadas para análise em laboratórios acreditados, por determinação da Fundação Renova.

Com o objetivo de avaliar possíveis efeitos biológicos decorrentes da contaminação ambiental por metais e arsênio e a consequente acumulação desses metais nos organismos de diferentes níveis tróficos e diferentes habitats, foram realizadas coletas de organismos típicos das regiões monitoradas. Além disso, as amostras biológicas também foram coletadas com o intuito de avaliar os biomarcadores.

No ambiente praial foram coletados, quando possível, os seguintes organismos: poliqueta (triagem manual do sedimento; 6 indivíduos por ponto de coleta), antípodas (triagem manual do sedimento; 5 pools por ponto de coleta; no mínimo 5 indivíduos por pool), o isópoda *Excirolana sp.* (triagem manual do sedimento; 5 pools por ponto de coleta; no mínimo 5 indivíduos por pool) e o caranguejo *Ocypode quadrata* (coleta manual; 6 indivíduos por ponto de coleta). Após a biometria, os crustáceos foram adequadamente anestesiados. A hemolinfa de cada indivíduo foi coletada e o organismo dissecado para retirada de músculo, brânquias e hepatopâncreas. As amostras de hemolinfa seguiram imediatamente para a preparação de análises de biomarcadores de dano no material genético, conforme será descrito posteriormente.

Nos manguezais, foram coletados caranguejos guaiamu (*Cardisoma guanhumi*) e/ou uçá (*Ucides cordatus*). Para os manguezais de franja sobre lateritos do REVIS Santa Cruz, foram coletadas espécies de crustáceos decápodes predominantes naqueles ambientes. O número mínimo amostral ($n \geq 5$) estabelecido no Anexo 5 do TR4, para as amostragens de caranguejos nos manguezais, foi aumentado para 6 indivíduos para cada espécie em cada ponto amostral. Durante a execução do monitoramento, houve a necessidade de inclusão de uma nova espécie (apenas para o ponto na foz do Rio Doce), pertencente ao mesmo nível trófico das outras, conhecida popularmente como caranguejo vermelho (*Goniopsis cruentata*) ($n=6$). A inclusão desta nova espécie se deve ao fato da inexistência de *U. cordatus* no ponto referente à foz do Rio Doce. Após a biometria, os caranguejos foram adequadamente anestesiados, a hemolinfa de cada indivíduo coletada e o organismo dissecado para coleta de músculo, brânquias e hepatopâncreas. As amostras de hemolinfa foram imediatamente preparadas e seguiram para as análises de biomarcadores de dano no material genético, conforme será descrito posteriormente.

Todas as amostras biológicas coletadas foram acondicionadas em tubos criogênicos e congeladas em nitrogênio líquido em campo, sendo posteriormente transferidas para um ultrafreezer (-80°C), onde permaneceram acondicionadas até a análise. Nas amostras da Campanha 7 foram analisados os seguintes elementos: arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), mercúrio (Hg), zinco (Zn), Níquel (Ni) e Alumínio (Al). Por sua vez, as análises destes elementos nas amostras da Campanha 8 ainda aguardam uma definição por parte da Fundação Renova. As amostras biológicas coletadas nas Campanhas 7 e 8 foram analisadas em termos dos biomarcadores em tecidos específicos dos organismos, considerando-se a natureza de cada biomarcador, conforme será detalhado mais adiante.

As atividades de campo para coleta das amostras de aves foram realizadas pela TEIA – Projetos Ambientais Ltda, em regiões estuarinas, de manguezais e costeiras, nos municípios de Aracruz, Linhares e São Mateus, no estado do Espírito Santo.

Realizaram-se as capturas e coletas das aves nos locais amostrados, conforme Autorização para atividades com finalidade científica, emitida pelo ICMBio/MMA. A presente autorização contempla a coleta de no máximo 20 aves em cada uma das 3 grandes regiões amostradas. Para as amostras de penas e sangue, poderia ser coletado, independentemente do método de coleta, um máximo de 60 espécimes por ano, considerando todas as localidades e estações do ano. Assim que a meta das amostras coletadas era atingida, a amostragem era interrompida.

A coleta das amostras foi realizada conforme os hábitos alimentares das aves relacionadas aos ambientes de estuário, manguezais e litoral, em três áreas amostrais: estuário do Rio Doce – Linhares (ES); manguezal na foz do Rio Piraquê-açu – Aracruz (ES); e praias da costa adjacente à foz do Rio Doce Norte e Sul. A representatividade das amostras seguiu os exemplos e prioridades estabelecidas no Plano de Trabalho do Tema Ecotoxicologia. Porém, quando não se observou a ocorrência de representante de uma determinada guilda, esta foi substituída por outras guildas, desde que seus representantes possuíssem hábitos alimentares relacionados a ambientes dulcícola e estuarino, dentro da área de estudo (estuário, manguezais e praias). Com isso, optou-se por substituir espécies de aves que contemplavam algumas guildas tróficas (i.e. filtradores e malacófagos) e que, de fato, não ocorreram em certas áreas amostradas, por outras espécies com representatividade em seus hábitos alimentares, tais como: onívoros, consumidores de invertebrados, pequenos vertebrados e frutos [exemplos: Cuculidae (*Crotophaga major*), Tyrannidae (*Pitangus sulphuratus*); Mimidae (*Mimus gilvus*); Thraupidae (*Conirostrum bicolor*); e Icteridae (*Icterus jamacaii*)] e insetívoros, consumidores de insetos aquáticos e terrestres [exemplos: Dendrocolaptidae (*Dendroplex picus*); Tyrannidae (*Fluvicola nengeta*); Furnariidae (*Furnarius figulus* e *Certhiaxis cinnamomeus*); Hirundinidae (*Tachycinetta albiventer* e *Stelgidopteryx ruficollis*); e Caprimulgidae (*Nannochordeiles pusillus*)]. As espécies aqui citadas possuem associação com ambientes de mangue, restinga, corpos d'água e/ou podem estar presentes em ambientes dulcícola e estuarino (SICK, 1996; SIGRIST, 2006). A lista completa das espécies de aves coletadas durante a Campanha 7 (mar 2022) encontra-se descrita na Tabela 1, enquanto as aves coletadas durante a Campanha 8 (set/out 2022) encontram-se listadas na Tabela 2.

Tabela 1: Lista de espécies de aves, cujas amostras de penas e sangue foram coletadas durante a Campanha 7 (período chuvoso, março 2022) do Projeto Ecotoxicologia do PMBA/Fest.

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Actitis macularius</i>	Costeiro	Pena
<i>Arenaria interpres</i>	Costeiro	Pena
<i>Calidris alba</i>	Costeiro	Pena
<i>Chordeiles acutipennis</i>	Costeiro	Pena
<i>Columbina squammata</i>	Costeiro	Pena
<i>Columbina talpacoti</i>	Costeiro	Pena
<i>Conirostrum bicolor</i>	Costeiro	Pena
<i>Egretta caerulea</i>	Costeiro	Pena
<i>Egretta thula</i>	Costeiro	Pena
<i>Elaenia cf. mesoleuca</i>	Costeiro	Pena
<i>Elaenia flavogaster</i>	Costeiro	Pena

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Formicivora rufa</i>	Costeiro	Pena
<i>Machetornis rixosa</i>	Costeiro	Pena
<i>Mimus gilvus</i>	Costeiro	Pena
<i>Myiarchus ferox</i>	Costeiro	Pena
<i>Paroaria dominicana</i>	Costeiro	Pena
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Costeiro	Pena
<i>Pluvialis squatarola</i>	Costeiro	Pena
<i>Rallus longirostris</i>	Costeiro	Pena
<i>Rufirallus viridis</i>	Costeiro	Pena
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Costeiro	Pena
<i>Thalasseus acutiflavus</i>	Costeiro	Pena
<i>Thalasseus maximus</i>	Costeiro	Pena
<i>Todirostrum cinereum</i>	Costeiro	Pena
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Costeiro	Pena
<i>Amazonetta brasiliensis</i>	Estuário	Pena
<i>Anthus lutescens</i>	Estuário	Pena
<i>Butorides striata</i>	Estuário	Pena
<i>Camptostoma obsoletum</i>	Estuário	Pena
<i>Certhiaxis cinnamomea</i>	Estuário	Pena
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Estuário	Pena
<i>Chloroceryle amazona</i>	Estuário	Pena
<i>Chordeiles acutipennis</i>	Estuário	Pena
<i>Columbina squammata</i>	Estuário	Pena
<i>Dendrocygna autumnalis</i>	Estuário	Pena
<i>Egretta thula</i>	Estuário	Pena
<i>Furnarius rufus</i>	Estuário	Pena
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	Estuário	Pena
<i>Glaucidium brasilianum</i>	Estuário	Pena
<i>Icterus jamacaii</i>	Estuário	Pena
<i>Megasceryle torquata</i>	Estuário	Pena
<i>Mustelirallus albicollis</i>	Estuário	Pena
<i>Myiozetetes similis</i>	Estuário	Pena
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Estuário	Pena
<i>Paroaria dominicana</i>	Estuário	Pena
<i>Phaetusa simplex</i>	Estuário	Pena
<i>Picumnus cirratus</i>	Estuário	Pena
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Estuário	Pena
<i>Polytmus guainumbi</i>	Estuário	Pena
<i>Pteroglossus aracari</i>	Estuário	Pena
<i>Satrapa icterophrys</i>	Estuário	Pena
<i>Sicalis flaveola</i>	Estuário	Pena

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Sporophila collaris</i>	Estuário	Pena
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Estuário	Pena
<i>Vanellus cayanus</i>	Estuário	Pena
<i>Actitis macularius</i>	Mangue	Pena
<i>Celeus flavescens</i>	Mangue	Pena
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Mangue	Pena
<i>Chloroceryle amazona</i>	Mangue	Pena
<i>Chloroceryle americana</i>	Mangue	Pena
<i>Columbina talpacoti</i>	Mangue	Pena
<i>Conirostrum bicolor</i>	Mangue	Pena
<i>Dendroplex picus</i>	Mangue	Pena
<i>Egretta caerulea</i>	Mangue	Pena
<i>Eupetomena macroura</i>	Mangue	Pena
<i>Fluvicola nengeta</i>	Mangue	Pena
<i>Furnarius rufus</i>	Mangue	Pena
<i>Icterus jamacaii</i>	Mangue	Pena
<i>Megaceryle torquata</i>	Mangue	Pena
<i>Mimus gilvus</i>	Mangue	Pena
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Mangue	Pena
<i>Nyctanassa violacea</i>	Mangue	Pena
<i>Picumnus cirratus</i>	Mangue	Pena
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Mangue	Pena
<i>Tachycineta albiventer</i>	Mangue	Pena
<i>Troglodytes musculus</i>	Mangue	Pena
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Mangue	Pena
<i>Actitis macularius</i>	Costeiro	Sangue
<i>Arenaria interpres</i>	Costeiro	Sangue
<i>Calidris alba</i>	Costeiro	Sangue
<i>Chordeiles acutipennis</i>	Costeiro	Sangue
<i>Columbina squammata</i>	Costeiro	Sangue
<i>Columbina talpacoti</i>	Costeiro	Sangue
<i>Conirostrum bicolor</i>	Costeiro	Sangue
<i>Egretta caerulea</i>	Costeiro	Sangue
<i>Egretta thula</i>	Costeiro	Sangue
<i>Elaenia cf. mesoleuca</i>	Costeiro	Sangue
<i>Elaenia flavogaster</i>	Costeiro	Sangue
<i>Formicivora rufa</i>	Costeiro	Sangue
<i>Machetornis rixosa</i>	Costeiro	Sangue
<i>Mimus gilvus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Myiarchus ferox</i>	Costeiro	Sangue
<i>Paroaria dominicana</i>	Costeiro	Sangue

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Pluvialis squatarola</i>	Costeiro	Sangue
<i>Rallus longirostris</i>	Costeiro	Sangue
<i>Rufirallus viridis</i>	Costeiro	Sangue
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Costeiro	Sangue
<i>Thalasseus acutiflavus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Thalasseus maximus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Todirostrum cinereum</i>	Costeiro	Sangue
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Amazonetta brasiliensis</i>	Estuário	Sangue
<i>Anthus lutescens</i>	Estuário	Sangue
<i>Butorides striata</i>	Estuário	Sangue
<i>Camptostoma obsoletum</i>	Estuário	Sangue
<i>Certhiaxis cinnamomea</i>	Estuário	Sangue
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Estuário	Sangue
<i>Chloroceryle amazona</i>	Estuário	Sangue
<i>Chordeiles acutipennis</i>	Estuário	Sangue
<i>Columbina squammata</i>	Estuário	Sangue
<i>Dendrocygna autumnalis</i>	Estuário	Sangue
<i>Egretta thula</i>	Estuário	Sangue
<i>Furnarius rufus</i>	Estuário	Sangue
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	Estuário	Sangue
<i>Glaucidium brasilianum</i>	Estuário	Sangue
<i>Icterus jamacaii</i>	Estuário	Sangue
<i>Megasceryle torquata</i>	Estuário	Sangue
<i>Mustelirallus albicollis</i>	Estuário	Sangue
<i>Myiozetetes similis</i>	Estuário	Sangue
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Estuário	Sangue
<i>Paroaria dominicana</i>	Estuário	Sangue
<i>Phaetusa simplex</i>	Estuário	Sangue
<i>Picumnus cirratus</i>	Estuário	Sangue
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Estuário	Sangue
<i>Pteroglossus aracari</i>	Estuário	Sangue
<i>Satrapa icterophrys</i>	Estuário	Sangue
<i>Sicalis flaveola</i>	Estuário	Sangue
<i>Sporophila collaris</i>	Estuário	Sangue
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Estuário	Sangue
<i>Vanellus cayanus</i>	Estuário	Sangue
<i>Actitis macularius</i>	Mangue	Sangue
<i>Celeus flavescens</i>	Mangue	Sangue
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Mangue	Sangue

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Chloroceryle amazona</i>	Mangue	Sangue
<i>Chloroceryle americana</i>	Mangue	Sangue
<i>Columbina talpacoti</i>	Mangue	Sangue
<i>Conirostrum bicolor</i>	Mangue	Sangue
<i>Dendroplex picus</i>	Mangue	Sangue
<i>Egretta caerulea</i>	Mangue	Sangue
<i>Furnarius rufus</i>	Mangue	Sangue
<i>Icterus jamacaii</i>	Mangue	Sangue
<i>Megaceryle torquata</i>	Mangue	Sangue
<i>Mimus gilvus</i>	Mangue	Sangue
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Mangue	Sangue
<i>Nyctanassa violacea</i>	Mangue	Sangue
<i>Picumnus cirratus</i>	Mangue	Sangue
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Mangue	Sangue
<i>Tachycineta albiventer</i>	Mangue	Sangue
<i>Troglodytes musculus</i>	Mangue	Sangue
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Mangue	Sangue

Tabela 2: Lista de espécies de aves, cujas amostras de penas e sangue foram coletadas durante a Campanha 8 (set/out 2022- período seco) do Projeto Ecotoxicologia do PMBA/Fest.

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Actitis macularius</i>	Costeiro	Pena
<i>Amazilia leucogaster</i>	Costeiro	Pena
<i>Ardea alba</i>	Costeiro	Pena
<i>Arenaria interpres</i>	Costeiro	Pena
<i>Calidris alba</i>	Costeiro	Pena
<i>Charadrius collaris</i>	Costeiro	Pena
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Costeiro	Pena
<i>Chordeiles acutipennis</i>	Costeiro	Pena
<i>Chrysuronia versicolor</i>	Costeiro	Pena
<i>Columbina squammata</i>	Costeiro	Pena
<i>Columbina talpacoti</i>	Costeiro	Pena
<i>Conirostrum bicolor</i>	Costeiro	Pena
<i>Dacnis cayana</i>	Costeiro	Pena
<i>Egretta caerulea</i>	Costeiro	Pena
<i>Elaenia flavogaster</i>	Costeiro	Pena
<i>Fregata magnificens</i>	Costeiro	Pena

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Icterus jamacaii</i>	Costeiro	Pena
<i>Machetornis rixosa</i>	Costeiro	Pena
<i>Mimus gilvus</i>	Costeiro	Pena
<i>Mimus saturninus</i>	Costeiro	Pena
<i>Myiarchus sp.</i>	Costeiro	Pena
<i>Numenius hudsonicus</i>	Costeiro	Pena
<i>Paroaria dominicana</i>	Costeiro	Pena
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Costeiro	Pena
<i>Pluvialis squatarola</i>	Costeiro	Pena
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Costeiro	Pena
<i>Sterna hirundo</i>	Costeiro	Pena
<i>Tachycineta albiventer</i>	Costeiro	Pena
<i>Tangara cayana</i>	Costeiro	Pena
<i>Tangara palmarum</i>	Costeiro	Pena
<i>Thalasseus acutiflavus</i>	Costeiro	Pena
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Costeiro	Pena
<i>Volatinia jacarina</i>	Costeiro	Pena
<i>Amazilia fimbriata</i>	Estuário	Pena
<i>Amazonetta brasiliensis</i>	Estuário	Pena
<i>Anthus lutescens</i>	Estuário	Pena
<i>Cairina moschata</i>	Estuário	Pena
<i>Certhiaxis cinnamomea</i>	Estuário	Pena
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Estuário	Pena
<i>Chloroceryle amazona</i>	Estuário	Pena
<i>Columbina minuta</i>	Estuário	Pena
<i>Conirostrum bicolor</i>	Estuário	Pena
<i>Crotophaga ani</i>	Estuário	Pena
<i>Egretta caerulea</i>	Estuário	Pena
<i>Elaenia flavogaster</i>	Estuário	Pena
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	Estuário	Pena
<i>Himantopus melanurus</i>	Estuário	Pena
<i>Icterus jamacaii</i>	Estuário	Pena
<i>Jacana jacana</i>	Estuário	Pena
<i>Myiozetetes similis</i>	Estuário	Pena
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Estuário	Pena

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Nyctanassa violacea</i>	Estuário	Pena
<i>Nyctidromus albicollis</i>	Estuário	Pena
<i>Paroaria dominicana</i>	Estuário	Pena
<i>Patagioenas picazuro</i>	Estuário	Pena
<i>Phaetusa simplex</i>	Estuário	Pena
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Estuário	Pena
<i>Polytmus guainumbi</i>	Estuário	Pena
<i>Progne chalybea</i>	Estuário	Pena
<i>Rynchops niger</i>	Estuário	Pena
<i>Sicalis flaveola</i>	Estuário	Pena
<i>Tangara sayaca</i>	Estuário	Pena
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Estuário	Pena
<i>Vanellus cayanus</i>	Estuário	Pena
<i>Vanellus chilensis</i>	Estuário	Pena
<i>Volatinia jacarina</i>	Estuário	Pena
<i>Actitis macularius</i>	Mangue	Pena
<i>Aramides mangle</i>	Mangue	Pena
<i>Ardea alba</i>	Mangue	Pena
<i>Cacicus haemorrhous</i>	Mangue	Pena
<i>Cairina moschata</i>	Mangue	Pena
<i>Chloroceryle amazona</i>	Mangue	Pena
<i>Conirostrum bicolor</i>	Mangue	Pena
<i>Egretta caerulea</i>	Mangue	Pena
<i>Forpus xanthopterygius</i>	Mangue	Pena
<i>Megaceryle torquata</i>	Mangue	Pena
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Mangue	Pena
<i>Picumnus cirratus</i>	Mangue	Pena
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Mangue	Pena
<i>Pygochelidon cyanoleuca</i>	Mangue	Pena
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Mangue	Pena
<i>Tachycineta albiventer</i>	Mangue	Pena
<i>Tangara brasiliensis</i>	Mangue	Pena
<i>Turdus rufiventris</i>	Mangue	Pena
<i>Actitis macularius</i>	Costeiro	Sangue
<i>Amazilia leucogaster</i>	Costeiro	Sangue

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Ardea alba</i>	Costeiro	Sangue
<i>Arenaria interpres</i>	Costeiro	Sangue
<i>Calidris alba</i>	Costeiro	Sangue
<i>Charadrius collaris</i>	Costeiro	Sangue
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Chordeiles acutipennis</i>	Costeiro	Sangue
<i>Chrysuronia versicolor</i>	Costeiro	Sangue
<i>Columbina squammata</i>	Costeiro	Sangue
<i>Columbina talpacoti</i>	Costeiro	Sangue
<i>Conirostrum bicolor</i>	Costeiro	Sangue
<i>Dacnis cayana</i>	Costeiro	Sangue
<i>Egretta caerulea</i>	Costeiro	Sangue
<i>Elaenia flavogaster</i>	Costeiro	Sangue
<i>Fregata magnificens</i>	Costeiro	Sangue
<i>Icterus jamacaii</i>	Costeiro	Sangue
<i>Machetornis rixosa</i>	Costeiro	Sangue
<i>Mimus gilvus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Mimus saturninus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Myiarchus sp.</i>	Costeiro	Sangue
<i>Numenius hudsonicus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Paroaria dominicana</i>	Costeiro	Sangue
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Pluvialis squatarola</i>	Costeiro	Sangue
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Costeiro	Sangue
<i>Sterna hirundo</i>	Costeiro	Sangue
<i>Tachycineta albiventer</i>	Costeiro	Sangue
<i>Tangara cayana</i>	Costeiro	Sangue
<i>Tangara palmarum</i>	Costeiro	Sangue
<i>Thalasseus acutiflavus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Costeiro	Sangue
<i>Volatinia jacarina</i>	Costeiro	Sangue
<i>Amazilia fimbriata</i>	Estuário	Sangue
<i>Amazonetta brasiliensis</i>	Estuário	Sangue
<i>Anthus lutescens</i>	Estuário	Sangue
<i>Cairina moschata</i>	Estuário	Sangue

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Certhiaxis cinnamomea</i>	Estuário	Sangue
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Estuário	Sangue
<i>Chloroceryle amazona</i>	Estuário	Sangue
<i>Columbina minuta</i>	Estuário	Sangue
<i>Conirostrum bicolor</i>	Estuário	Sangue
<i>Crotophaga ani</i>	Estuário	Sangue
<i>Egretta caerulea</i>	Estuário	Sangue
<i>Elaenia flavogaster</i>	Estuário	Sangue
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	Estuário	Sangue
<i>Himantopus melanurus</i>	Estuário	Sangue
<i>Icterus jamacaii</i>	Estuário	Sangue
<i>Jacana jacana</i>	Estuário	Sangue
<i>Myiozetetes similis</i>	Estuário	Sangue
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Estuário	Sangue
<i>Nyctanassa violacea</i>	Estuário	Sangue
<i>Nyctidromus albicollis</i>	Estuário	Sangue
<i>Paroaria dominicana</i>	Estuário	Sangue
<i>Patagioenas picazuro</i>	Estuário	Sangue
<i>Phaetusa simplex</i>	Estuário	Sangue
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Estuário	Sangue
<i>Polytmus guainumbi</i>	Estuário	Sangue
<i>Progne chalybea</i>	Estuário	Sangue
<i>Rynchops niger</i>	Estuário	Sangue
<i>Sicalis flaveola</i>	Estuário	Sangue
<i>Tangara sayaca</i>	Estuário	Sangue
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Estuário	Sangue
<i>Vanellus cayanus</i>	Estuário	Sangue
<i>Vanellus chilensis</i>	Estuário	Sangue
<i>Volatinia jacarina</i>	Estuário	Sangue
<i>Actitis macularius</i>	Mangue	Sangue
<i>Aramides mangle</i>	Mangue	Sangue
<i>Ardea alba</i>	Mangue	Sangue
<i>Cacicus haemorrhous</i>	Mangue	Sangue
<i>Cairina moschata</i>	Mangue	Sangue
<i>Chloroceryle amazona</i>	Mangue	Sangue

Espécie	Ambiente	Tecido
<i>Conirostrum bicolor</i>	Mangue	Sangue
<i>Egretta caerulea</i>	Mangue	Sangue
<i>Forpus xanthopterygius</i>	Mangue	Sangue
<i>Megaceryle torquata</i>	Mangue	Sangue
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Mangue	Sangue
<i>Picumnus cirratus</i>	Mangue	Sangue
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Mangue	Sangue
<i>Pygochelidon cyanoleuca</i>	Mangue	Sangue
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Mangue	Sangue
<i>Tachycineta albiventer</i>	Mangue	Sangue
<i>Tangara brasiliensis</i>	Mangue	Sangue
<i>Turdus rufiventris</i>	Mangue	Sangue

A captura das aves foi realizada com o uso de redes com malha de 20 mm ou 35 mm, medindo 6, 9, 12 ou 18 m de comprimento por 3 m de altura. Estas redes foram instaladas nos diferentes ambientes das áreas pré-definidas, com auxílio de hastes de alumínio e cordas. A quantidade de redes utilizadas variou conforme as condições ambientais dos locais de coleta, tendo sido utilizadas no máximo dez redes. O esforço de captura se deu pelo menos ao longo de dois dias/noites consecutivos ou alternados. As aves capturadas foram acondicionadas em sacos de tecido específicos para contenção destes animais e levadas até a base de apoio, localizada próxima das redes. Na base, as aves foram manipuladas e identificadas, realizou-se a coleta de dados e de amostras para posterior liberação. Apesar de estar previsto o uso apenas de redes de 10 e 12 m, houve a necessidade de utilização de redes com outras metragens (especificadas acima), por conta das características e condições ambientais encontradas em cada área amostral. No caso dos ambientes de mangue e estuário, quando possível, foram utilizadas redes de maior comprimento. Porém, em outras situações era impraticável e optou-se pela utilização de mais redes de menor comprimento para contornar obstáculos e ou abranger curtas dimensões como, por exemplo, corpos d'água e situações pontuais para captura de determinadas espécies. No ambiente costeiro, pela condição mais ampla da paisagem e suas características ambientais, foram utilizadas, predominantemente, redes de 12 m. Apesar da utilização de redes de menor comprimento, a quantidade utilizada foi proporcional as redes de maior comprimento, que também foram utilizadas, atendendo assim aos esforços e os objetivos de coleta.

Nas aves capturadas vivas, foram coletadas as seguintes amostras: sangue (máximo de 1% da massa corporal da ave; coleta em microtubo ou frasco de 1,5 ml, sem anticoagulante); penas de contorno e penas em crescimento (5 a 10 penas, para ambos os tipos de penas). A coleta de sangue das aves vivas foi realizada após a limpeza do local com álcool gel 70%, bem como a avaliação da condição física e do estado de estresse da ave. Visando reduzir o nível de estresse, optou-se pela punção do sangue com agulha de insulina, através da veia ulnar ou pelo corte de uma das unhas, no caso de

espécimes de menor massa corporal. A quantidade de sangue coletado foi de no máximo 0,2 ml nas aves menores e de 2 ml nas aves com massa corporal superior a 500 g. Após isso, o frasco contendo a amostra de sangue foi mantido refrigerado, até ser posteriormente congelado em freezer. A retirada das penas de crescimento e de contorno foi realizada manualmente com o auxílio de uma pinça. As amostras de penas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas refrigeradas, até serem posteriormente congeladas em freezer. Esta forma de armazenamento garantiu a integridade das amostras até que as análises químicas fossem realizadas.

As coletas das amostras de aves foram realizadas através do recolhimento de aves encontradas mortas nas áreas amostradas e com os usos de carabinas de ar comprimido (Gamo CFX 4,5; Gamo Black Maxxim 5,5) e pistola (Beemam 4,5). Os esforços de coletas foram complementares e direcionados às espécies não capturadas nas redes de neblina. Cada ave coletada foi individualmente acondicionada em saco plástico e, tão logo possível, foi mantida refrigerada em caixa térmica com gelo ou congelada, até ser preparada em laboratório, onde se efetivou a coleta das seguintes amostras: sangue coagulado, tecidos do músculo peitoral, parte do fígado e um osso (fêmur). Após isso, o sexo da ave foi identificado, através da visualização das gônadas, bem como foi realizada a dissecação do trato digestório para separação do conteúdo estomacal, completando assim a coleta das amostras das aves mortas. Em seguida, foi realizada a taxidermia dos espécimes. As aves taxidermizadas foram provisoriamente acondicionadas em sacos plásticos lacrados e, posteriormente, acondicionadas a seco em caixa de isopor, até o transporte para o Instituto de Ciências Biológicas da FURG, em Rio Grande/RS, onde encontram-se devidamente armazenadas.

Para todas as aves amostradas, foram feitas anotações de morfometria, muda das penas, idade, sexo, peso e, quando presente, os ectoparasitas e endoparasitas foram coletados. Para as aves coletadas, adicionalmente, foi anotado o peso total do conteúdo estomacal, bem como coletada a carcaça da ave após a retirada das amostras. Por fim, foi realizada a taxidermia da pele do indivíduo, visando o aproveitamento científico e tombamento na Coleção de Aves da FURG (CAFURG). As amostras, exceto as peles taxidermizadas, foram mantidas congeladas. Após o encerramento das campanhas, as amostras e peles taxidermizadas foram transportadas, via terrestre, até o Instituto de Ciências Biológicas da FURG, em Rio Grande (RS).

2.2 ANÁLISES DE LABORATÓRIO

ANÁLISES DAS CONCENTRAÇÕES DE METAIS E ARSÊNIO NA BIOTA

Para o caso das amostras provenientes da Campanha 7 (mar 2022), as análises das concentrações de Al, As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Na, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras biológicas foram realizadas de acordo com metodologia EPA 6020A, utilizando-se espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, Analytic Jena). Como mencionado anteriormente, as amostras de biota coletadas durante Campanha 8 (set/out 2022) encontram-se devidamente armazenadas, aguardando definição da Fundação renova quanto à análise das mesmas.

Resumidamente, as amostras de material biológico foram previamente secas em estufa (45-60°C) até peso constante e o teor de umidade foi obtido. A digestão foi realizada em um sistema de digestão por micro-ondas modelo Multiwave 3000® (Anton-Paar), equipado com um rotor para oito recipientes de quartzo do tipo 80 mL (operando na pressão de 80 bar), utilizando-se ácido nítrico ultrapuro (Suprapur, Merck). Todas as amostras foram diluídas a um fator de 10 vezes utilizando-se água ultrapura (18 MΩ cm), visando adequar as concentrações dos metais e arsênio àquelas das soluções padrão certificadas, utilizadas para calibrar os equipamentos. As concentrações dos metais e arsênio no material biológico foram expressas em µg/g de peso úmido (mg/kg de peso úmido). O controle de qualidade foi realizado através de brancos analíticos e ensaios de recuperação com materiais de referência certificados.

ANÁLISES DAS CONCENTRAÇÕES DE COMPOSTOS ORGÂNICOS EM AVES

As análises de compostos orgânicos (Quadro 1) foram realizadas no sangue das aves coletadas. Para a determinação de organoclorados, foram realizadas extrações de material biológico seco em *sohxlet* utilizando-se mistura hexano e diclorometano (1:1; v/v). Os padrões internos de PCB 103 e PCB 198 foram adicionados às amostras, que tiveram seu volume final reduzido para posterior purificação com adição de H₂SO₄. O conteúdo lipídico das amostras foi quantificado por gravimetria e as concentrações finais dos compostos organoclorados foram normalizadas a partir deste. As concentrações foram quantificadas em cromatógrafo de fase gasosa com detector de captura de elétrons (GC/ECD). O controle de qualidade foi feito por análises de “brancos” e de injeção randômica de padrões certificados de referência.

A análise de compostos organobromados se deu a partir de extrações em *sohxlet*, idênticas àquelas realizadas para os compostos organoclorados. Os padrões internos PBDE-181 e PBDE-209 foram adicionados às amostras e o volume final foi reduzido para a posterior purificação. O conteúdo lipídico foi quantificado por gravimetria e as concentrações finais dos organobromados foram normalizadas a partir deste. As concentrações dos PBDEs e MeO-PBDEs foram quantificadas em cromatógrafo de fase gasosa acoplado a espectrômetro de massa (GC/MS). O controle de qualidade foi feito por análises de “brancos” e de injeção randômica de padrões certificados de referência.

Alíquotas das amostras biológicas foram tratadas para análise de HPAs através da liofilização, pesagem e extração em *sohxlet* com metanol, com posterior saponificação por adição de hidróxido de potássio. Posteriormente, a amostra foi transferida para um funil de separação, onde é adicionado hexano. O extrato de hexano foi então separado, por agitação manual, e recolhido em novo balão volumétrico. O procedimento foi repetido três vezes, recolhendo-se todo extrato de hexano e reduzindo-o para cerca de 1mL, em evaporador rotativo a vácuo. Os extratos foram, então, purificados por *clean up* em colunas de vidro. Em seguida, o padrão interno foi adicionado ao extrato reduzido em Turbo vap, para a quantificação dos compostos. A identificação e quantificação dos HPAs se deu por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC/MS). O Quadro 1 lista os contaminantes orgânicos analisados no sangue das aves.

Quadro 1: Lista de contaminantes orgânicos determinados em amostras de sangue de aves coletadas pelo tema da Ecotoxicologia do PMBA/Fest.

PESTICIDAS	HPAs	PBDEs	PCBs
Trifluralina	Naftaleno	PBDE-28	PCB-28
a-HCH	Acenaftleno	PBDE-47	PCB-52
g-HCH	Acenafteno	PBDE-66	PCB-101
b-HCH	Fluoreno	PBDE-100	PCB-138
Heptacloro	Fenantreno	PBDE-99	PCB-153
Clorotalonil	Antraceno	PBDE-85	PCB-180
d-HCH	Fluoranteno	PBDE-154	
Diclofluanida	Pireno	PBDE-153	
Aldrim	Benzo(a)antraceno	PBDE-138	
b-Heptacloro Epóxido	Criseno		
a-Endossulfam	Benzo[b]fluoranteno		
o,p-DDE	Benzo[k]fluoranteno		
Dieldrin	Benzo[a]pireno		
p,p-DDE / o,p-DDD	Ieno[1,2,3-cd]pireno		
o,p-DDD	Dibenz[a,h]antraceno		
Endrin	Benzo(ghi)perileno		
p,p-DDD			
b-Endossulfam			
p,p-DDT			
o,p-DDT			
Endrin aldeído			
Endossulfam Sulfato			
Metoxicloro			
Endrin cetona			

Análises de biomarcadores

Biomarcadores são alterações biológicas que expressam a exposição e os efeitos tóxicos dos poluentes presentes no ambiente e podem ser mensuradas em nível molecular, celular ou fisiológico (Walker et al., 1996). Portanto, os biomarcadores selecionados para um programa de monitoramento ambiental devem detectar a exposição do organismo aos contaminantes, através de qualquer alteração biológica mensurável (biomarcadores de exposição) e/ou a magnitude de resposta do organismo aos contaminantes (biomarcadores de efeito). Assim, os biomarcadores foram analisados de forma seletiva nas amostras de invertebrados (pools de organismos inteiros ou tecidos), considerando-se os potenciais efeitos biológicos dos metais/As (desequilíbrio iônico e osmótico, inibição enzimática, oxidação de biomoléculas e danos morfológicos). As metodologias empregadas para as análises dos biomarcadores no ambiente costeiro estão listadas no Quadro e encontram-se descritas abaixo. Para fins de praticidade e rapidez na realização das análises e de precisão e reprodutibilidade dos dados, sempre que possível, foram utilizados kits comerciais de reagentes específicos que utilizam

metodologia semelhante àquelas descritas abaixo, para a determinação dos respectivos biomarcadores.

Quadro 2: Lista dos biomarcadores analisados em amostras de organismos coletados pelo tema Ecotoxicologia no ambiente costeiro.

AMOSTRA	BIOMARCADOR (classificação: efeito/exposição)
Pools de poliquetas, anfípodas e isópodas	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Hemolinfa de caranguejos	Danos de DNA (efeito)
Brânquias de caranguejos	Peroxidação lipídica (efeito)
Hepatopâncreas de caranguejos	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)

A determinação da concentração de metalotioneínas (MT) foi realizada por meio de um *kit* comercial de reagentes (*Fish Metallothionein ELISA Kit*, MyBiosource), cujo princípio de análise utiliza um método espectrofotométrico em microplaca. Os procedimentos analíticos para determinação da concentração das MT seguiram aqueles descritos pelo fabricante. Os resultados foram expressos em µg MT/mg proteína.

A lipoperoxidação (LPO) foi determinada no material biológico utilizando-se um método espectrofotométrico em microplaca, seguindo as recomendações de um *kit* comercial (*TBARS Assay Kit*, Chayman Chemical). Este método quantifica os danos em lipídios por meio da reação do malondialdeído (MDA), produto da peroxidação lipídica, com o ácido tiobarbitúrico. Esta reação ocorre em condições de acidez e alta temperatura (95°C), gerando um cromógeno fluorescente. A fluorescência gerada foi medida utilizando-se um espectrofluorímetro (excitação: 520 nm; emissão: 580 nm). Os dados foram calculados com base em uma curva construída com soluções padrão de MDA, sendo os resultados normalizados em relação ao conteúdo de proteínas nas amostras, o qual foi determinado utilizando-se o método de Bradford, e expressos em nmol MDA/mg proteína.

Os danos oxidativos em proteínas foram determinados utilizando-se um *kit* comercial de reagentes (*OxiSelect™ Protein Carbonyl Fluorometric Assay*, MyBiosource). Durante o ensaio, as proteínas carboniladas (oxidadas) foram inicialmente derivatizadas com um fluoróforo específico que se liga ao grupo carbonila da proteína na proporção de 1:1. Após isso, as proteínas foram precipitadas com ácido tricloroacético (TCA) e o fluoróforo livre removido por meio da lavagem do precipitado proteico com acetona. Após a solubilização do precipitado proteico em hidrocloreto de guanidina, a absorbância do produto proteína-fluoróforo foi determinada fluorimetricamente (emissão: 485; excitação: 538 nm) e o conteúdo de proteínas carboniladas calculado. Os resultados foram expressos em nmol PC/mg proteína.

Para a análise de sítios AP (sítios apurínicos/apirimídicos) no material genético, o DNA genômico foi previamente isolado utilizando-se um *kit* de reagentes para isolamento de DNA (*DNA isolation kit*,

PromoKine, Promocell®). A análise de sítios AP propriamente dita, foi realizada utilizando-se uma sonda capaz de reagir com o grupo aldeído destes sítios, a qual foi detectada por colorimetria (450 nm) em uma leitora de microplacas. Para tal, foi utilizado um *kit* de reagentes de detecção de dano de DNA (*DNA Damage Detection Kit*, Promokine, Promocell®; ou outro kit similar). Os resultados foram expressos em sítios AP/10⁵ pares de bases (bp).

2.3 HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS

As principais modificações metodológicas envolveram a otimização no volume das amostras coletadas, de água, sedimento destinadas as determinações de As e metais, a partir da Campanha 8 (março 2022), aumentando assim a representatividade da amostra e possibilitando, minimamente, a análise em duplicatas, para verificação de variações e precisão nos resultados. Estas modificações encontram-se descritas na seção anterior. Adicionalmente, a partir da Campanha 6 (jul/ago 2021), aAs análises das concentrações de Al, As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Na, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras biológicas foram realizadas de acordo com metodologia EPA 6020A, utilizando-se espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, Analytic Jena).

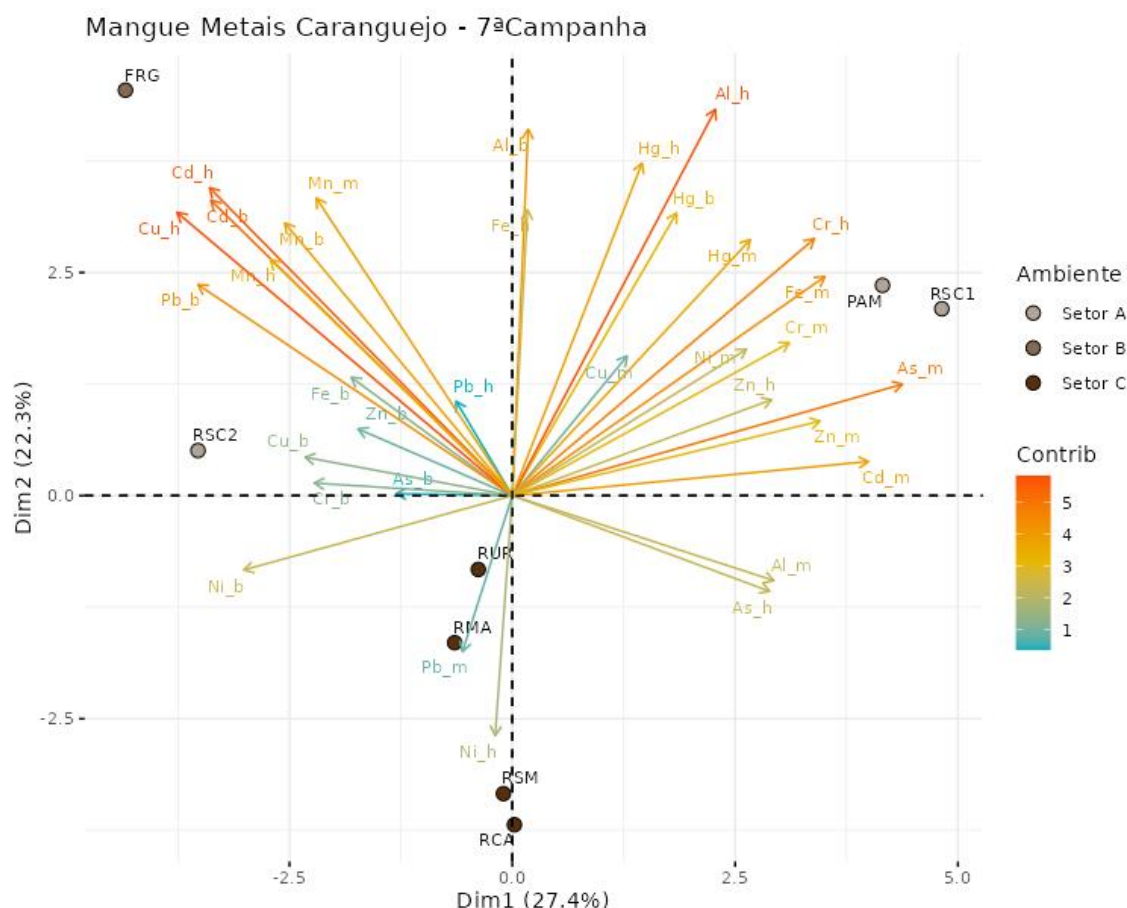
3 RESULTADOS DOS INDICADORES

Nesta seção serão apresentados os resultados dos indicadores de qualidade ambiental e da biodiversidade aquática do Tema, os quais foram desenvolvidos pelo PMBA/Fest e obtidos ao longo do monitoramento (setembro/2018 – setembro/2022) na área ambiental I. Vale ressaltar que, os indicadores aqui apresentados têm como propósito clarificar e sintetizar a historicidade dos resultados, interpretação e conclusões do monitoramento, promovendo o acompanhamento espaço-temporal da qualidade ambiental e biodiversidade, além de configurarem importantes ferramentas de suporte a gestores ambientais. A partir destes indicadores, pode-se identificar os impactos com relação direta ou indireta ao rompimento da Barragem de Fundão, em Mariana (MG).

Os indicadores do PMBA/Fest vêm se consolidando ao longo de quatro anos de monitoramento, onde seus principais resultados foram discutidos em todos os relatórios técnicos entregues até o presente, entretanto a partir do novo modelo de relatório solicitado via ofício SEI nº 85/2022-CTBio/DIBIO/ICMBio, proposto via ofício FR.2023.0214 (SEI13515133) e aprovado via ofício SEI nº4/2023-CTBio/DIBIO/ICMBio, a apresentação dos resultados será exclusivamente a partir da apresentação dos indicadores, acompanhados de legenda estendida com a explicação de sua variação espaço-temporal de forma mais direta e objetiva como se segue:

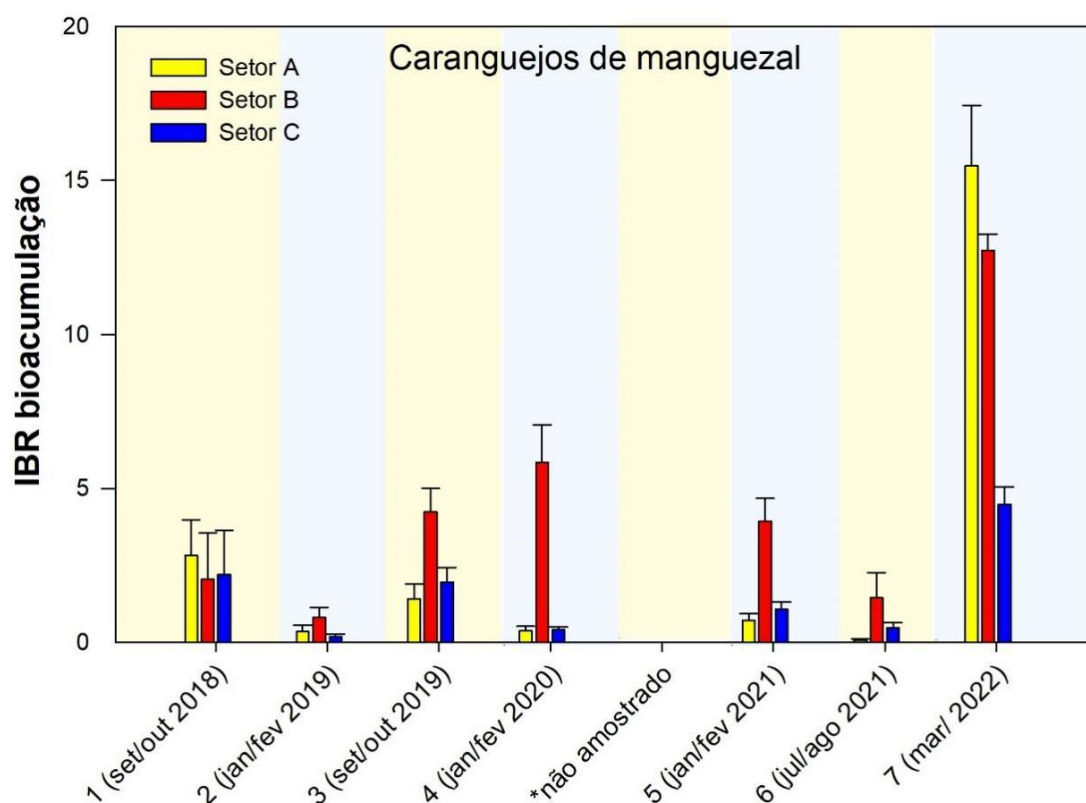
3.1 ÍNDICE DE BIOACUMULAÇÃO (IBR bioacumulação)

Figura 1: Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada para os dados de concentração de Alumínio (Al), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Mercúrio (Hg), Níquel (Ni) e Zinco (Zn) em amostras de brânquias (b), hepatopâncreas (h) e músculo (m) de caranguejos de manguezais coletados durante a Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Código dos pontos amostrais: Setor A [Revis Santa Cruz (RSC1 e RSC2) e Confluência do Piraquê-Açu e Mirim (PAM)], Setor B [foz do Rio Doce em Regência (FRG)] e Setor C [Rio Urussuquara (RUR), Rio Mariricu (RMA), Rio São Mateus (RSM) e Rio Caravelas (RCA)].



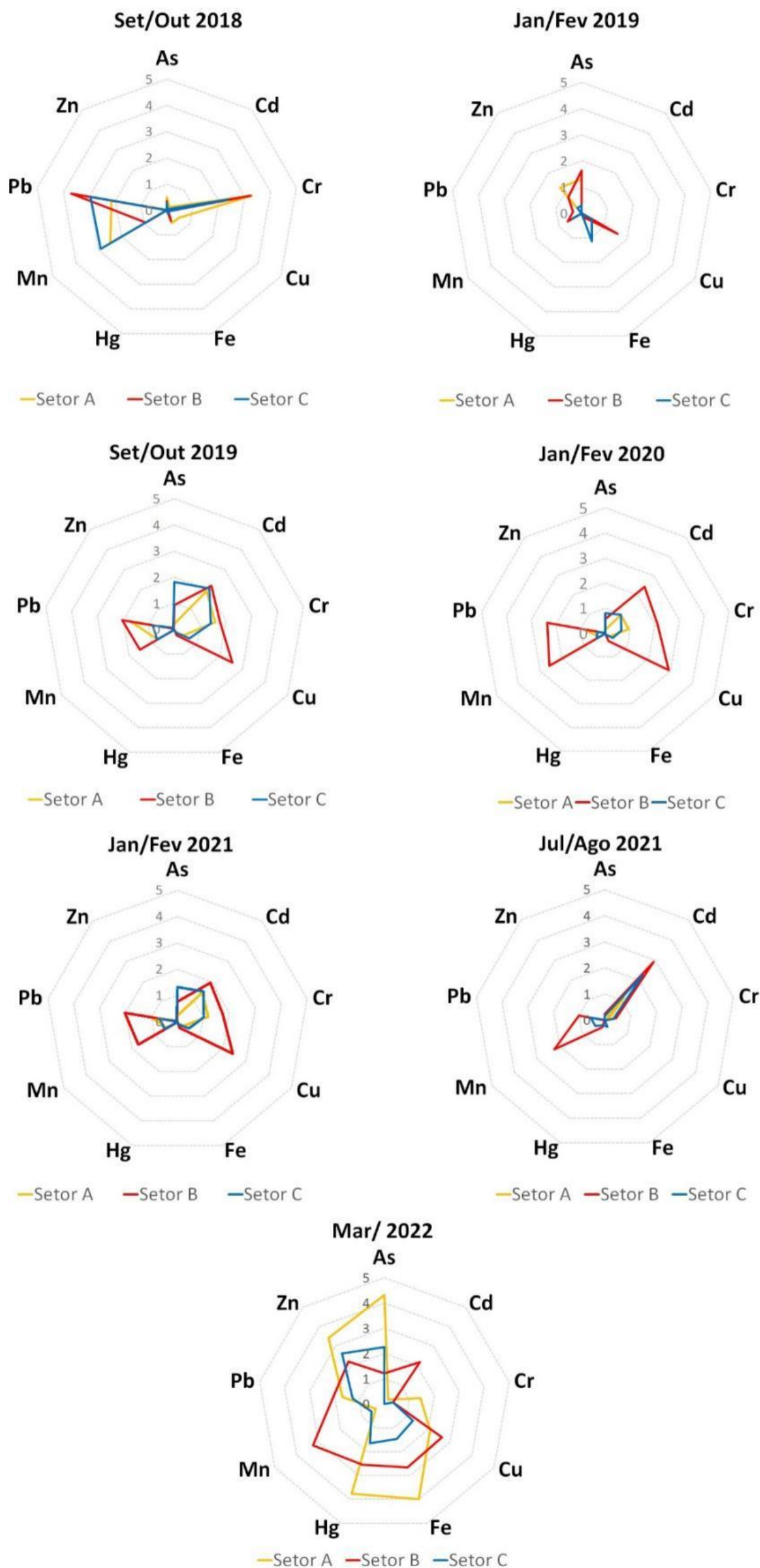
A PCA demonstra o quanto cada grupo de variáveis explica a variabilidade total dos dados. No presente caso, o primeiro componente responde por 27,4% da variabilidade, enquanto o segundo componente responde por 22,3% da variabilidade dos dados. Juntos, os dois componentes explicam 49,7% da variabilidade total dos dados. Esta Figura auxilia na visualização da disposição dos pontos amostrais em função dos dois principais componentes. A análise por quadrantes permite observar o agrupamento dos pontos amostrais, bem como verificar a relação com as variáveis de bioacumulação de metais e As nos caranguejos de manguezal. As setas indicam o efeito positivo ou negativo da variável. Observando-se os dois quadrantes superiores, denota-se que a maior parte dos elementos analisados nos tecidos dos caranguejos estiveram associados às estações amostrais do Setor A (RSC1, RSC2 e PAM), ao sul da foz do Rio Doce, bem como à estação amostral FRG, correspondente aos manguezais do estuário do Rio Doce.

Figura 2: Índice de bioacumulação de metais e As (IBR bioacumulação) para caranguejos de mangue coletados nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Revis Santa Cruz, pontos RSC1 e RSC2; e Confluência do Piraquê-Açu e Mirim, ponto PAM), Setor B (Foz do Rio Doce, ponto FRG), e Setor C (Rio Urussuquara, ponto RUR; Rio Mariricu, ponto RMA; Rio São Mateus, ponto RSM; e Rio Caravelas, ponto RCA).



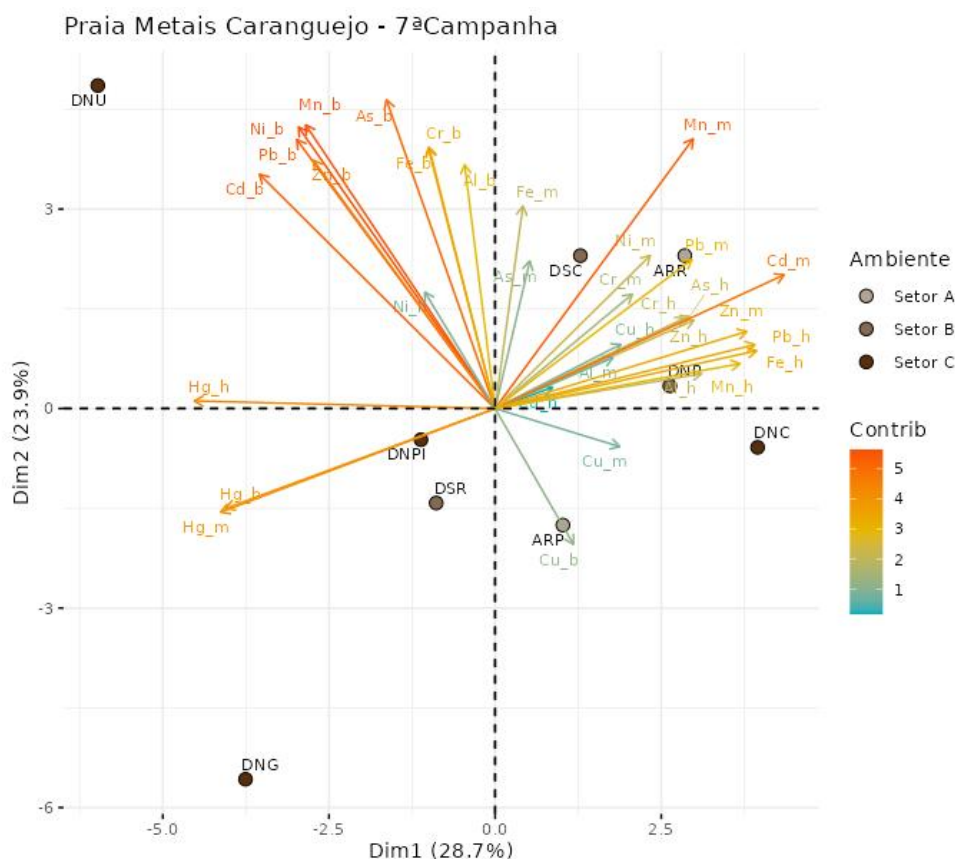
Para os caranguejos de mangue coletados no período chuvoso de 2022 (Campanha 7 – mar 2022), os resultados do IBR bioacumulação indicaram um aumento nos níveis dos elementos nos tecidos destes animais nos setores A e B, em relação àqueles observados nas campanhas anteriores. Para os caranguejos coletados no setor A, destaca-se principalmente o aumento das concentrações teciduais de As, Fe, Hg e Zn, em relação àquelas observadas nas campanhas anteriores. Por sua vez, os caranguejos coletados no setor B, representado pelo estuário do Rio Doce, apresentaram um aumento nas concentrações teciduais de Mn, Cd, Cu e Fe.

Figura 3: Gráficos de radar obtidos a partir do Índice de bioacumulação de metais e As (IBR bioacumulação) para caranguejos de mangue coletados nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Revis Santa Cruz, pontos RSC1 e RSC2; e Confluência do Piraquê-Açu e Mirim, ponto PAM), Setor B (Foz do Rio Doce, ponto FRG), e Setor C (Rio Urussuquara, ponto RUR; Rio Mariricu, ponto RMA; Rio São Mateus, ponto RSM; e Rio Caravelas, ponto RCA).



Os gráficos de radar obtidos a partir do IBR bioacumulação mostram a variação espaço temporal de cada elemento e a contribuição destes para a composição do índice. Os resultados do IBR bioacumulação indicaram um aumento nas concentrações dos elementos nos tecidos dos caranguejos coletados nos setores A e B, em relação àquelas observadas nas campanhas anteriores. Para os caranguejos coletados no setor A, destaca-se principalmente o aumento das concentrações teciduais de As, Fe, Hg e Zn, em relação àquelas observadas nas campanhas anteriores. Por sua vez, os caranguejos coletados no setor B, representado pelo estuário do Rio Doce, apresentaram um aumento nas concentrações teciduais de Mn, Cd, Cu e Fe.

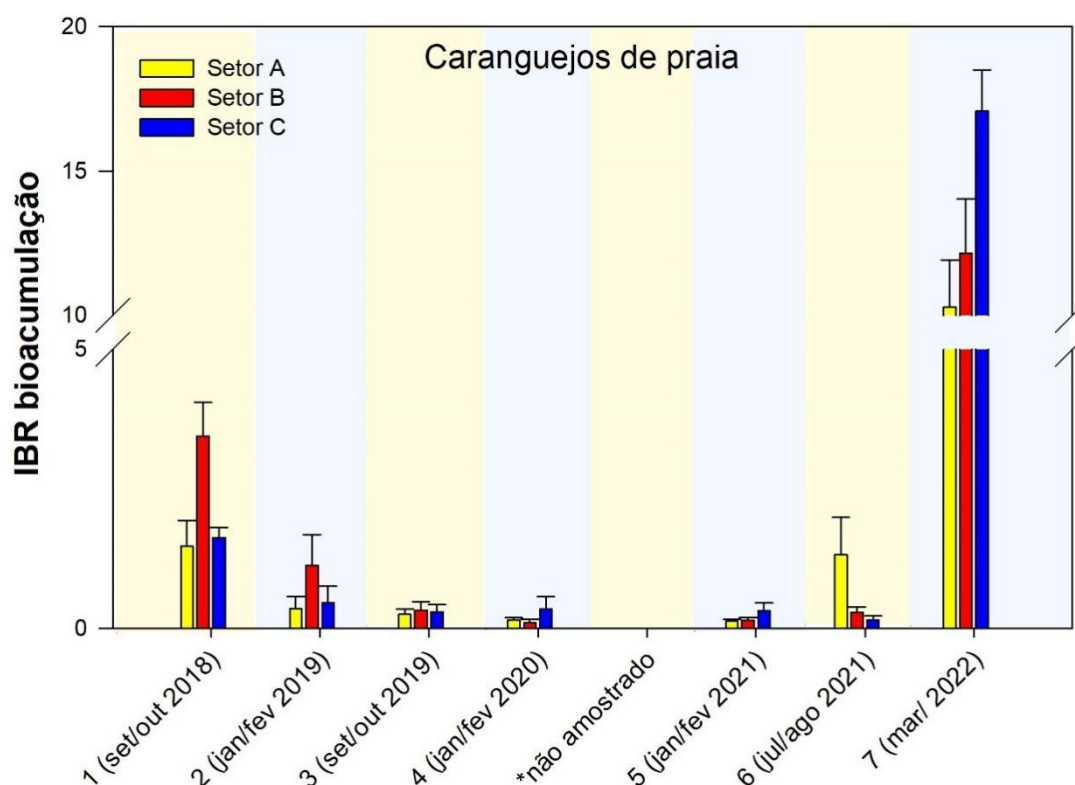
Figura 4: Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada para os dados de concentração de Alumínio (Al), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Mercúrio (Hg), Níquel (Ni) e Zinco (Zn) em amostras de brânquias (b), hepatopâncreas (h) e músculo (m) de caranguejos de praia coletados durante a Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Código dos pontos amostrais: Setor A [Aracruz – Refúgio (ARR) e Aracruz – Putiri (ARP)], Setor B [Comboios (DSC), Regência (DSR) e Povoação (DNP)], e Setor C [Vila de Cacimbas (DNC), Pontal do Ipiranga (DNPI), Urussuquara (DNU) e Guriri (DNG)].



A PCA demonstra o quanto cada grupo de variáveis explica a variabilidade total dos dados. No presente caso, o primeiro componente responde por 28,7% da variabilidade, enquanto o segundo componente responde por 23,9% da variabilidade dos dados. Juntos, os dois componentes explicam 52,6% da variabilidade total dos dados. Esta auxilia na visualização da disposição dos pontos amostrais, em função dos dois principais componentes. A análise por quadrantes permite visualizar o agrupamento dos pontos amostrais, bem como verificar a relação com as variáveis de bioacumulação de metais e As nos caranguejos de praia. As setas indicam o efeito positivo ou negativo da variável. A partir da análise

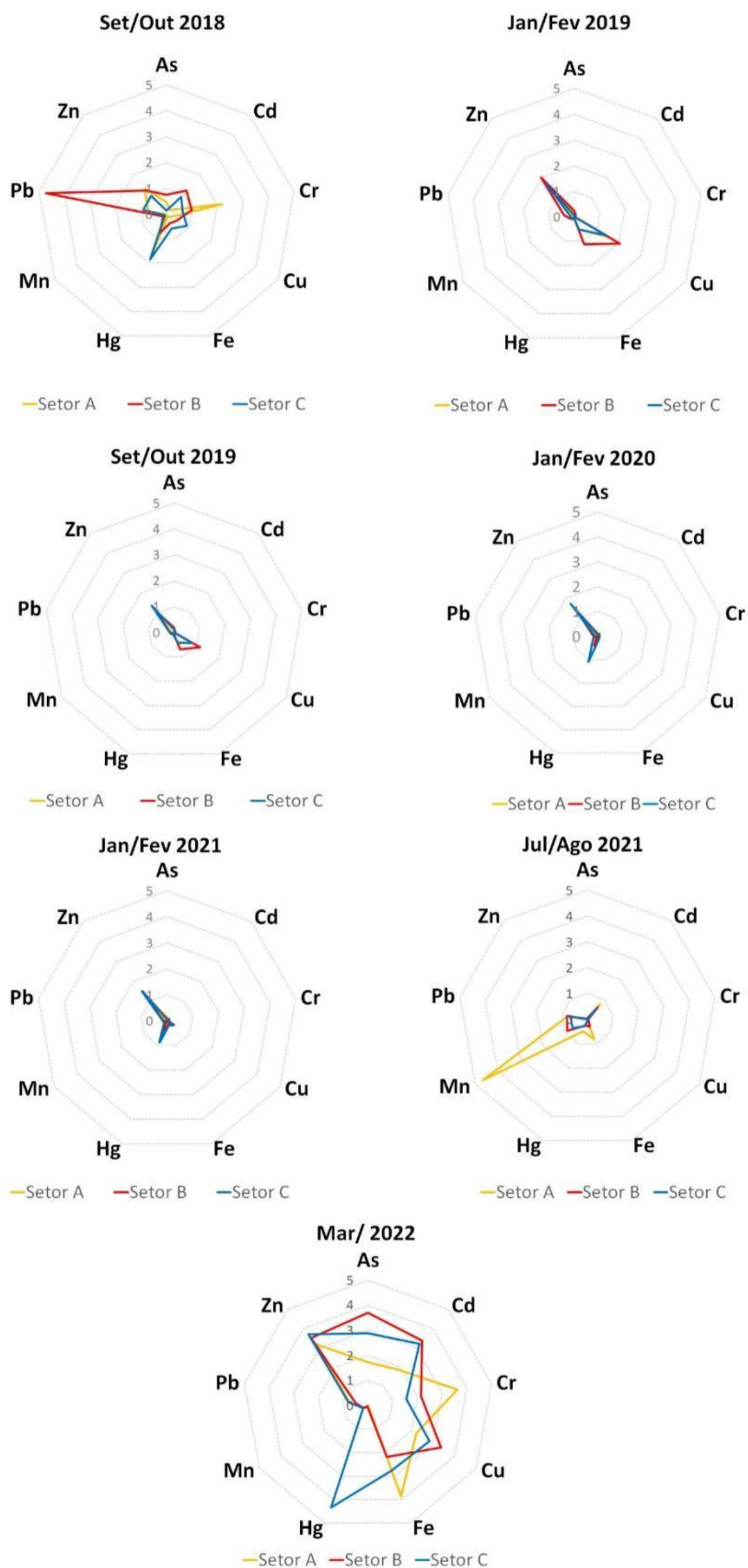
dos quadrantes superiores da PCA, pode ser observado que a maior parte dos elementos analisados nos tecidos dos caranguejos de praia estiveram associados às estações amostrais DNU, DSC, ARR e DNP.

Figura 5: Índice de bioacumulação de metais e As (IBR bioacumulação) para caranguejos de praia coletados nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Aracruz – Refúgio, ponto ARR; e Aracruz – Putiri, ponto ARP), Setor B (Comboios, ponto DSC; Regência, ponto DSR; e Povoação, ponto DNP), e Setor C (Vila de Cacimbas, ponto DNC; Pontal do Ipiranga, ponto DNPI; Urussuquara, ponto DNU; e Guriri, ponto DNG).



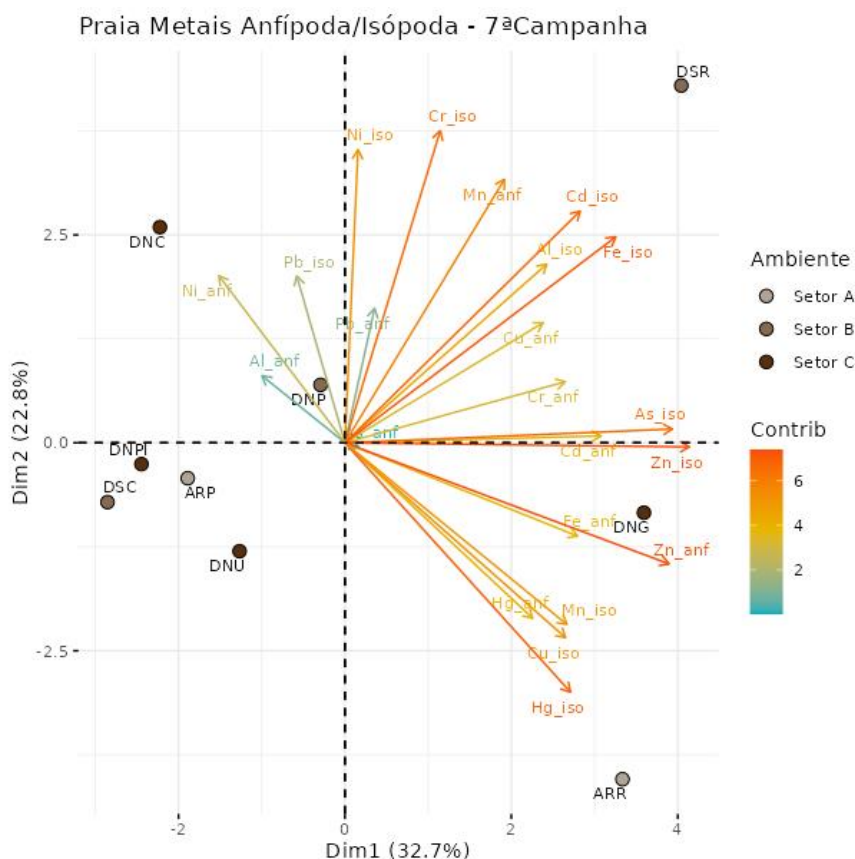
Os resultados do IBR bioacumulação nos caranguejos maria-farinha indicaram um aumento considerável nas concentrações teciduais dos elementos nos organismos durante o último período chuvoso (Campanha 7 - mar 2022), em comparação àquelas observadas nos períodos anteriores. Cabe destacar que este aumento foi observado nos três setores amostrais, incluindo o setor C (Norte), que mostrou um discreto aumento, em relação aos demais setores.

Figura 6: Gráficos de radar obtidos a partir do Índice de bioacumulação de metais e As (IBR bioacumulação) para caranguejos de praia coletados nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Aracruz – Refúgio, ponto ARR; e Aracruz – Putiri, ponto ARP), Setor B (Comboios, ponto DSC; Regência, ponto DSR; e Povoação, ponto DNP), e Setor C (Vila de Cacimbas, ponto DNC; Pontal do Ipiranga, ponto DNPI; Urussuquara, ponto DNU; e Guriri, ponto DNG). Os gráficos de radar obtidos a partir do IBR bioacumulação mostram a variação espaço temporal de cada elemento e a contribuição destes para a composição do índice.



Os resultados do IBR bioacumulação nos caranguejos maria-farinha indicaram um aumento considerável nas concentrações teciduais dos elementos nos organismos durante o último período chuvoso (Campanha 7 - mar 2022), em comparação àquelas observadas nos períodos anteriores. É interessante destacar também que este aumento nos níveis totais dos elementos nos tecidos de caranguejos de praias foi caracterizado por elementos diferentes, em cada setor amostral. Por exemplo, os caranguejos do setor C apresentaram picos de bioacumulação de Hg, enquanto os organismos coletados no setor B apresentaram níveis teciduais mais elevados de As e Cu. Já os animais coletados no setor A se destacaram pelos maiores níveis teciduais de Cr e Fe.

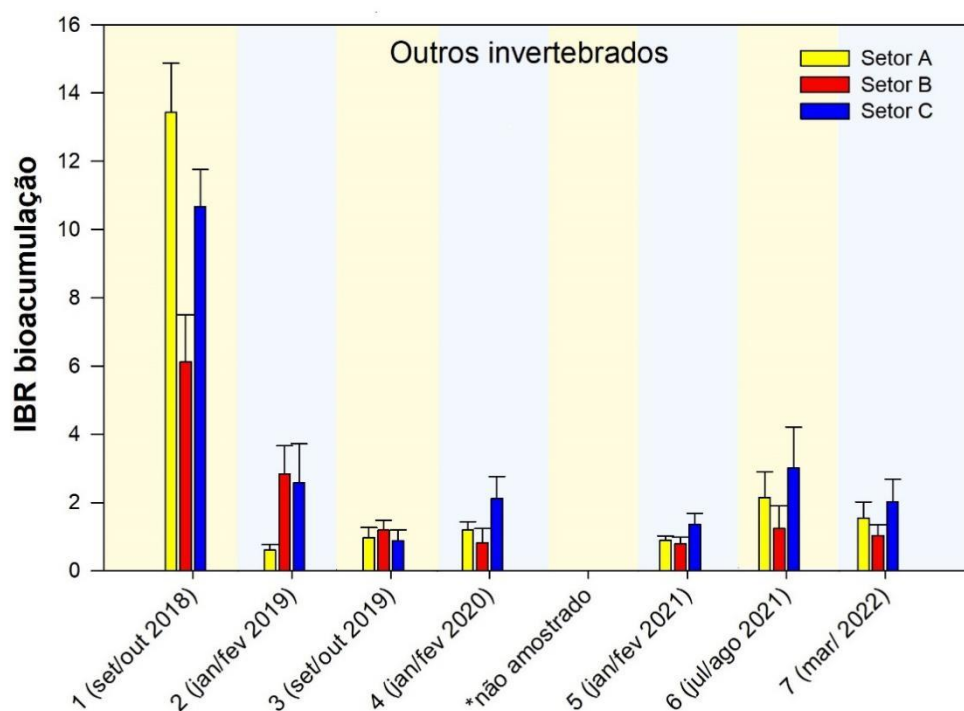
Figura 7: Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada para os dados de concentração de Alumínio (Al), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Mercúrio (Hg), Níquel (Ni) e Zinco (Zn) em amostras de anfípoda (anf) e isópoda (iso) coletadas no ambiente praiar durante a Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Código dos pontos amostrais: Setor A [Aracruz – Refúgio (ARR) e Aracruz – Putiri (ARP)], Setor B [Comboios (DSC), Regência (DSR) e Povoação (DNP)], e Setor C [Vila de Cacimbas (DNC), Pontal do Ipiranga (DNPI), Urussuquara (DNU) e Guriri (DNG)].



A PCA demonstra o quanto cada grupo de variáveis explica a variabilidade total dos dados. No presente caso, o primeiro componente responde por 32,7% da variabilidade, enquanto o segundo componente responde por 22,8% da variabilidade dos dados. Juntos, os dois componentes explicam 55,5% da variabilidade total dos dados. Essa Figura auxilia a visualizar a disposição dos pontos amostrais, em função dos dois principais componentes. A análise por quadrantes permite agrupar os pontos amostrais, bem como verificar a relação com as variáveis de biocumulação de metais e As em anfípoda e isópoda. As setas indicam o efeito positivo ou negativo da variável. A análise do primeiro

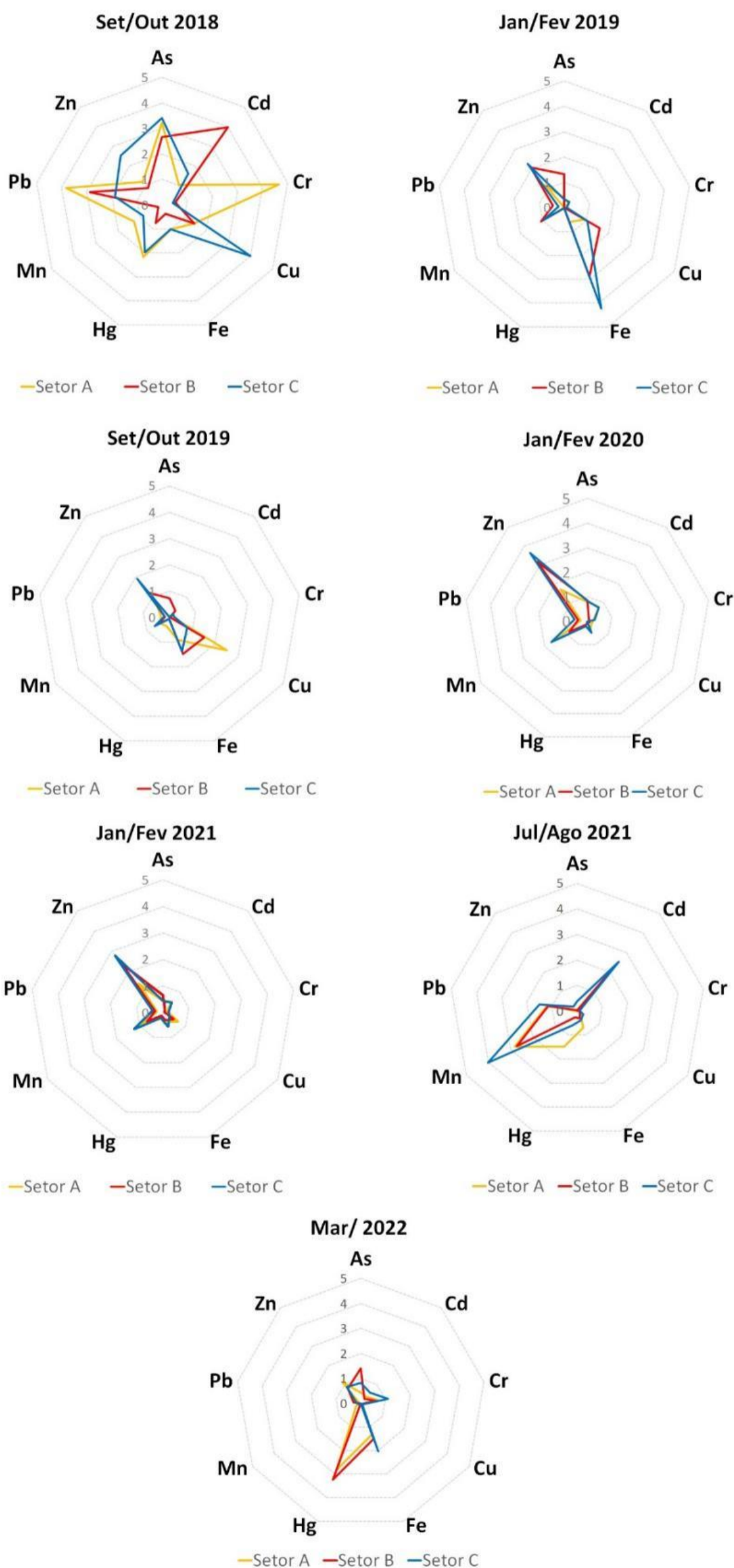
componente permite constatar que a maior parte dos metais analisados nos microcrustáceos de praia estiveram associados às estações amostrais DSR, DNG e ARR.

Figura 8: Índice de bioacumulação de metais e As (IBR bioacumulação) para anfípodas (anf) e isópodos (iso) coletados no ambiente praias nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Aracruz – Refúgio, ponto ARR; e Aracruz – Putiri, ponto ARP), Setor B (Comboios, ponto DSC; Regência, ponto DSR; e Povoação, ponto DNP), e Setor C (Vila de Cacimbas, ponto DNC; Pontal do Ipiranga, ponto DNPI; Urussuquara, ponto DNU; e Guriri, ponto DNG).



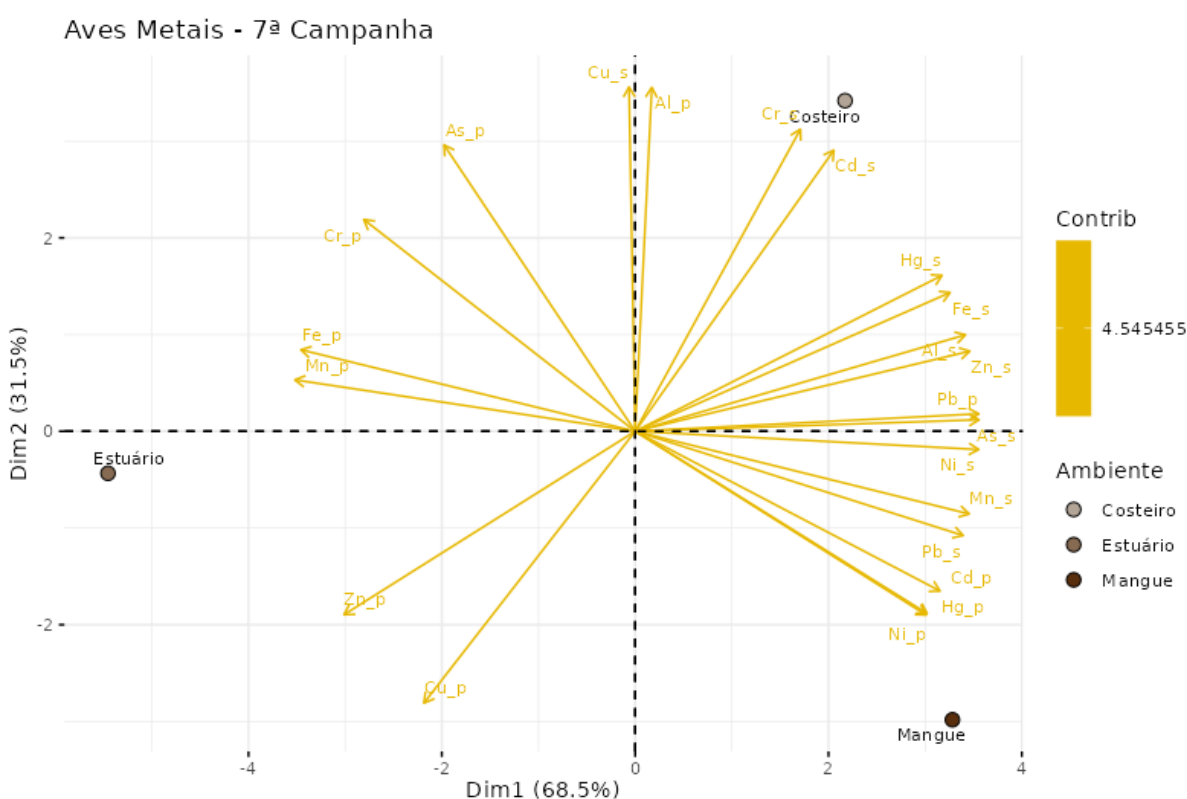
Os resultados do IBR bioacumulação obtidos para os outros invertebrados (anfípodas e isópodos) coletados nas praias indicaram, de maneira geral, pouca variação nas concentrações dos elementos nestes organismos entre os diferentes setores amostrais durante o período chuvoso de 2022 (Campanha 7 - mar 2022). Além disso, demonstraram uma tendência de estabilização das concentrações totais de metais ao longo do tempo, a partir da Campanha 2 (jan/fev 2019), com os maiores valores do índice associados à Campanha 1 (set/out 2018). Esta observação sugere a ocorrência de um impacto agudo que vem sendo atenuado ao longo do tempo, no caso deste grupo de organismos.

Figura 9: Gráficos de radar obtidos a partir do Índice de bioacumulação de metais e As (IBR bioacumulação) para anfípodos (anf) e isópodos (iso) coletados no ambiente praial nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Aracruz – Refúgio, ponto ARR; e Aracruz – Putiri, ponto ARP), Setor B (Comboios, ponto DSC; Regência, ponto DSR; e Povoação, ponto DNP), e Setor C (Vila de Cacimbas, ponto DNC; Pontal do Ipiranga, ponto DNPI; Urussuquara, ponto DNU; e Guriri, ponto DNG). Os gráficos de radar obtidos a partir do IBR bioacumulação mostram a variação espaço temporal de cada elemento e a contribuição destes para a composição do índice.



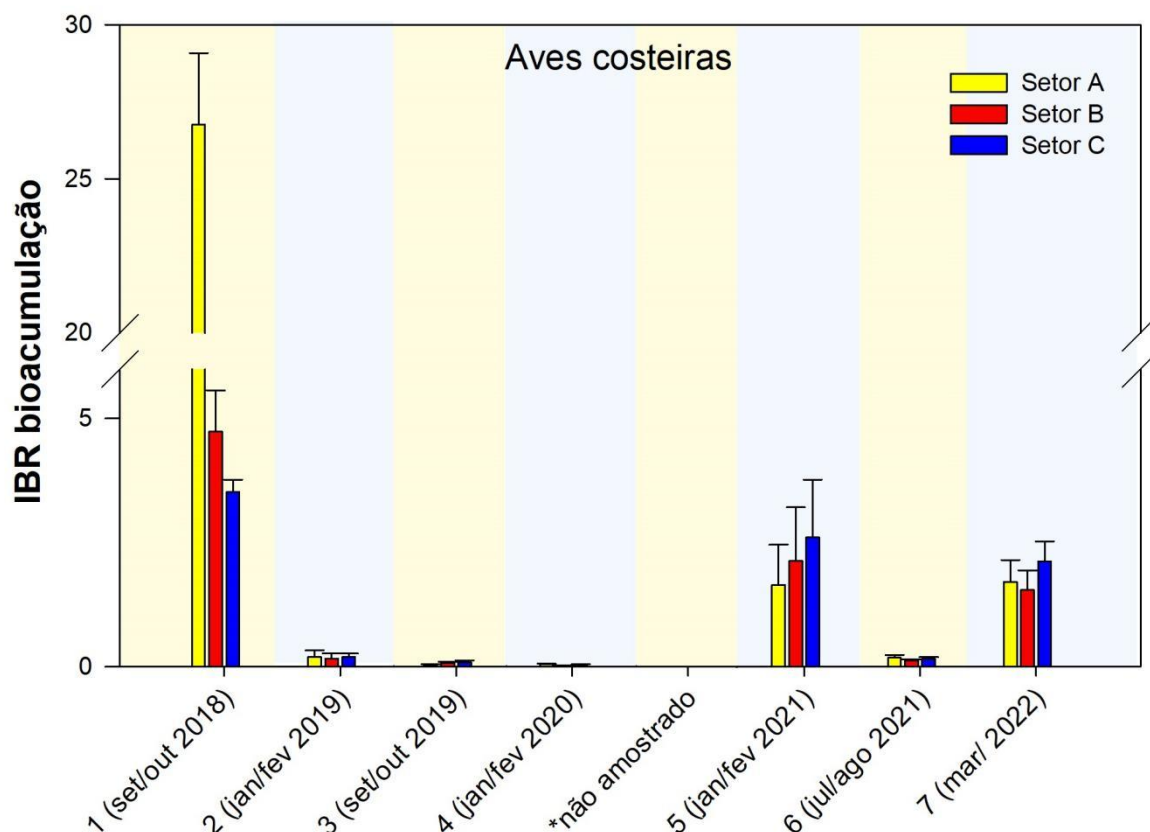
Neste caso, cabe destacar que os maiores níveis de Hg em invertebrados de praia também foram obtidos durante este último período chuvoso (Campanha 7 - mar 2022), assim como observado para os outros organismos costeiros (caranguejos de praia e de manguezais). Isto pode indicar a existência de um maior aporte deste metal para os ambientes costeiros durante os períodos caracterizados por altos índices de pluviosidade.

Figura 10: Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada para os dados de concentração de Alumínio (Al), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Mercúrio (Hg), Níquel (Ni) e Zinco (Zn) em amostras de sangue (_s) e pena de contorno (_p) de aves coletadas durante a Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022), nas áreas agrupadas como manguezal, costeiro (litoral) e estuário.



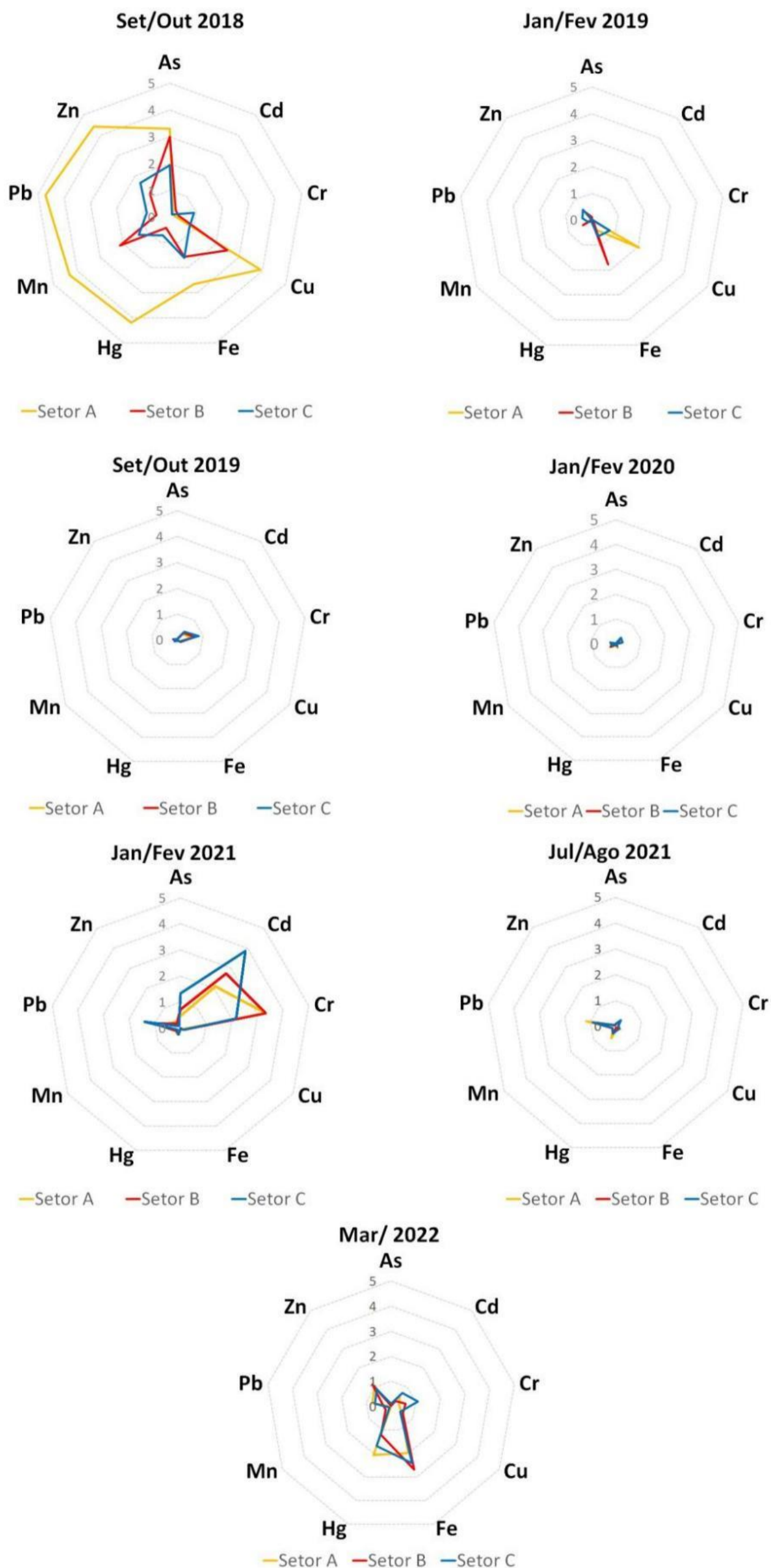
A PCA demonstra o quanto cada grupo de variáveis explica a variabilidade total dos dados. No presente caso, o primeiro componente responde por 68,5% da variabilidade, enquanto o segundo componente responde por 31,5% da variabilidade dos dados. Juntos, os dois componentes explicam 100% da variabilidade total dos dados. Essa Figura auxilia na visualização da disposição dos setores amostrais, em função dos dois principais componentes. A análise por quadrantes permite agrupar os setores amostrais, bem como verificar a relação com as variáveis de biocumulação de metais e As em penas e sangue de aves costeiras. As setas indicam o efeito positivo ou negativo da variável. A ordenação espacial evidenciou um padrão de contaminação difusa para os dados do período chuvoso de 2022, onde os diferentes ambientes mostraram-se associados às concentrações de diferentes elementos.

Figura 11: Índice de bioacumulação de metais e As (IBR bioacumulação) para amostras de aves (pena de contorno e sangue) coletadas nas áreas agrupadas como manguezal, costeiro (litoral) e estuário durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jul/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso). Composição de estações amostrais para cada área amostral: mangue (Setor A), estuário (Setor B) e costeiro/litoral (Setor C).



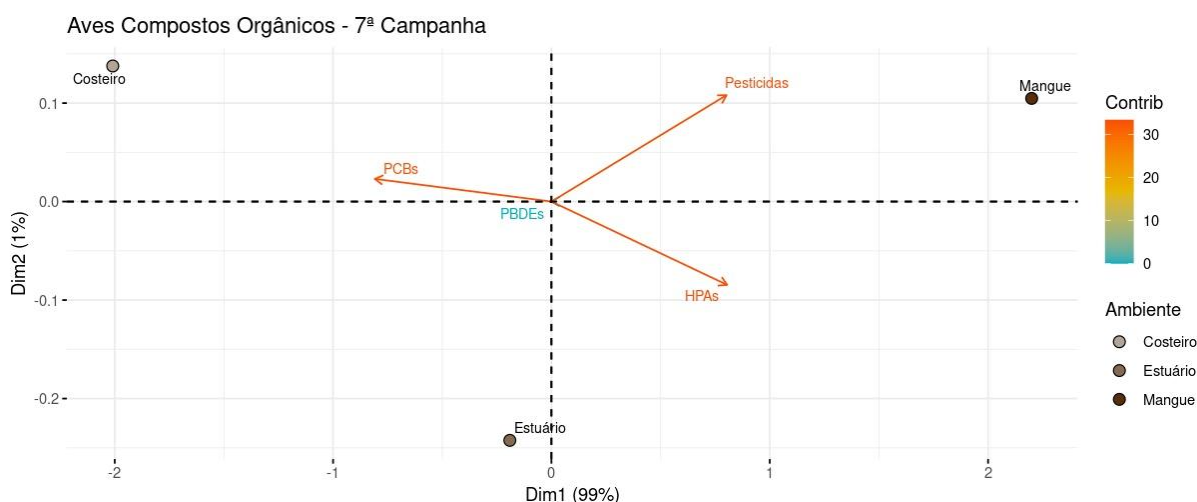
O IBR bioacumulação indicou uma diminuição temporal nos níveis dos elementos nestes organismos, tal qual observado nos organismos de praia, sendo que os maiores valores do índice foram obtidos na Campanha 1 (set/out 2018 – estação seca). Os resultados do IBR bioacumulação específicos para a Campanha 7 (mar 2022 – estação chuvosa) indicaram um discreto aumento nos níveis dos elementos nas aves costeiras, em relação à Campanha 6 (jul/ago 2021 - estação seca), sendo que tais níveis foram similares aos observados para o período chuvoso anterior (Campanha 5, jan/fev 2021). Quando os três setores amostrados no último período monitorado foram comparados, não foram observadas diferenças espaciais evidentes.

Figura 12: Gráficos de radar obtidos a partir do Índice de Resposta Biológica (IBR biomarcador) para amostras de aves (pena de contorno e sangue) coletadas nas áreas agrupadas como manguezal, costeiro (litoral) e estuário durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Composição de estações amostrais para cada área amostral: mangue (Setor A), estuário (Setor B) e costeiro/litoral (Setor C).



Neste caso, cabe destacar que as aves costeiras coletadas durante o período chuvoso de 2022 apresentaram um aumento nos níveis de Fe nas penas e no sangue, corroborando os resultados observados para outros organismos costeiros, tais como os caranguejos de manguezais e de praia. Esta observação pode indicar um maior aporte de Fe para a região em estudo durante os períodos de maior pluviosidade.

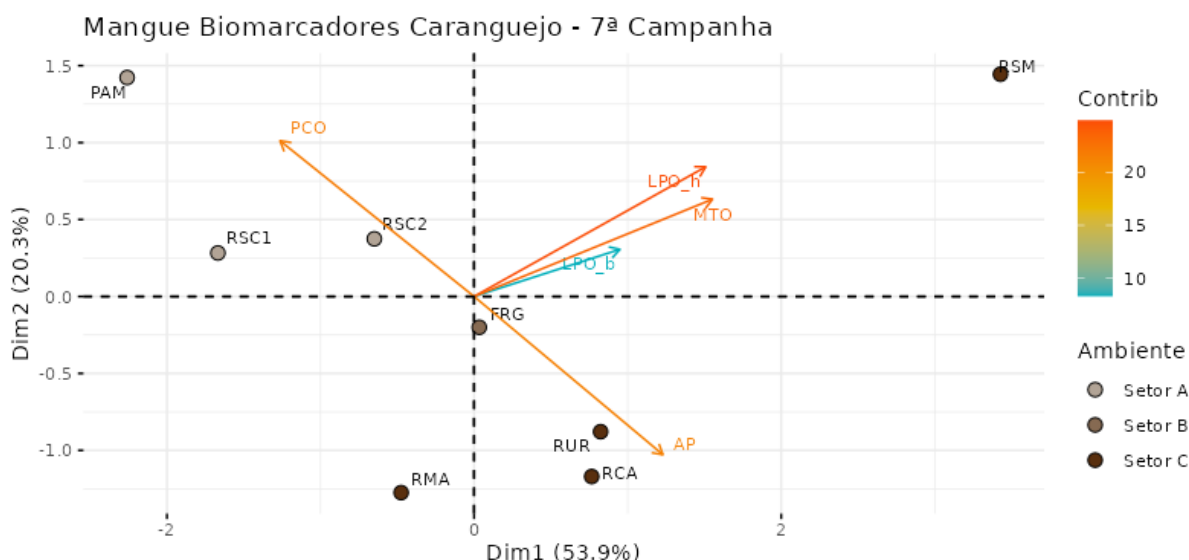
Figura 13: Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada para os dados de concentração de bifenilos policlorados (PCBs), éteres difenílicos polibromados (PBDEs), Pesticidas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em amostras de sangue de aves coletadas durante a Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022), nas áreas agrupadas como manguezal, costeiro (litoral) e estuário.



A PCA demonstra o quanto cada grupo de variáveis explica a variabilidade total dos dados. No presente caso, o primeiro componente responde por 99% da variabilidade, enquanto o segundo componente responde por 1% da variabilidade total dos dados. Juntos, os dois componentes explicam 100% da variabilidade total dos dados. Essa Figura auxilia na visualização da disposição dos setores amostrais, em função dos dois principais componentes. A análise por quadrantes permite agrupar os setores amostrais, bem como verificar a relação com as variáveis de biocumulação de compostos orgânicos em amostras de sangue de aves costeiras. As setas indicam o efeito positivo ou negativo da variável. É possível observar na PCA gerada para os dados da Campanha 7 (março 2021) a formação de dois agrupamentos. No primeiro deles, as amostras provenientes da área de manguezal foram bem caracterizadas pela presença de pesticidas e HPAs. Por outro lado, no segundo grupo, as amostras provenientes da região de estuário e costeira se relacionaram às quantificações de PCBs. Cabe ressaltar que, para PBDEs, todas as amostras analisadas ficaram abaixo do limite de quantificação. Considerando o exposto acima, é possível observar que os níveis de compostos orgânicos no sangue das aves coletadas no contexto do presente monitoramento não apresentaram um padrão temporal evidente de contaminação, uma vez que as diferentes classes de contaminantes orgânicos estiveram associadas a compartimentos diferentes ao longo das seis campanhas realizadas, o que pode ser reflexo da grande capacidade de deslocamento e uso de habitats por estes animais, entre os diferentes ecossistemas costeiros.

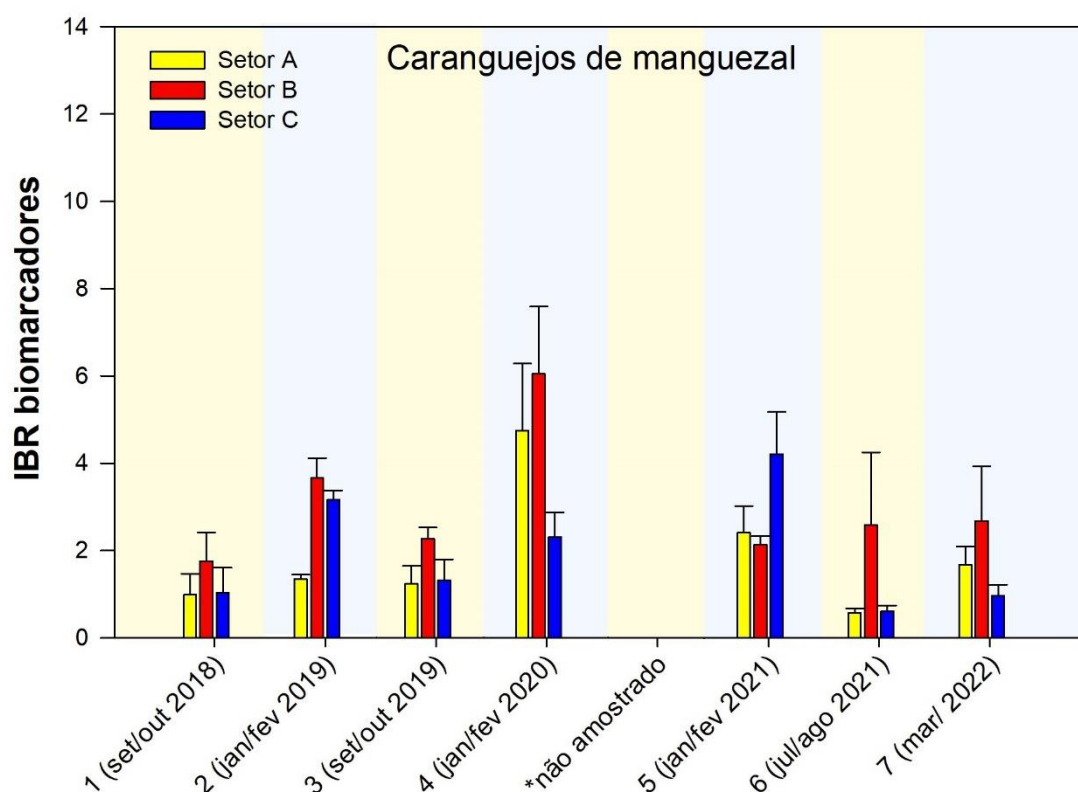
3.2 ÍNDICE DE RESPOSTA BIOLÓGICA (*IBR biomarcador*)

Figura 14: Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada para os dados de lipoperoxidação em brânquia (LPO_b) e hepatopâncreas (LPO_h), metalotioneínas (MT) em hepatopâncreas, proteínas carboniladas (PCO) em músculo e danos no DNA (AP) em hemócitos de caranguejos coletados em manguezais durante a Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Código dos pontos amostrais: Setor A [Revis Santa Cruz (RSC1 e RSC2) e Confluência do Piraquê-Açu e Mirim (PAM)], Setor B [foz do Rio Doce em Regência (FRG)] e Setor C [Rio Urussuquara (RUR), Rio Mariricu (RMA), Rio São Mateus (RSM) e Rio Caravelas (RCA)].



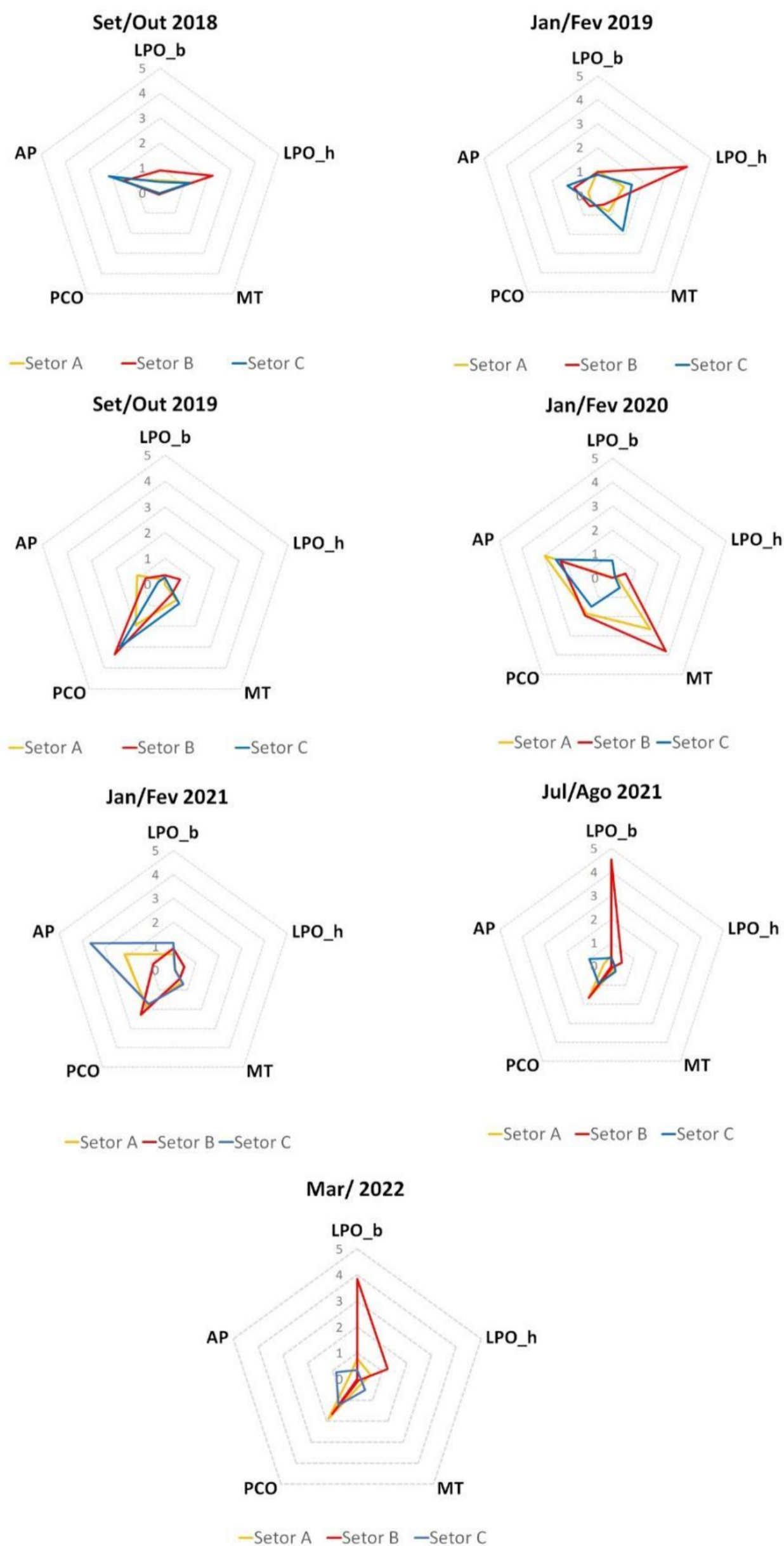
A PCA demonstra o quanto cada grupo de variáveis explica a variabilidade total dos dados. No presente caso, o primeiro componente responde por 53,9% da variabilidade, enquanto o segundo componente responde por 20,3% da variabilidade dos dados. Juntos, os dois componentes explicam 74,2% da variabilidade total dos dados. Essa Figura permite visualizar a disposição dos setores amostrais, em função dos dois principais componentes. A análise por quadrantes permite agrupar os setores amostrais, bem como verificar a relação com as variáveis biológicas (respostas de biomarcadores) nos caranguejos de mangue. As setas indicam o efeito positivo ou negativo da variável.

Figura 15: Índice de resposta biológica (IBR biomarcador) para caranguejos de mangue coletados nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Revis Santa Cruz, pontos RSC1 e RSC2; e Confluência do Piraquê-Açu e Mirim, ponto PAM), Setor B (Foz do Rio Doce, ponto FRG), e Setor C (Rio Urussuquara, ponto RUR; Rio Mariricu, ponto RMA; Rio São Mateus, ponto RSM; e Rio Caravelas, ponto RCA).



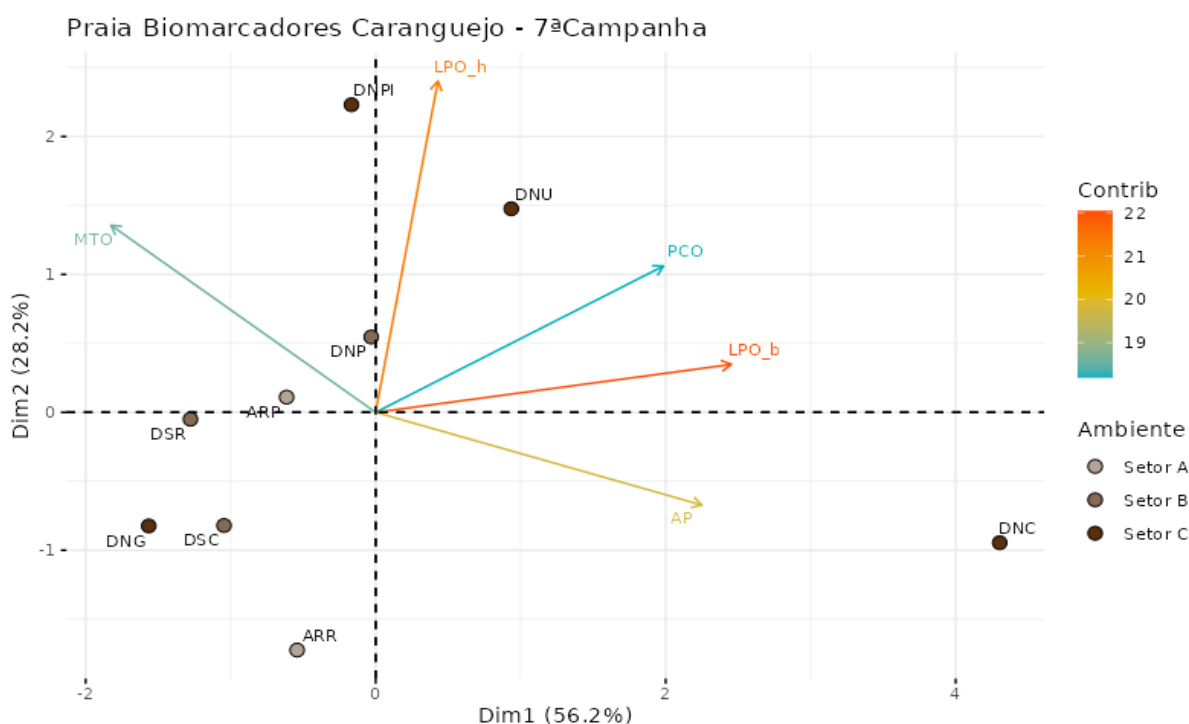
Os resultados do IBR biomarcador para os caranguejos de mangue coletados durante o último período chuvoso (Campanha 7 - mar 2022) indicaram um padrão de resposta muito similar àquela observada na campanha anterior (Campanha 6 - jul/ago 2021). Apesar do discreto aumento na resposta biológica dos crustáceos coletados no setor A durante o período chuvoso de 2022, em comparação àquela observada no período seco de 2021, os caranguejos de mangue do Setor B ainda se destacaram sobre os demais, em termos de resposta biológica.

Figura 16: Gráficos de radar obtidos a partir do Índice de Resposta Biológica (IBR biomarcador) para caranguejos de mangue coletados nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Revis Santa Cruz, pontos RSC1 e RSC2; e Confluência do Piraquê-Açu e Mirim, ponto PAM), Setor B (Foz do Rio Doce, ponto FRG), e Setor C (Rio Urussuquara, ponto RUR; Rio Mariricu, ponto RMA; Rio São Mateus, ponto RSM; e Rio Caravelas, ponto RCA). Os gráficos de radar obtidos a partir do IBR biomarcador mostram a variação espaço temporal de cada biomarcador e a contribuição destes para a composição do índice.



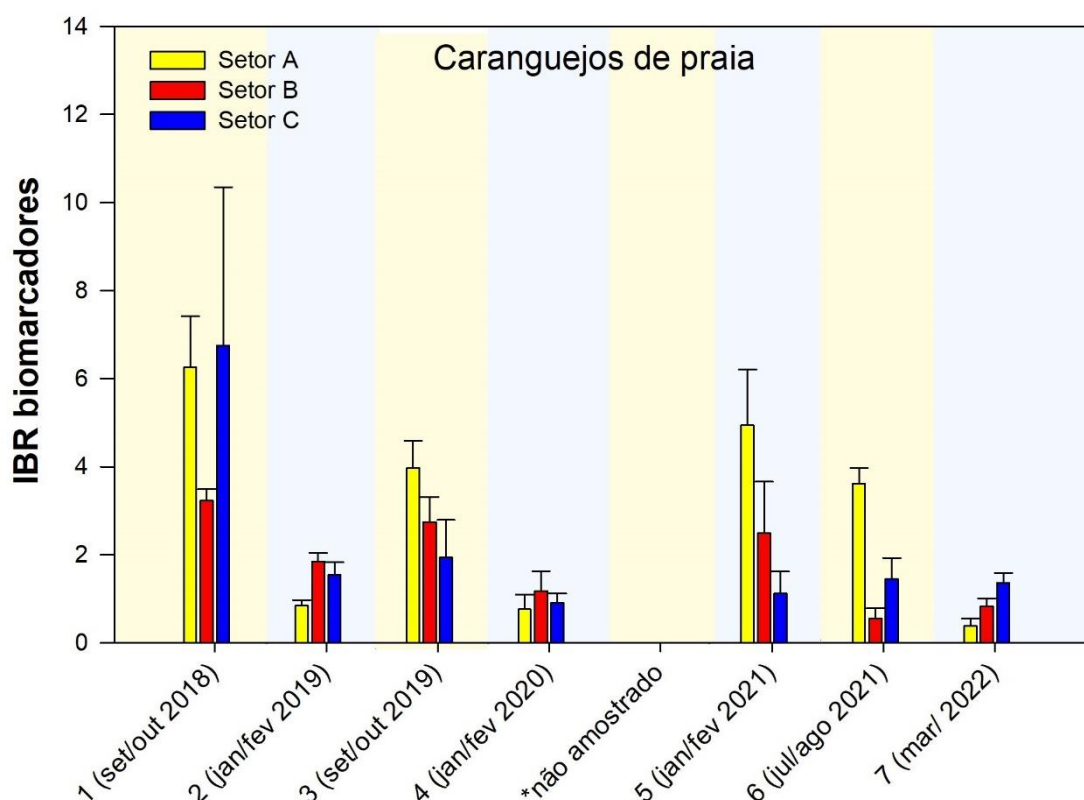
Neste caso, cabe destacar que os maiores níveis de lipoperoxidação observados nas brânquias dos caranguejos de mangue, nas duas últimas campanhas realizadas (Campanha 6 - jul/ago 2021 e Campanha 7 - mar 2022), indicam que este órgão é o mais afetado pela exposição aos metais, visto que o mesmo se encontra em contato direto com a água.

Figura 17: Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada para os dados de lipoperoxidação em brânquia (LPO_b) e hepatopâncreas (LPO_h), metalotioneínas (MT) em hepatopâncreas, proteínas carboniladas (PCO) em músculo e danos no DNA (AP) em hemócitos de caranguejos de praia coletados durante a Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Código dos pontos amostrais: Setor A [Aracruz – Refúgio (ARR) e Aracruz – Putiri (ARP)], Setor B [Comboios (DSC), Regência (DSR) e Povoação (DNP)], e Setor C [Vila de Cacimbas (DNC), Pontal do Ipiranga (DNPI), Urussuquara (DNU) e Guriri (DNG)].



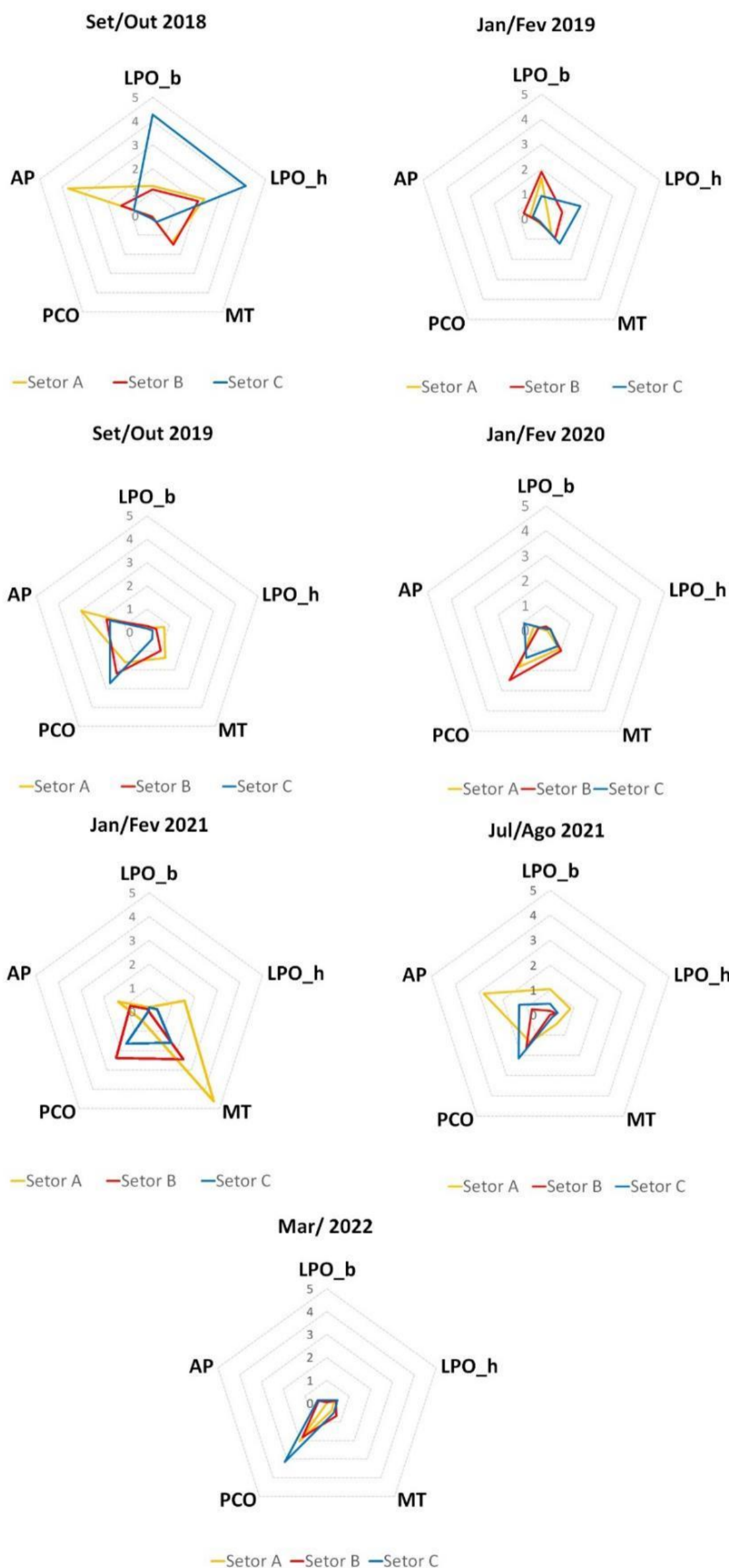
A PCA demonstra o quanto cada grupo de variáveis explica a variabilidade total dos dados. No presente caso, o primeiro componente responde por 56,2% da variabilidade, enquanto o segundo componente responde por 28,2% da variabilidade dos dados. Juntos, os dois componentes explicam 84,4% da variabilidade total dos dados. Essa Figura permite visualizar a disposição dos setores amostrais, em função dos dois principais componentes. A análise por quadrantes permite agrupar os setores amostrais, bem como verificar a relação com as variáveis biológicas (respostas de biomarcadores) nos caranguejos de praia. As setas indicam o efeito positivo ou negativo da variável.

Figura 18: Índice de resposta biológica (IBR biomarcador) para caranguejos de praia coletados nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Aracruz – Refúgio, ponto ARR; e Aracruz – Putiri, ponto ARP), Setor B (Comboios, ponto DSC; Regência, ponto DSR; e Povoação, ponto DNP), e Setor C (Vila de Cacimbas, ponto DNC; Pontal do Ipiranga, ponto DNPI; Urussuquara, ponto DNU; e Guriri, ponto DNG).



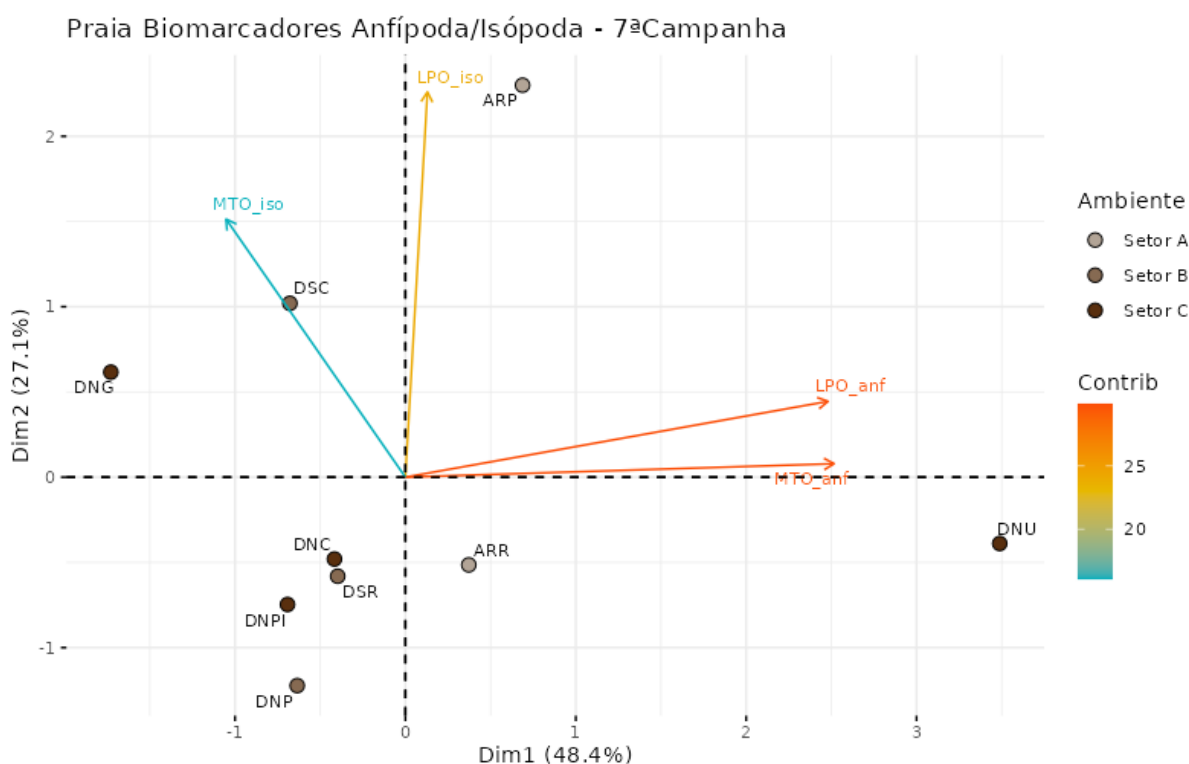
Para os caranguejos de praia, os resultados do IBR biomarcador apontaram para uma diminuição na resposta biológica no setor A, no período chuvoso de 2022 (Campanha 7 - mar 2022), em comparação às respostas observadas nos dois períodos anteriores de amostragem (Campanha 5 - jan/fev 2021 e Campanha 6 - jul/ago 2021).

Figura 19: Gráficos de radar obtidos a partir do Índice de Resposta Biológica (IBR biomarcador) para caranguejos de praia coletados nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Aracruz – Refúgio, ponto ARR; e Aracruz – Putiri, ponto ARP), Setor B (Comboios, ponto DSC; Regência, ponto DSR; e Povoação, ponto DNP), e Setor C (Vila de Cacimbas, ponto DNC; Pontal do Ipiranga, ponto DNPI; Urussuquara, ponto DNU; e Guriri, ponto DNG). Os gráficos de radar obtidos a partir do IBR biomarcador mostram a variação espaço temporal de cada biomarcador e a contribuição destes para a composição do índice.



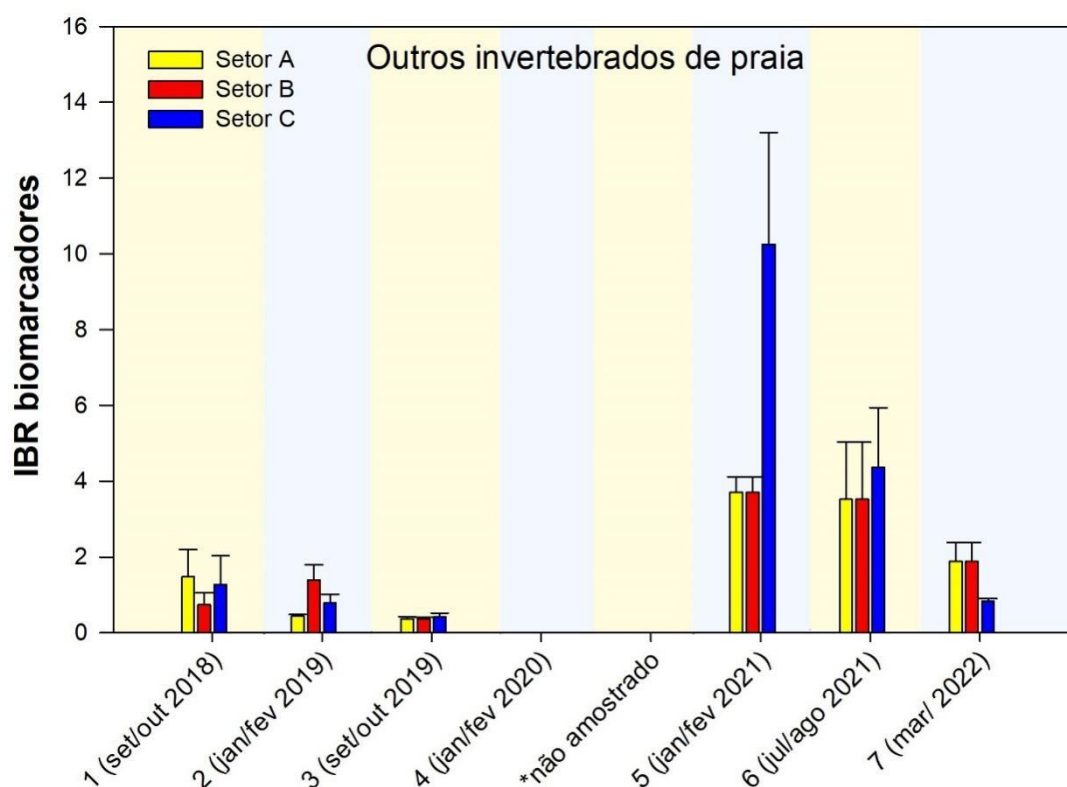
Para os caranguejos de praia, os resultados do IBR biomarcador indicaram uma diminuição na resposta biológica para os organismos coletados no setor A, no período chuvoso de 2022 (Campanha 7 - mar 2022), em comparação às respostas observadas nos dois períodos anteriores de amostragem (Campanha 5 - jan/fev 2021 e Campanha 6 - jul/ago 2021).

Figura 20: Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada para os dados de lipoperoxidação (LPO) e metalotioneínas (MT) em anfípodas (anf) e isópodas (iso) de praia coletados durante a Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Código dos pontos amostrais: Setor A [Aracruz – Refúgio (ARR) e Aracruz – Putiri (ARP)], Setor B [Comboios (DSC), Regência (DSR) e Povoação (DNP)], e Setor C [Vila de Cacimbas (DNC), Pontal do Ipiranga (DNPI), Urussuquara (DNU) e Guriri (DNG)].



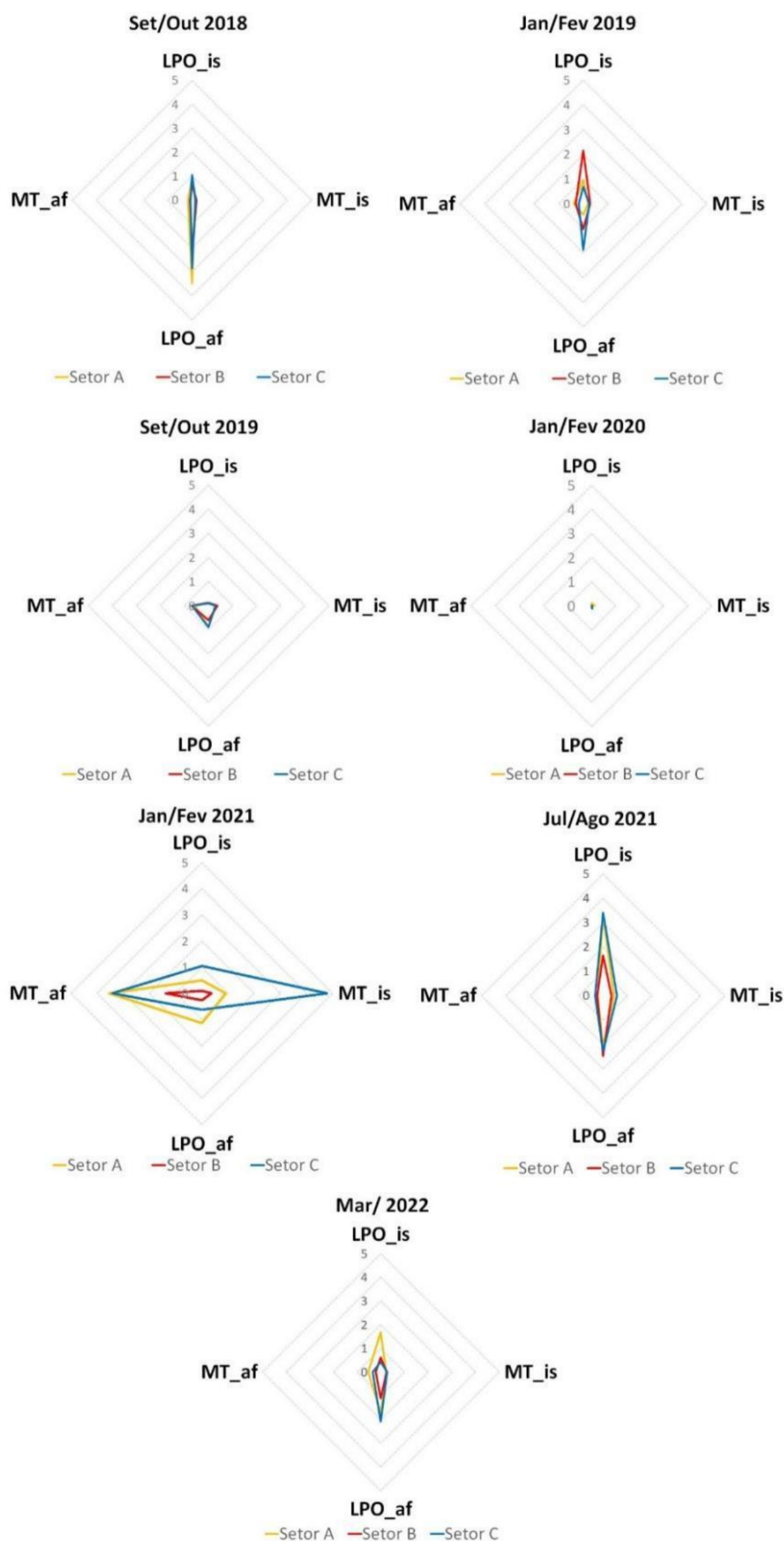
A PCA demonstra o quanto cada grupo de variáveis explica a variabilidade total dos dados. No presente caso, o primeiro componente responde por 48,4% da variabilidade, enquanto o segundo componente responde por 27,1% da variabilidade dos dados. Juntos, os dois componentes explicam 75,5% da variabilidade total dos dados. Essa Figura auxilia na visualização da disposição dos setores amostrais, em função dos dois principais componentes. A análise por quadrantes permite agrupar os setores amostrais, bem como verificar a relação com as variáveis biológicas (respostas de biomarcadores) nos caranguejos de praia. As setas indicam o efeito positivo ou negativo da variável.

Figura 21: Índice de resposta biológica (IBR biomarcador) para anfípodos e isópodos coletados no ambiente praiar nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Aracruz – Refúgio, ponto ARR; e Aracruz – Putiri, ponto ARP), Setor B (Comboios, ponto DSC; Regência, ponto DSR; e Povoação, ponto DNP), e Setor C (Vila de Cacimbas, ponto DNC; Pontal do Ipiranga, ponto DNPI; Urussuquara, ponto DNU; e Guriri, ponto DNG).



Nos invertebrados de praia (anfípodos e isópodos), foi observada uma diminuição no valor do IBR biomarcador durante a Campanha 7 (mar 2022 - período chuvoso), em relação àqueles valores observados nas duas campanhas anteriores, em todos os setores amostrais, e em maior intensidade para os organismos coletados no setor C.

Figura 22: Gráficos de radar obtidos a partir do Índice de Resposta Biológica (IBR biomarcador) para anfípodos e isópodos coletados no ambiente praial nos diferentes setores da malha amostral costeira durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jun/ago 2021 – período seco) e Campanha 7 (período chuvoso, mar 2022). Classificação por setores: Setor A (Aracruz – Refúgio, ponto ARR; e Aracruz – Putiri, ponto ARP), Setor B (Comboios, ponto DSC; Regência, ponto DSR; e Povoação, ponto DNP), e Setor C (Vila de Cacimbas, ponto DNC; Pontal do Ipiranga, ponto DNPI; Urussuquara, ponto DNU; e Guriri, ponto DNG). Os gráficos de radar obtidos a partir do IBR biomarcador mostram a variação espaço temporal de cada biomarcador e a contribuição destes para a composição do índice.



Nos invertebrados de praia (anfípodes e isópodes), foi observada uma diminuição no valor do IBR biomarcador durante a Campanha 7 (mar 2022 - período chuvoso), em relação àqueles valores observados nas duas campanhas anteriores, em todos os setores amostrais, e em maior intensidade para os organismos coletados no setor C.

4 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS

Todas as análises previstas foram realizadas, à exceção das análises das concentrações de As e metais nas amostras de água e sedimento coletadas na Campanha 7 (mar/ 2022) e na Campanha 8 (set/out 2022), bem como nas amostras de biota coletadas na Campanha 8. Conforme mencionado anteriormente, a condução destas análises ainda aguarda uma definição por parte da Fundação Renova. Por sua vez, os resultados de biomarcadores para as amostras coletadas na Campanha 8 ainda não se encontram disponíveis em sua totalidade, tendo em vista que a realização das análises destas amostras foi autorizada pela Fundação Renova somente em fevereiro de 2023.

5 REFERÊNCIAS

NADELLA, S.R., FITZPATRICK, J.L., FRANKLIN, N., BUCKING, C., SMITH, S., WOOD, C.M. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, 149. 340-348, 2009.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Rio de Janeiro, Editora Nova Fronteira, II 862p., 1997.

SIGRIST, T. **Aves Brasileiras: uma visão artística**. Valinhos, Editora Avis Brasilis, 672p., 2006.

USEPA, Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. **“Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils”**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/esam/epa-method-3050b-acid-digestion-sediments-sludges-and-soils>>. 1996.

WALKER, C.H., HOPKIN, S.P., SIBLY, R.M., PEAKALL, D.B. **Principles of ecotoxicology**. London, Taylor & Francis. 321p., 1996.