

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

**Material Suplementar Ambiente Dulcícola**

**Tema: Ecotoxicologia**

**RT- 46/JUN 24**

**RA2023 PMBA/Fest**

Vitória,

Junho de 2024

## **EQUIPE TÉCNICA**

Adalto Bianchini  
Camila De Martinez Gaspar Martins  
Carlos Eduardo Delfino Vieira  
Henrique Fragoso dos Santos  
Iole Beatriz Marques Orselli  
Juliana Castro Monteiro Pirovani  
Laís Fernanda de Palma Lopes  
Maysa do Vale Oliveira  
Yuri Dornelles Zebral

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>5</b>
2.1	COLETA DE AMOSTRAS DE ÁGUA, SEDIMENTO E BIOTA.....	5
2.2	ANÁLISES DE LABORATÓRIO .....	19
2.3	HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS.....	29
<b>3</b>	<b>RESULTADOS DOS INDICADORES .....</b>	<b>30</b>
3.1	ÍNDICE DE BIOACUMULAÇÃO ( <i>IBR BIOACUMULAÇÃO</i> ) .....	31
3.2	ÍNDICE DE RESPOSTA BIOLÓGICA ( <i>IBR BIOMARCADOR</i> ) .....	54
3.3	DIVERSIDADE MICROBIANA .....	67
3.4	ÍNDICE DE TOXICIDADE .....	75
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE OS 5 ANOS DE MONITORAMENTO ACERCA DOS INDICADORES OBSERVADOS E O AMBIENTE MONITORADO .....</b>	<b>77</b>
<b>5</b>	<b>ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS .....</b>	<b>82</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>83</b>

## 1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL

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

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

## 2 METODOLOGIA

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

### 2.1 COLETA DE AMOSTRAS DE ÁGUA, SEDIMENTO E BIOTA

As coletas de amostras de água de fundo e de superfície seguiram a metodologia padrão empregada desde a Campanha 1 (set/out 2018). Resumidamente, 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 arsênio e 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. Imediatamente após a coleta, alíquotas das amostras para a determinação das concentrações totais e dissolvidas de metais foram acidificadas com ácido nítrico Suprapur (HNO<sub>3</sub>, concentração final de 1%) e mantidas refrigeradas. Adicionalmente, foram coletadas amostras de água superficial, seguindo-se os mesmos procedimentos descritos acima, em quantidades adequadas para realização de ensaios de toxicidade. As amostras de água foram mantidas congeladas (<-10°C) até o momento dos ensaios. 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 multiparâmetros (YSI Professional Plus).

As coletas de amostras de sedimento 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 arsênio e 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. As amostras de sedimento foram armazenadas em frascos plásticos descontaminados e mantidos congelados até o momento das análises. Adicionalmente, foram coletadas amostras de sedimento superficial, seguindo-se os mesmos procedimentos descritos acima, em quantidades adequadas para realização de ensaios de toxicidade. As amostras de sedimento foram mantidas refrigeradas (<10°C) até o momento dos ensaios.

Com o objetivo de avaliar possíveis efeitos biológicos decorrentes da contaminação ambiental por metais e As e a consequente acumulação desses elementos nos organismos de diferentes níveis da cadeia trófica 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 de água doce, foram coletadas amostras de fitoplâncton, zooplâncton, camarões de água doce e quatro espécies de peixes (espécies originalmente previstas: tucunaré *Cichla sp.*, bagre *Pimelodus maculatus*, curimbatá *Prochilodus sp.* e cascudo *Hypostomus affinis*, e outras). No ambiente estuarino (calha do Rio Doce próximo à sua foz), foram coletadas amostras de fitoplâncton, zooplâncton, camarões e quatro espécies de peixes (espécies originalmente previstas: carapicu *Eucinostomus sp.*, corvina *Pachyurus adspersus*, bicudo *Pomadasys ramosus* e bagre caçari *Genidens genides*, e outras). Na ausência das espécies originalmente previstas, foram coletadas outras espécies de peixes que ocupassem o mesmo habitat e o mesmo nicho trófico. A lista das espécies de peixes coletadas durante as Campanhas 10 (jun/jul 2023 – período seco) e 11 (jan 2024 – período chuvoso) está descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Espécies de peixes (nome científico e/ou nome popular e número de indivíduos) coletados no **Rio Doce e região estuarina** [Rio Doce em Resplendor (RDO-10), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11), Rio Doce em Colatina (RDO-13), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)], **afluente** [Rio Manhuaçu (RMH-01)], **lagos** [Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02), Lago Palmas 1 (LPA-01) e Lago Palmas 2 (LPA-02)], **lagoas adjacentes** [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02)] e **reservatórios** [Reservatório Aimorés (UHE AIM) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS)] durante a Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso), e respectivo hábito alimentar (carnívoro ou onívoro).

Campanha 10		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
LAL-01		12	12	24
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	3	0	3
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	7	0	7
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	7	7
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	2	0	2
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	5	5
LLM-01		7	17	24
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	4	4
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	0	5	5
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus</i> sp.	0	3	3
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	5	5
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	6	0	6
LLM-02		12	12	24
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	4	4
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	10	0	10
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus</i> sp.	0	8	8
LMN-01		11	12	23
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	6	0	6
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	1	1
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	1	1
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	9	9
	Peixe estuarino alternativo 1 - <i>Centropomus</i> sp.	1	0	1
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus</i> sp. (piauí)	0	1	1
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	4	0	4
LMN-02		8	12	20
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus</i> sp. (piauí)	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - Dourado	1	0	1
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	11	11
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	6	0	6
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	1	0	1

Campanha 10		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
LNv-01		12	12	24
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	2	0	2
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	4	4
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	4	4
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	4	4
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	4	0	4
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	6	0	6
LNv-02		10	6	16
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	6	0	6
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus sp.</i>	0	3	3
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	3	0	3
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	1	1
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	2	2
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	1	0	1
LPA-01		12	12	24
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	4	0	4
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	6	0	6
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Astronotus ocellatus</i> (oscar)	0	3	3
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	6	6
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus sp.</i>	0	2	2
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	2	0	2
LPA-02		13	12	25
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	6	6
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Gymnotus spp.</i> (Sarapô)	1	0	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	1	1
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	1	0	1
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	2	2
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus sp.</i>	0	3	3
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	10	0	10
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	1	0	1
RDO-11		7	12	19
	Peixe estuarino 4 - Corvina Rio	1	0	1
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	3	0	3
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus sp.</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 3 - <i>Astyanax spp.</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	5	5
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 8 - Cascudo chinelo	0	2	2
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	1	0	1



Campanha 10		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
RDO-13	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	2	2
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Oligosarcus acutirostris</i>	2	0	2
		6	12	18
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	1	0	1
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	3	0	3
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	4	4
	Peixe dulcícola alternativo – Dourado	1	0	1
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	6	6
RDO-15	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus sp.</i> (piauí)	0	2	2
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	1	0	1
		10	12	22
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	8	0	8
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	1	0	1
	Peixe alternativo 8 - Cascudo chinelo	0	2	2
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	1	0	1
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	5	5
RDO-16	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus sp.</i> (piauí)	0	1	1
	Peixe estuarino alternativo 8 - <i>Mugil sp.</i> (tainha)	0	4	4
		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	4	0	4
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	1	0	1
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	1	0	1
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	6	6
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	6	6
RMH-01	Peixe estuarino 1 - <i>Genidens spp.</i>	4	0	4
	Peixe estuarino 4 - Corvina Rio	1	0	1
	Peixe estuarino alternativo 5 - <i>Caranx crysos</i> (xaréu)	1	0	1
		9	8	17
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	8	0	8
	Peixe alternativo 3 - <i>Astyanax spp.</i>	0	2	2
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus sp.</i> (piauí)	0	5	5
RDO-10	Peixe dulcícola alternativo - <i>Oligosarcus acutirostris</i>	1	0	1
		12	10	22
	Megalancistrus parananus - Cascudo abacaxi	0	2	2
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	1	0	1
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	2	2
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Astronotus ocellatus</i> (oscar)	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Crenicichla ssp.</i> (joaninha)	1	0	1
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus sp.</i> (piauí)	0	2	2

Campanha 10		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	9	0	9
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	2	2
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	1	0	1
UHE MAS		13	12	25
	Peixe estuarino 4 - Corvina Rio	1	0	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	1	1
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	3	0	3
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	5	5
	Peixe alternativo 8 - Cascudo chinelo	0	5	5
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Oligosarcus acutirostris</i>	2	0	2
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	4	0	4
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	3	0	3
UHE AIM		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	3	0	3
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	3	3
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	3	0	3
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	3	3
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	6	0	6
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	4	4
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Astronotus ocellatus</i> (oscar)	0	1	1
	Peixe estuarino 2 - <i>Pomadasys ramosus</i>	0	1	1
Total		178	197	375

Campanha 11		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
LAL-01		12	12	24
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	8	8
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla sp.</i>	1	0	1
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	7	0	7
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	4	0	4
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Astronotus ocellatus</i> (oscar)	0	1	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	2	2
LLM-01		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias sp.</i>	6	0	6
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus sp.</i>	6	0	6

Campanha 11		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	4	4
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus</i> sp.	0	7	7
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Astronotus ocellatus</i> (oscar)	0	1	1
LLM-02		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	3	0	3
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus</i> sp.	0	4	4
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	7	7
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	7	0	7
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	2	0	2
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Astronotus ocellatus</i> (oscar)	0	1	1
LMN-01		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	3	0	3
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	7	0	7
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	1	1
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	2	0	2
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	8	8
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus</i> sp. (piauí)	0	2	2
LMN-02		12	12	24
	Camurupim (Pirapema) <i>Megalops atlanticus</i>	1	0	1
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	2	0	2
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	5	0	5
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	2	0	2
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	3	3
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	9	9
	Peixe estuarino alternativo 1 - <i>Centropomus</i> sp.	2	0	2
LNV-01		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	5	5
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	9	0	9
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	2	0	2
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	7	7
LNV-02		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	4	0	4
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus</i> sp.	0	2	2

Campanha 11		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	9	9
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	2	0	2
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	6	0	6
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	1	1
LPA-01		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	3	0	3
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus</i> sp.	0	3	3
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	7	7
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	8	0	8
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	2	2
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	1	0	1
LPA-02		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	3	0	3
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus</i> sp.	0	4	4
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	7	7
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	6	0	6
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	3	0	3
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	1	1
RDO-11		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	6	6
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	11	0	11
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	2	2
	Peixe alternativo 8 - Cascudo chinelo	0	4	4
RDO-13		14	7	21
	<i>Megalancistrus parananus</i> (cascudo abacaxi)	0	1	1
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	7	0	7
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	1	0	1
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	4	4
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - Dourado	2	0	2
	Peixe estuarino alternativo 1 - <i>Centropomus</i> sp.	3	0	3
RDO-15		12	12	24

Campanha 11		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	4	4
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	5	5
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus</i> sp. (piauí)	0	3	3
	Peixe dulcícola alternativo - Pacumã	1	0	1
	Peixe estuarino 1 - <i>Genidens</i> spp.	7	0	7
	Peixe estuarino alternativo 1 - <i>Centropomus</i> sp.	2	0	2
RDO-16		12	12	24
	<i>Megalancistrus parananus</i> (cascudo abacaxi)	0	3	3
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	1	0	1
	Peixe alvo 3 - <i>Pimelodus maculatus</i>	0	4	4
	Peixe alvo 4 - <i>Prochilodus lineatus</i>	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus</i> sp. (piauí)	0	1	1
	Peixe estuarino 1 - <i>Genidens</i> spp.	1	0	1
	Peixe estuarino alternativo 1 - <i>Centropomus</i> sp.	10	0	10
	Peixe estuarino alternativo 8 - <i>Mugil</i> sp. (tainha)	0	3	3
RMH-01		12	4	16
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	6	0	6
	Peixe alternativo 2 - <i>Geophagus</i> sp.	0	1	1
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litorale</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	1	1
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	3	0	3
	Peixe alvo 2 - <i>Hypostomus affinis</i>	0	1	1
	Peixe dulcícola alternativo - Pacumã	3	0	3
RDO-10		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	6	0	6
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	3	3
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	6	0	6
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litorale</i>	0	2	2
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	4	4
	Peixe alternativo 8 - Cascudo chinelo	0	2	2
	Peixe estuarino 2 - <i>Pomadasys ramosus</i>	0	1	1
UHEMAS		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	1	0	1

Campanha 11		Hábito		
Ponto amostral	Espécie	Carnívoro	Onívoro	Total
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	4	4
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	8	0	8
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	7	7
	Peixe alternativo 8 - Cascudo chinelo	0	1	1
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	3	0	3
UHEAIM		12	12	24
	Peixe alternativo 1 - <i>Hoplias</i> sp.	1	0	1
	Peixe alternativo 4 - <i>Metynnis maculatus</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 5 - <i>Pygocentrus</i> sp.	6	0	6
	Peixe alternativo 6 - <i>Hoplosternum litoralle</i>	0	1	1
	Peixe alternativo 7 - <i>Tracheolypterus striatulus</i>	0	6	6
	Peixe alvo 1 - <i>Cichla</i> sp.	5	0	5
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Astronotus ocellatus</i> (oscar)	0	2	2
	Peixe dulcícola alternativo - <i>Leporinus</i> sp. (piauí)	0	2	2
Total		206	191	397

Para as coletas de zooplâncton foram realizados arrastos verticais oblíquos com rede tipo WP-2 de 60 cm de diâmetro de boca e malha de 200 µm. Para as coletas de fitoplâncton foram realizados arrastos verticais oblíquos com rede de 60 cm de diâmetro de boca e malha de 60 µm. O material obtido em cada arrasto foi retirado dos copos coletores com auxílio de peneiras e pissetas contendo água do ponto de coleta. Primeiramente, o material foi filtrado em peneiras de 500 µm para a retirada de peixes e outros organismos, bem como partículas grandes. Posteriormente, o material foi filtrado em uma peneira de 63 µm para concentrar o fitoplâncton. As amostras resultantes da última filtragem foram alíquotadas em tubos criogênicos devidamente identificados, para análise da concentração de metais e As e para análise de biomarcadores. As amostras foram mantidas em nitrogênio líquido até o transporte para a Universidade Federal do Rio Grande - FURG, onde foram armazenadas em ultrafreezer à -80°C. No total, foram realizados 5 arrastos para fitoplâncton e 5 arrastos para zooplâncton (com duração entre 10 e 15 min para cada arrasto) em cada ponto amostral.

No caso dos camarões, a coleta foi realizada com utilização de diversos petrechos de pesca, conforme o ambiente (por exemplo: redes de cerco, redes de arrasto, ovos e peneiras). Os animais coletados foram previamente crioanestesiados (~2 min) e o comprimento total (rosto ao telson) foi mensurado. As amostras dos tecidos (brânquias, músculo e hepatopâncreas) foram coletadas utilizando-se material cirúrgico inoxidável ou plástico, para posterior análise de metais e biomarcadores. A sequência dos procedimentos encontra-se descrita abaixo.

Para a coleta de tecidos de camarões, as brânquias foram cuidadosamente dissecadas com o auxílio de microtesoura. O tecido branquial de cada indivíduo foi destinado para a análise das concentrações de metais e As (n = 6), análise de lipoperoxidação (n = 6) e conteúdo de metalotioneínas (n = 6). Os criotubos (2 mL) contendo as brânquias foram imediatamente armazenados em nitrogênio líquido. Após a retirada da carapaça do cefalotórax dos camarões, o hepatopâncreas de cada indivíduo foi dissecado, acondicionado em criotubo (2 mL) e destinado à análise das concentrações de metais e As (n = 6). Uma porção do tecido hepatopancreático de outro indivíduo foi coletada, acondicionada em criotubo (2 mL) e destinada à análise da concentração de metalotioneínas (n = 6). Uma segunda porção do tecido foi coletada, acondicionada em criotubo (2 mL) e destinada à análise da lipoperoxidação (n = 6). Por fim, uma terceira porção do tecido foi coletada, acondicionada em criotubo (2 mL) e destinada à análise de proteínas carboniladas (n = 6). Todo o material foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido. Após a retirada da carapaça dos camarões, o músculo abdominal foi coletado, acondicionado em criotubo (2 mL) e destinado à análise da concentração de proteínas carboniladas (n = 6) e sítios AP (apurínicos/apirimídicos – danos ao DNA) (n = 6). Para análise das concentrações de metais e As no tecido muscular, as amostras foram coletadas conforme descrito anteriormente. Durante a coleta, foram retirados o cordão nervoso ventral e o intestino do animal, antes de congelar o músculo.

Para a amostragem de peixes nas drenagens com maior volume de água ao longo da porção capixaba do Rio Doce, foram utilizadas redes de emalhar de diferentes malhas (15, 25, 35, 50 e 60 mm entre nós adjacentes), cada qual com 100 m de comprimento. Em cada ponto de amostragem, ao final da tarde, foram armados três conjuntos de redes com unidades de todas as malhas, sendo os mesmos retirados na manhã do dia seguinte, permanecendo, portanto, na coluna d'água por, aproximadamente,



12 h. As coletas foram realizadas com o auxílio de pescadores profissionais locais, geralmente associados a colônias e associação de pescadores, com o apoio de barcos a remo e a motor. Além das redes de emalhar, foram utilizadas rede de arrasto, peneiras e tarrafa (malha 20 mm). As coletas foram realizadas sem esforço padronizado, possibilitando explorar todos os tipos de ambientes disponíveis (corredeiras, poços, locais etc.) na área estudada, a fim de se obter o número amostral necessário para as análises das concentrações de metais e As, bem como de biomarcadores. As peneiras foram posicionadas perpendicularmente ao substrato, com a boca voltada para montante, sendo o substrato à sua frente revolvido com os pés e mãos, com o objetivo de desalojar os peixes, os quais eram conduzidos pela corrente para dentro da peneira. Já a rede de arrasto foi puxada por duas pessoas, cada qual em uma extremidade, posicionando-a paralelamente à margem e percorrendo-se todo o espaço à sua frente, de tal forma que todos os peixes que se abrigavam na vegetação marginal pudessem ser capturados pela rede. Os trechos foram percorridos de jusante a montante (contra o fluxo da água) para evitar a ressuspensão do sedimento, o que pode afugentar os animais.

Após a captura, os peixes foram identificados e mantidos em caixas plásticas com água do próprio local com aeração constante. Para as análises das concentrações de metais e As, bem como dos biomarcadores, os espécimes foram retirados das caixas plásticas, anestesiados (hidrocloridrato de benzocaína a 250 mg/L), medidos (mm), pesados (g), eutanasiados com dose letal de hidrocloridrato de benzocaína (500 mg/L) e então dissecados para coleta das amostras dos tecidos/órgãos alvo, conforme descrito a seguir.

As brânquias foram cuidadosamente dissecadas da cavidade opercular, com auxílio de pinça e tesoura, evitando-se ao máximo tocar os filamentos branquiais. Os arcos branquiais foram separados em placas de Petri contendo solução fisiológica para peixes. O segundo arco branquial direito foi lavado delicadamente com pincel macio e solução fisiológica para a retirada do excesso de sangue e muco. Após isso, foi fixado em solução de Bouin (6-8 h) para posterior análise morfológica. Após o período de fixação, a solução fixadora foi substituída por álcool 70%, o qual foi trocado diariamente, até a completa remoção do fixador. Os arcos branquiais restantes foram acondicionados em criotubos e imediatamente congelados em nitrogênio líquido.

Após a dissecação das brânquias, a cavidade abdominal dos peixes foi exposta, utilizando-se uma tesoura. A seguir, o fígado dos peixes foi dissecado com o auxílio de pinças curvas, tentando-se remover os lobos hepáticos da forma mais íntegra possível. O órgão foi dividido para as análises de contaminantes (metais e As), histológicas e de biomarcadores. Para as análises histológicas, o órgão foi fixado em solução de Bouin (6-8 h) e, posteriormente, conservado em álcool 70%. Para a avaliação dos biomarcadores bioquímicos, as amostras foram acondicionadas em criotubos e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Por fim, uma amostra de músculo da região dorsal (musculatura hipoaxial) foi dissecada removendo-se as escamas e a pele. A coleta de amostras de músculo para análise das concentrações de metais e As seguiram as recomendações descritas anteriormente. Após a dissecação dos animais em campo, a carcaça foi descartada no local de coleta (campo).



Todas as amostras biológicas destinadas às análises de metais e As foram acondicionadas em frascos plásticos previamente limpos com ácido nítrico (Suprapur, Merck) e enxaguados em água MilliQ. Estas amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e seguiram para o transporte até o laboratório, onde foram mantidas congeladas em freezer comum (-20°C) até o momento das análises. Nestas amostras, foram analisados os seguintes elementos: Alumínio (Al), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Mercúrio (Hg), Níquel (Ni) e Zinco (Zn). Da mesma forma, as amostras dos organismos coletados para as análises de biomarcadores foram acondicionadas em tubos criogênicos e congeladas (nitrogênio líquido) em campo. As amostras congeladas foram transportadas para o laboratório, onde foram mantidas congeladas em ultrafreezer (-80°C). Foram realizadas as análises dos biomarcadores em tecidos específicos dos organismos, considerando-se a natureza de cada biomarcador, conforme detalhado mais adiante.

A partir da Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), que corresponde ao início do Novo Ciclo do PMBA/Fest, ocorreram algumas modificações na destinação das amostras de tecidos biológicos para as análises de biomarcadores e no conjunto de biomarcadores analisados por grupo de organismo, seguindo a Proposta Técnica de continuidade do monitoramento, apresentadas e aprovadas em 2022 (Novo Ciclo). Estas modificações estão descritas na sessão abaixo “Análises de Laboratório”.

Para o monitoramento da comunidade microbiana total, amostras de água (superfície e fundo) e sedimento foram coletadas, em triplicata, em cada ponto de coleta, seguindo-se as respectivas metodologias descritas acima. As amostras de água foram transferidas para garrafas plásticas de 1 L identificadas de acordo com o ponto de coleta, réplica e profundidade. As amostras coletadas foram acondicionadas em ambiente fresco ou refrigerado até o momento da filtragem. Após a filtragem da amostra através de duas membranas (1.2 µm e 0.22 µm), os filtros foram recolhidos e acondicionados em tubos de 5 mL, os quais foram estocados em caixas específicas e congelados (-20°C). Por sua vez, as amostras de sedimento foram acondicionadas em tubos tipo Falcon de 15 mL, os quais foram estocados em sacos plásticos e mantidos congelados (-20°C) até o momento da análise.

Portanto, conforme descrito acima, os protocolos de coleta das amostras ambientais e biológicas foram aqueles já descritos anteriormente no âmbito do PMBA/Fest (RRDM, RSE 2022). No entanto, a partir da Campanha 8 (set/out 2022 – período seco) foram adotadas as recomendações contidas no *“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”* emitido pela Fundação Renova em agosto de 2022. Neste caso, foram adotadas as seguintes alterações na coleta das amostras de água, sedimento e biota destinadas as análises de arsênio e metais:

- (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 e as alíquotas do ambiente dulcícola, com a especificação de congelamento, foram mantidas congeladas.

- (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 – período seco), 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.
- (4) A quantidade da massa de tecido muscular coletada por organismo foi aumentada, incrementando assim a representatividade da amostra e possibilitando, minimamente, a análise em duplicatas, para verificação de variações e precisão nos resultados e a robustez nas análises. Foi garantida massa úmida de 0,25 g em cada amostra de músculo de pescado. Organismos pequenos, como por exemplo camarões de água doce, foram amostrados em pools. As amostras de músculo de pescado destinadas à quantificação de elementos-traço foram acondicionadas em sacos zip e mantidas congeladas, com a identificação em papel vegetal, facilitando assim a secagem e posterior armazenamento dessas amostras.

As determinações dos elementos Alumínio (Al), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Mercúrio (Hg), Níquel (Ni) e Zinco (Zn) nas amostras de água e sedimento coletadas até Campanha 7 (março 2022 – período chuvoso) foram analisados por laboratórios especializados do PMBA, enquanto que as amostras coletadas na Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso) foram encaminhadas para análise em laboratórios acreditados, por determinação da Fundação Renova.

## 2.2 ANÁLISES DE LABORATÓRIO

### *Avaliação da microbiota em água e sedimento*

A análise da microbiota total em amostras de água e sedimento foi realizada através da extração do DNA total, utilizando-se um kit comercial de reagentes (*PowerSoil DNA isolation kit*, Qiagen), seguindo orientações do fabricante. Posteriormente, foi realizado o sequenciamento de DNA, utilizando-se sequenciadores de nova geração (Illumina MiSeq). As leituras foram geradas e processadas utilizando-se o software Qiime2 v2023.5. Após a obtenção das sequências curadas, análises de ordenação, abundância relativa e diversidade foram realizadas com a utilização do software R. A análise das sequências obtidas permitiu a avaliação do core microbiano e os microrganismos presentes nas diferentes amostras, pontos amostrais e períodos amostrais, correlacionando-se estatisticamente os resultados de diversidade microbiana obtidos com as demais análises realizadas no programa de monitoramento. Essa avaliação é importante não apenas para indicar possíveis alterações ambientais temporais e/ou pontuais, bem como para apontar bioindicadores microbianos específicos da presença de metais nas diferentes áreas amostradas e que podem ser rastreados em áreas adjacentes.

### *Análises das concentrações de metais e arsênio nas amostras ambientais e biológicas*

Para a extração dos metais e As totais e dissolvidos nas amostras de água foi utilizado o método EPA 3015A (U.S. EPA, 2007). As amostras de sedimento superficial coletadas foram liofilizadas, maceradas e homogeneizadas utilizando gral e pistilo de ágata. O processo de extração foi realizado de acordo com o método EPA 3051A (U.S. EPA, 2007) para determinação da fração disponível. 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 As às aquelas das soluções dos padrões certificados, utilizadas para calibrar os equipamentos. As análises das concentrações de Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras ambientais (água e sedimento) e biológicas coletadas nas Campanhas 1 a 7, bem como nas amostras biológicas (exceto músculo de pescado: camarões e peixes) coletadas nas Campanhas de 8 a 11, foram realizadas de acordo com metodologia EPA 6020A (U.S. EPA, 1998), utilizando-se espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, Analytik Jena) em laboratórios especializados do PMBA. O controle de qualidade foi realizado através de brancos analíticos e ensaios de recuperação com materiais de referência certificados. Por sua vez, as amostras de água, sedimento e músculo de pescado (camarões e peixes) coletadas nas Campanhas 8 a 11 foram analisadas em laboratórios acreditados, por determinação da Fundação Renova.

Os valores das concentrações dos metais e As nas amostras biológicas foram incorporados nos modelos matemáticos do Índice de Resposta de Bioacumulação (IBR Bioacumulação), o qual foi proposto por Beliaeff & Burgeot (2002) e otimizado por Devin et al. (2014). O IBR Bioacumulação é a soma da área definida pelo número de elementos dispostos em um diagrama de radar, seguindo uma

etapa anterior de padronização das respostas dos elementos. Assim, o índice é calculado somando-se as áreas do gráfico estrela triangular (um método gráfico multivariado simples) para cada par de elementos vizinhos em um determinado conjunto de dados. Como o resultado do processo de cálculo depende fortemente da organização sequencial dos elementos, foi utilizado um procedimento que cria todas as permutações circulares possíveis das concentrações de metais e As.

### *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 plâncton, invertebrados e peixes coletados no presente programa de monitoramento, considerando-se os potenciais efeitos biológicos dos metais (desequilíbrio iônico e osmótico, inibição enzimática, oxidação de biomoléculas e danos morfológicos) nos respectivos tecidos e organismos coletados. Os biomarcadores analisados ao longo do monitoramento do PMBA encontram-se listados no Quadro 1 e as metodologias das análises encontram-se descritas abaixo. Para fins de praticidade e rapidez na realização das análises, bem como de precisão e reprodutibilidade dos resultados, sempre que possível, foram utilizados kits comerciais de reagentes específicos que utilizam metodologia semelhante àquelas descritas abaixo, para a determinação dos respectivos biomarcadores.

Quadro 1: Lista dos biomarcadores analisados nas amostras de organismos, coletados nas diferentes áreas do monitoramento do Ambiente dulcícola realizados no Ano 1 (Campanha 1, set/out 2018 - período chuvoso e Campanha 2, jan/fev 2019 - período chuvoso), Ano 2 até Ano 4 (Campanha 3, set/out 2019 - período chuvoso e Campanha 4, jan/fev 2020 - período chuvoso, Campanha 5, jan/fev 2021 - período chuvoso, Campanha 6, jul/ago 2021 - período seco, Campanha 7, mar 2022 - período chuvoso e Campanha 8, set/out 2022 - período seco) e Anos 5 e 6 (Campanha 9, jan/fev 2023 - período chuvoso e Campanha 10, jun/jul 2023 - período seco e Campanha 11, jan 2024 – período chuvoso). “-” indica que a análise não faz mais parte do Plano de Trabalho.

<b>BIOMARCADOR (classificação: efeito/exposição)</b>			
<b>AMOSTRA</b>	<b>ANO 1</b>	<b>ANO 2 ATÉ ANO 4</b>	<b>ANOS 5 E 6</b>
Fitoplâncton	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)
Zooplâncton	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)

BIOMARCADOR (classificação: efeito/exposição)			
AMOSTRA	ANO 1	ANO 2 ATÉ ANO 4	ANOS 5 E 6
	❖ Composição iônica corporal (Ca, K, Mg e Na - efeito)	❖ Composição iônica corporal (Ca, K, Mg e Na - efeito)	
Larvas de quironomídeos	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Composição iônica corporal (Ca, K, Mg e Na - efeito) ❖ Atividade da NKA (efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Composição iônica corporal (Ca, K, Mg e Na - efeito) ❖ Atividade da NKA (efeito)	-
Hemolinfa de camarões	❖ Danos de DNA (MN e Sítios AP - efeito) ❖ Composição iônica hemolinfática (Ca, K, Mg e Na - efeito)	❖ Danos ao DNA (Sítios AP - efeito)	-
Brânquias de camarões	❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito) ❖ Atividade da NKA (efeito)	❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito) ❖ Atividade da NKA (efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MTO - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)
Hepatopâncreas de camarões	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito) ❖ Oxidação de proteínas (PCO - efeito)
Músculo de camarões	❖ Oxidação de proteínas (PCO - efeito)	❖ Oxidação de proteínas (PCO - efeito)	❖ Oxidação de proteínas (PCO - efeito) ❖ Danos ao DNA (Sítios AP - efeito)
Sangue de peixes	❖ Danos ao DNA (MN e Sítios AP - efeito) ❖ Composição iônica plasmática (Ca, K, Mg e Na - efeito) ❖ Desreguladores endócrinos (Vtg e Zrp - efeito)	❖ Danos ao DNA (MN e Sítios AP - efeito) ❖ Desreguladores endócrinos (Vtg e Zrp - efeito)	-
Brânquias de peixes	❖ Atividade de enzimas antioxidantes (SOD e CAT - efeito) ❖ Atividade de enzimas do	❖ Atividade de enzimas antioxidantes (SOD e CAT - efeito) ❖ Atividade de enzimas do	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica

BIOMARCADOR (classificação: efeito/exposição)			
AMOSTRA	ANO 1	ANO 2 ATÉ ANO 4	ANOS 5 E 6
	metabolismo energético (MDH e LDH - efeito) ❖ Danos morfológicos (IL - efeito)	metabolismo energético (MDH e LDH - efeito) ❖ Danos morfológicos (IL - efeito)	(LPO - efeito) ❖ Oxidação de proteínas (PCO - efeito) ❖ Atividade de enzimas antioxidantes (SOD e CAT - efeito) ❖ Atividade de enzimas do metabolismo energético (LDH - efeito) ❖ Danos morfológicos (IL - efeito) ❖ Danos ao DNA (Sítios AP - efeito)
Fígado de peixes	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito) ❖ Atividade de enzimas antioxidantes (SOD e CAT - efeito) ❖ Atividade de enzimas do metabolismo energético (MDH e LDH - efeito) ❖ Danos morfológicos (IL - efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito) ❖ Atividade de enzimas antioxidantes (SOD e CAT - efeito) ❖ Atividade de enzimas do metabolismo energético (MDH e LDH - efeito) ❖ Danos morfológicos (IL - efeito)	❖ Concentração de metalotioneína (MT - exposição) ❖ Peroxidação lipídica (LPO - efeito) ❖ Oxidação de proteínas (PCO - efeito) ❖ Atividade de enzimas antioxidantes (SOD e CAT - efeito) ❖ Atividade de enzimas do metabolismo energético (LDH - efeito) ❖ Danos morfológicos (IL - efeito)
Músculo de peixes	❖ Oxidação de proteínas (PCO - efeito)	❖ Oxidação de proteínas (PCO - efeito)	-

CAT = atividade da enzima catalase; IL = índices médios de lesões histopatológicas; LDH = atividade da enzima lactato desidrogenase; LPO = lipoperoxidação; MN = teste de micronúcleo; MT = concentração de metalotioneína; NKA = NA, K-ATPase; sítios AP = níveis de Sítios AP (apurínicos/apirimídicos); PCO = proteínas carboniladas; SOD = atividade de superóxido dismutase; Vtg = vitelogenina; e Zrp = proteínas da zona radiata.



A determinação da concentração de metalotioneínas (MT) foi realizada através 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 do kit. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g MT/mg}$  proteína.

A atividade da lactato desidrogenase (LDH) foi analisada em homogeneizados das amostras de brânquias e fígado dos peixes coletados durante o monitoramento dulcícola. Os homogeneizados foram realizados por maceração mecânica em mistura de tampão fosfato de potássio (pH 7,46) e inibidor de protease. Após centrifugação, o sobrenadante obtido foi utilizado para as análises da atividade da LDH. A avaliação da atividade de LDH foi realizada utilizando-se um kit comercial de reagentes (Desidrogenase Lática LDH UV, Bioclin). A análise enzimática da LDH está baseada no procedimento indicado pelo fabricante do kit, bem como na metodologia descrita por Childress & Somero (1979) e adaptada por Ribeiro et al. (2015). A dosagem de proteínas totais dos homogeneizados foi realizada através do método de Bradford (1976). As atividades enzimáticas foram expressas em Unidade Enzimática/mg de proteína.

A atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada através da análise do decréscimo da concentração de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), conforme descrito por Aebi (1984). Por sua vez, a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi medida através da taxa de inibição da auto-oxidação do pirogalol, de acordo com o protocolo descrito por Marklund & Marklund (1974). A dosagem de proteínas totais dos homogeneizados foi realizada através do método de Bradford (1976). As atividades enzimáticas foram expressas em Unidade Enzimática/mg de proteína.

A lipoperoxidação (LPO) foi determinada no material biológico utilizando-se um método espectrofotométrico em microplaca, seguindo as recomendações do fabricante do kit comercial de reagentes empregado (*TBARS Assay Kit*, Chayman Chemical). O 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 ( $95^\circ\text{C}$ ), 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 (1976). Assim, os resultados foram expressos em  $\text{nmol MDA/mg}$  proteína.

Os danos oxidativos em proteínas (PCO) foram determinados utilizando-se um kit comercial de reagentes (*Protein Carbonyl Fluorometric Assay*, Chayman Chemical; ou outro kit similar). Durante o ensaio, as proteínas carboniladas (oxidadas) foram inicialmente derivatizadas com um fluoróforo específico, o qual 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 foi removido por meio da lavagem do precipitado proteico com acetona. Após a solubilização do precipitado proteico em hidrócloro de guanidina, a absorbância do produto proteína-fluoróforo foi determinada fluorimetricamente (emissão:

485; excitação: 538 nm) e o conteúdo de proteínas carboniladas (PCO) calculado. Os resultados foram expressos em nmol PCO/mg proteína.

Inicialmente havia sido estipulada a realização de, pelo menos, duas das cinco metodologias diferentes previstas para avaliação de danos à molécula de DNA (detecção de sítios AP através de kit comercial, ensaio do vermelho neutro, teste de micronúcleo, ensaio cometa, e detecção de caspases por imunohistoquímica). Considerando-se que todas estas metodologias estão associadas ao mesmo biomarcador de efeito (danos ao DNA) e, portanto, fornecem dados semelhantes, as amostras foram testadas através da análise de sítios AP, técnica que apresenta alta sensibilidade.

Para a análise de sítios AP no material genético, o DNA genômico foi previamente isolado utilizando-se um kit comercial de reagentes para isolamento de DNA (*Wizard® Genomic DNA Purification Kit*, Promega). 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, seguindo-se as instruções do fabricante (*DNA Damage Detection Kit*, ABCam; ou outro kit similar). Os resultados foram expressos em sítios AP/10<sup>5</sup> pares de bases (bp).

Efeitos histopatológicos foram avaliados nas amostras de brânquias e fígado dos peixes. Fragmentos de fígado e brânquias foram imersos em solução de Bouin por 6-8 h, desidratados em concentrações crescentes de álcool, diafanizados em xilol e incluídos em paraplax. O material foi seccionado em micrótomo rotativo. As secções obtidas foram coradas com hematoxilina/eosina e tricômio de Mallory. Algumas lâminas foram submetidas à técnica de coloração PAS. Para tal, foram banhadas em ácido periódico 1% por 10 min, lavadas em água destilada e mergulhadas em Reativo de Schiff, por 20 min. Em seguida, foi realizada uma nova lavagem em água corrente por 10 min, seguida de coloração com hematoxilina de Harris por 3 min, lavagens em água destilada, desidratação e montagem. As alterações nos fígados e brânquias foram determinadas de acordo com o método proposto por Bernet et al., (1999). Esse método está baseado na relevância patológica e na extensão das lesões observadas nos órgãos analisados. As alterações foram classificadas em cinco padrões de reação, onde cada lesão possui um grau de importância. O Índice do Órgão (Iorg) representa o grau de dano apresentado pelo órgão e foi calculado pela fórmula:  $Iorg = \sum rp \sum alt (a \times w)$ , onde: rp = padrão de reação, alt = alteração, a = extensão da lesão e w = grau de importância. Já o Índice de Reação (Irp) avalia a gravidade das alterações identificadas e foi obtido pelo somatório do produto da multiplicação do tamanho da lesão pela relevância patológica ( $Irp = \sum alt (a \times w)$ , onde rp = padrão de reação, alt = alteração, a = extensão da lesão e w = grau de importância).

Os dados dos biomarcadores foram incorporados nos modelos matemáticos do Índice de Resposta de Biomarcador (IBR Biomarcador), o qual foi proposto por Beliaeff & Burgeot (2002) e otimizado por Devin et al. (2014). O valor do IBR Biomarcador corresponde à soma da área definida pelo número de elementos dispostos em um diagrama de radar, seguindo uma etapa anterior de padronização das respostas dos elementos. Assim, o índice é calculado somando-se as áreas do gráfico estrela triangular (um método gráfico multivariado simples) para cada par de elementos vizinhos em um determinado



conjunto de dados. Como o resultado do processo de cálculo depende fortemente da organização sequencial dos elementos, foi utilizado um procedimento que cria todas as permutações circulares possíveis relacionadas às respostas dos biomarcadores.

### *Ensaios ecotoxicológicos*

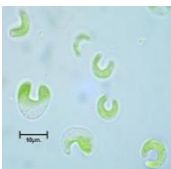

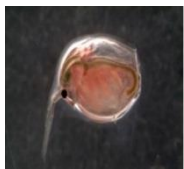



Ensaios ecotoxicológicos foram realizados com amostras de água superficial e sedimento coletadas na malha amostral dulcícola. Os pontos de amostragem considerados na Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso) foram: Rio Manhuaçu (RMH-01) como afluente; Rio Doce em Resplendor (RDO-10), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11), Rio Doce em Colatina (RDO-13) e Rio Doce no Estuário (RDO-16) como pontos situados na calha do Rio Doce. Destes, os pontos RDO-11 e RDO-13 foram incluídos na malha amostral para ensaios de toxicidade a partir do Ano 2, mediante aprovação da CTBio (Nota Técnica no 8/2019/CTBio/DIBIO/ICMBio [22/03/2019]) (Quadro 2), e RMH-01 e RDO-10 foram incluídos na malha amostral para ensaios de toxicidade a partir do Ano 5, quando iniciou o Novo Ciclo do PMBA (Campanha 9 - jan/fev 2023). A avaliação toxicológica das amostras de água, elutriato de sedimento e sedimento total, as quais foram coletadas, armazenadas e preparadas segundo a norma da ABNT NBR 15469 (2021), deu-se por meio de ensaios normatizados com organismos bioindicadores de diferentes níveis da cadeia trófica, incluindo microalgas, microcrustáceos e peixes em diferentes estágios de desenvolvimento (Tabela 2). Para o cálculo do índice de toxicidade, levou-se em consideração a severidade da resposta observada (Quadro 3) e a sensibilidade do organismo testado (Quadro 4). As respostas subletais foram classificadas como menos severas e a letalidade como mais severa; enquanto os organismos mais sensíveis foram valorizados, recebendo maior número na escala de sensibilidade. A valorização das espécies mais sensíveis é importante para que o impacto não seja subestimado. Os valores de toxicidade foram usados para classificar as amostras desde não-tóxicas até altamente tóxicas (Tabela 3). Vale lembrar que, para cada ponto amostral, esta classificação foi feita separadamente para água e sedimento, e levou-se em consideração a média dos valores de toxicidade resultantes dos diferentes ensaios realizados com as matrizes ambientais.

Os ensaios de toxicidade com amostras coletadas da Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso) em diante foram efetuados por laboratório acreditado por determinação da Fundação Renova, sendo eles: ensaios com a microalga *Raphidocoeles subcapitata* (ABNT NBR 12648), testes com os microcrustáceos *Ceriodaphnia dubia* (ABNT NBR 13373), *Daphnia similis* (agudo - ABNT NBR 12713 e crônico - OECD 211) e *Hyalella* sp (ABNT NBR 15470), e ensaios com peixes da espécie *Danio rerio* nos estágios larval (ABNT NBR 15499) e adulto (ABNT NBR 15088).

Quadro 2: Estações de coleta no Rio Doce, estuário e afluentes onde foram coletadas amostras de água e sedimento usadas para os testes de toxicidade realizados no Ano 1 (Campanha 1, set/out 2018 - período chuvoso e Campanha 2, jan/fev 2019 - período chuvoso), Ano 2 até Ano 4 (Campanha 3, set/out 2019 - período chuvoso e Campanha 4, jan/fev 2020 - período chuvoso, Campanha 5, jan/fev 2021 - período chuvoso, Campanha 6, jul/ago 2021 - período seco, Campanha 7, mar 2022 - período chuvoso e Campanha 8, set/out 2022 - período seco), Ano 5 (Campanha 9, jan/fev 2023 - período chuvoso e Campanha 10, jun/jul 2023 - período seco) e Ano 6 (Campanha 11, jan 2024 – período chuvoso). Classificação por Setores e por Estações de coleta: **Afluentes** [Rio Guandu (RGU-01) e Rio Manhuaçu (RMH-01)]; e **Rio** [Rio Doce em Resplendor (RDO-10), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11), Rio Doce em Colatina (RDO-13) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].

AMBIENTE	ANO 1	Ano 2 até Ano 4	A partir do Ano 5
Dulcícola	RGU-01 RDO-16	RGU-01 RDO-11 RDO-13 RDO-16	RMH-01 RDO-10 RDO-11 RDO-13 RDO-16

Tabela 2: Resumo dos ensaios de toxicidade realizados com amostras de água e sedimento (bruto ou elutriato) coletados na malha amostral dulcícola do Tema Ecotoxicologia (ver Quadro 2).

Informação	Microalga	Microcrustáceo	Microcrustáceo	Microcrustáceo	Peixe	Peixe
Espécie	 <i>Raphidocelis subcapitata</i> <sup>1</sup>	 <i>Ceriodaphnia dubia</i> <sup>2</sup>	 <i>Daphnia similis</i> <sup>3</sup>	 <i>Hyalella spp</i> <sup>3</sup>	 <i>Danio rerio</i> (larva) <sup>3</sup>	 <i>Danio rerio</i> (adulto) <sup>4</sup>
Procedência do organismo	Cultivo da Empresa Aplysia	Cultivo da Empresa Aplysia	Cultivo da Empresa Aplysia	Cultivo da Empresa Aplysia	Cultivo da Empresa Aplysia	Cultivo da Empresa Aplysia
Matriz	Água Superficial/Elutriato de Sedimento	Água Superficial/Elutriato de Sedimento	Água Superficial/Elutriato de Sedimento	Sedimento Bruto	Água Superficial/Elutriato de Sedimento	Água Superficial/Elutriato de Sedimento
Tipo do teste	Crônico	Crônico	Agudo	Agudo/Crônico	Crônico de curta duração	Agudo
Método	ABNT NBR 12648	ABNT NBR 13373	ABNT NBR 12713	ABNT NBR 15470	ABNT NBR 15499	ABNT NBR 15088
Duração do Ensaio	72 h	7 dias	48 h	10 dias	7 dias	48 ou 96 h
Indicador de toxicidade	Inibição da multiplicação das algáceas	Mortalidade/Número de neonatos viáveis	Mortalidade	Mortalidade/Peso	Mortalidade	Mortalidade

Legenda: <sup>1</sup> <https://alchetron.com/Raphidocelis-subcapitata>; <sup>2</sup> <http://cfb.unh.edu>; <sup>3</sup> Acervo do projeto; <sup>4</sup> <http://zfin.org/>.

Quadro 3: O valor de severidade foi atribuído de acordo com severidade da resposta observada nos ensaios de toxicidade. O parâmetro mais tóxico é classificado com maior valor.

Resposta Observada	Valor atribuído
Letal	2
Subletal (desenvolvimento, crescimento, fecundação e reprodução)	1

Quadro 4: O valor de sensibilidade foi atribuído aos organismos de acordo com os modelos biológicos usados nos ensaios de toxicidade. Os valores são diretamente relacionados à sensibilidade dos organismos, sendo, portanto, o maior valor atribuído aos organismos mais sensíveis, e o menor valor aos menos sensíveis (mais tolerantes).

Organismo-teste	Valor atribuído
Plâncton (microalgas, microcrustáceos, embriões e larvas de peixes)	3
Peixes juvenis	2
Peixes adultos	1

Tabela 3: Classificação da amostra com relação ao valor de toxicidade. “NE” refere-se a valor não estimável; e “NA” refere-se a valor não disponível, pela ausência de coleta.

Valor de Toxicidade	Classificação da amostra
>100	Altamente tóxica
51 – 100	Tóxica
26 – 50	Moderadamente tóxica
2 – 25	Levemente tóxica
≤1 ou NE	Não tóxica
NA	Ausência de dados

Fonte: Adaptado de BULICH (1982).

### 2.3 HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS

As principais modificações metodológicas envolveram a otimização no volume das amostras de água, sedimento e biota coletadas a partir da Campanha 8 (set/out 2022 - período seco) e destinadas às determinações de metais e As, 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. Além disso, a partir da Campanha 8 (set/out 2022), as análises de metais e As nas amostras de água, sedimento e músculo de pescado (camarões e peixes) passaram a ser realizadas por laboratório acreditado, por determinação da Fundação Renova.

A partir da Campanha 6 (jul/ago 2021), as análises das concentrações de Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras biológicas, exceto as de músculo de pescado (camarões e peixes), passaram a ser realizadas de acordo com metodologia EPA 6020A, utilizando-se espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, Analytik Jena).

Tendo em vista que o conjunto de biomarcadores analisado na biota dulcícola sofreu modificações importantes a partir do Novo Ciclo do PMBA/Fest (conforme descrito no Quadro 1), fizeram-se necessárias adequações na composição dos parâmetros do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) para camarões e peixes. Sendo assim, para o cálculo dos valores do IBR Biomarcador apresentados no RSE2023 foram mantidos apenas os biomarcadores comuns a todas as Campanhas (Campanhas 1 a 11), visando uma comparação temporal adequada da evolução da resposta biológica nos organismos coletados na malha amostral dulcícola.

Também houve modificações nos ensaios toxicológicos ao longo do monitoramento. A partir da Campanha 3 (set/out 2019), não foram realizados ensaios com embriões do peixe *Danio rerio* (FET TEST, OECD 236), com anuência prévia da CTBio, tendo em vista que os resultados obtidos para o Ano 1 foram inconclusivos (Nota Técnica no 8/2019/CTBio/DIBIO/ICMBio [22/03/2019]). Além disso, foi incorporado o ensaio crônico com o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*, em substituição ao ensaio crônico com o microcrustáceo *Daphnia magna* (ambos os ensaios foram propostos no Plano de Trabalho), sendo estes equivalentes do ponto de vista ecotoxicológico. Adicionalmente, como já mencionado, a partir da Campanha 7 (março 2022) os ensaios foram realizados por laboratório acreditado, por determinação da Fundação Renova, sendo que o ensaio com *Daphnia magna* passou a ser executado com *Daphnia similis*, uma vez que a norma permite a realização deste teste com ambas as espécies, que são semelhantes do ponto de vista de sensibilidade. Cabe salientar que as normas aplicadas na execução dos testes de toxicidade, anteriormente realizados por laboratórios especializados do PMBA e atualmente realizados por laboratório acreditado, seguem os mesmos padrões de calibração e qualidade. O tratamento estatístico, também devidamente explicitado nas normas da ABNT citadas na Tabela 2, Quadro 3 e Quadro 4, é aplicado pelos pesquisadores do PMBA a partir dos dados brutos fornecidos pelo laboratório acreditado, de forma a padronizar a expressão dos resultados e permitir comparações seguras ao longo de todo o período monitorado.

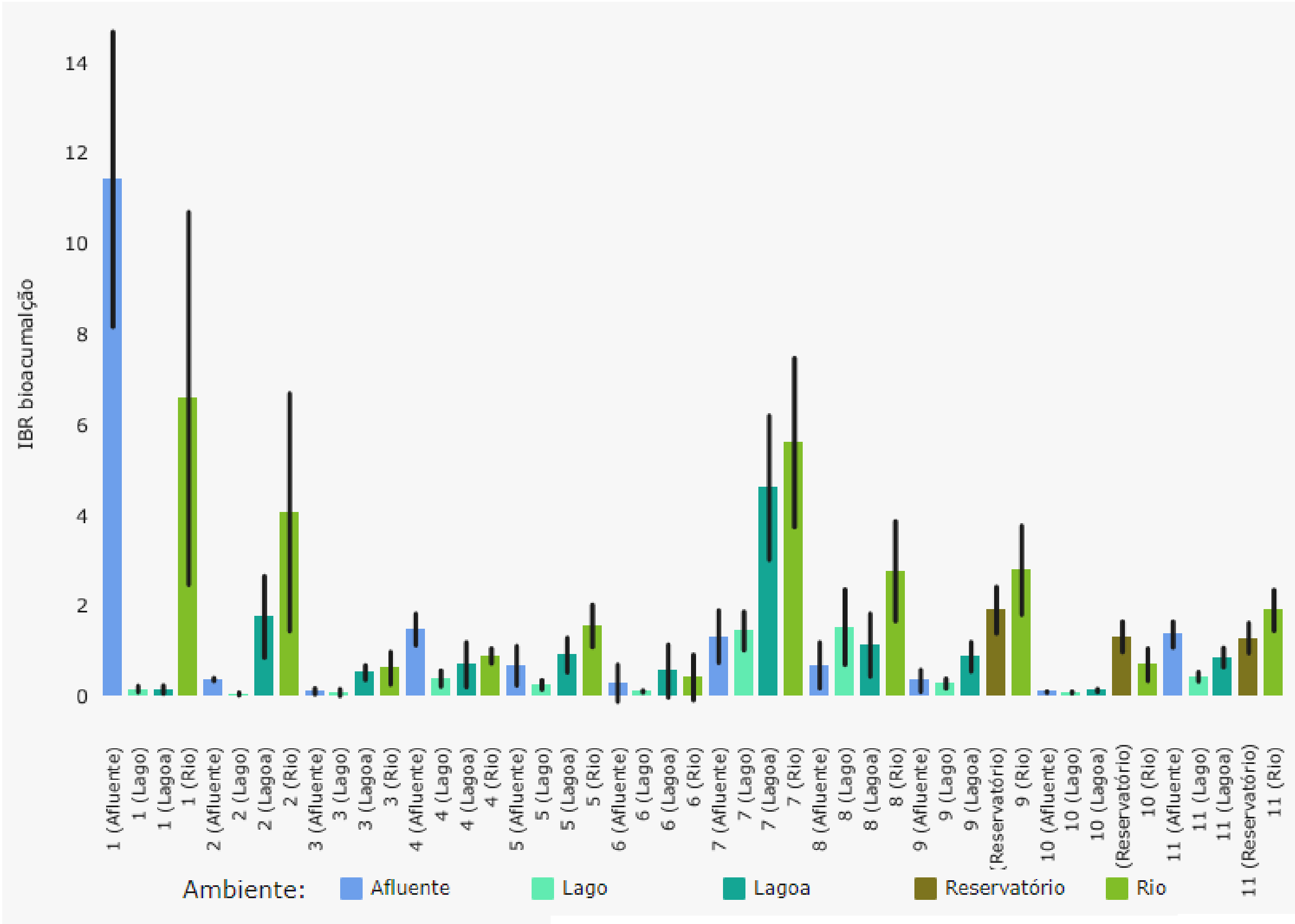
### **3 RESULTADOS DOS INDICADORES**

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

Os indicadores do PMBA/Fest vêm se consolidando ao longo do monitoramento e, seguindo a proposta estabelecida desde o Relatório Anual de 2022 (RA2022), a apresentação dos resultados será exclusivamente a partir da apresentação dos indicadores, acompanhados de legenda estendida com a explicação de sua variação espaço-temporal de forma mais direta e objetiva como se segue.

3.1 ÍNDICE DE BIOACUMULAÇÃO (*IBR BIOACUMULAÇÃO*)

Figura 1: Valores médios do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação) determinados para o plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) coletado 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)]. As linhas verticais em preto representam o desvio padrão.



O gráfico de barras dos valores do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação), gerado para cada Setor avaliado e cada Campanha realizada, permite identificar tendências espaço-temporais de bioacumulação dos metais e As no plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) do Ambiente Dulcícola, ao longo de todo o monitoramento. O IBR Bioacumulação integra os níveis de contaminação de diferentes órgãos/tecidos pelos metais e As, originando assim um indicativo/valor sintético e holístico do estado de “saúde” dos organismos analisados.

De maneira geral, pode ser observado na Figura 1 que os maiores valores do IBR Bioacumulação de metais e As no plâncton (fitoplâncton e zooplâncton), ao longo de todo o monitoramento, foram observados para o Setor Rio. Este resultado indica que os organismos da base da cadeia alimentar foram mais afetados pela exposição aos metais e As na calha do Rio Doce do que nos demais Setores avaliados. Isto pode estar associado ao fato de que a calha do Rio Doce foi o corpo hídrico mais diretamente impactado pelos rejeitos oriundos do rompimento da barragem de Fundão. As Campanhas 1, 2 e 7 foram aquelas que apresentaram os maiores valores do IBR Bioacumulação no plâncton.

Na Campanha 1, os maiores valores do IBR Bioacumulação foram observados nos Setores Afluente e Rio. Já nas Campanhas 2 e 7, os Setores com maiores valores do IBR Bioacumulação foram Lagoa e Rio. Além disso, vale ressaltar que, a partir do novo ciclo do PMBA/Fest (Campanhas 9, 10 e 11), foi dado início às amostragens de organismos no Setor Reservatório, o qual apresentou valores do IBR Bioacumulação maiores que aqueles observados nos Setores Afluente, Lagoa e Lagoa nas Campanhas 9, 10 e 11, bem como um valor do índice maior do que aquele do Setor Rio na Campanha 10. Este achado indica uma maior quantidade de contaminantes, incluindo metais e As, associados aos sedimentos e à matéria orgânica depositados nos reservatórios, bem como às diferentes características físicas, químicas e hidrológicas deste Setor, as quais estariam favorecendo uma maior biodisponibilidade e, conseqüentemente, uma maior bioacumulação de metais e As nos organismos residentes. Já na Campanha 11, o setor Rio voltou a apresentar o maior valor médio do IBR Bioacumulação dentre todos os Setores avaliados.

No contexto descrito acima, vale lembrar que os organismos planctônicos constituem a base da cadeia alimentar, sendo o fitoplâncton considerado produtor primário enquanto o zooplâncton é consumidor primário. Além disso, cabe ressaltar que o zooplâncton faz parte da dieta de diversos organismos aquáticos, incluindo os peixes. Portanto, a bioacumulação de metais e As nesses organismos caracteriza a via de entrada de contaminantes, como os metais e o As, na cadeia alimentar. Além disso, os metais e As são elementos considerados não biodegradáveis e persistentes no ambiente aquático, o que lhes confere a capacidade de serem acumulados nos organismos e biomagnificados ao longo da cadeia trófica, resultando em diversos efeitos negativos à biota aquática. É sabido que a exposição crônica e a bioacumulação por metais e metalóides no zooplâncton pode diminuir a reprodução destes organismos, acarretando em perdas na população e na biodiversidade da comunidade zooplanctônica (Hussain et al., 2020; Ju et al., 2019).



Figura 2: Gráficos de radar obtidos a partir dos valores médios do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação) para o plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) coletado 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco ), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Metais analisados: Arsênio (As); Cádmio (Cd); Chumbo (Pb); Cobre (Cu); Cromo (Cr); Ferro (Fe); Manganês (Mn); e Zinco (Zn). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluentes [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8 ) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].



Apesar das Campanhas 1, 2 e 7 terem apresentado os maiores valores do IBR Bioacumulação no plâncton (Figura 2), pode ser observado na Figura 2 que todas as Campanhas do período de monitoramento demonstraram uma diversidade alta de contaminantes (metais e As) contribuindo para a composição dos valores do índice. Na Campanha 1, o Setor Afluentes apresentou o maior valor do IBR Bioacumulação de todo o período de monitoramento e todos os contaminantes analisados contribuíram para a composição do valor do índice neste Setor, com exceção do Pb, sendo que o Mn apresentou um pico em seu valor. Por sua vez, o IBR Bioacumulação no Setor Rio teve seu maior valor observado nessa Campanha, sendo que sua composição esteve relacionada ao As, Cd, Cr, Fe e Zn, com altos valores de contribuição do Cd e Zn. No Setor Lagoa, o As, Cd, Cu e Fe foram os contaminantes que mais contribuíram na composição do valor do IBR Bioacumulação. Por fim, no Setor Lago, o valor do índice esteve associado ao As, Cd, Fe e Zn. Já na Campanha 7, o IBR Bioacumulação apresentou valores mais altos para os Setores Lagoa e Rio. A composição do índice no Setor Lagoa contou com a contribuição de todos os contaminantes analisados. Quanto ao Setor Rio, foram observados picos de valores de As, Cr e Pb na composição do IBR Bioacumulação. Porém, todos os contaminantes analisados contribuíram para o valor do índice neste Setor, com exceção do Cd. O valor do índice no Setor Lago esteve relacionado com todos os contaminantes analisados, exceto o Cu. Por fim, o valor do IBR Bioacumulação do Setor Afluentes contou com a contribuição de todos os contaminantes analisados, à exceção do As. Além disso, o índice apresentou um pico de valor no Cr. Quanto ao Setor Reservatório, este foi amostrado a partir da Campanha 9, quando foi observado um pico do valor do IBR Bioacumulação para o Fe e, com exceção do Cd, todos os demais contaminantes contribuíram para a formação do IBR Bioacumulação. Por sua vez, na Campanha 10, todos os contaminantes participaram na formação do índice no Setor Reservatório, à exceção do Pb e Cd. Além disso, foi observado que as maiores contribuições para a composição do valor do IBR Bioacumulação foram do As, Cr, Cu e Zn. Na Campanha 11, foi observado um padrão muito similar para todos os Setores avaliados, com destaque apenas para uma maior contribuição do Cd no Setor Reservatório e do As no Setor Rio.

Em síntese, todos os contaminantes analisados estiveram presentes na formação do IBR Bioacumulação em todas as Campanhas realizadas, com exceção do Pb, o qual participou da composição do índice em apenas cinco Campanhas, demonstrando picos de valores nas Campanhas 7 e 8. Embora presente em poucas Campanhas, vale lembrar que o Pb é um altamente tóxico. Mesmo em baixas concentrações, este metal pode causar toxicidade à biota e ao ser humano. Além disso, vale ressaltar que o Cd e As, contaminantes também considerados altamente tóxicos à biota aquática, demonstraram picos no valor de IBR Bioacumulação ao longo do período de monitoramento. Por outro lado, os metais Cr, Cu, Fe, Mn e Zn são considerados micronutrientes, ou seja, quando em pequenas quantidades, são essenciais para o bom funcionamento dos organismos vivos. Entretanto, quando presentes em quantidades excessivas, podem causar efeitos tóxicos à biota aquática e ao ser humano (Lokeshappa et al., 2012). Neste contexto, cabe destacar que estes metais apresentaram altos valores de contribuição para a composição do valor do IBR Bioacumulação em algumas Campanhas, ao longo do período de monitoramento.

Tabela 4: Concentração média de metais ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) em amostras de zooplâncton coletadas nos diferentes Setores do ambiente dulcícola (Afluente, Lago, Lagoa e Rio) 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso), comparadas com a concentração média de metais em amostras de zooplâncton coletadas na foz do Rio Doce antes da chegada dos rejeitos oriundos do rompimento da barragem de Fundão (Bianchini, 2019). Concentrações dos metais abaixo dos dados pretéritos estão destacadas em verde enquanto concentrações acima dos valores pretéritos estão destacadas em vermelho. A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].

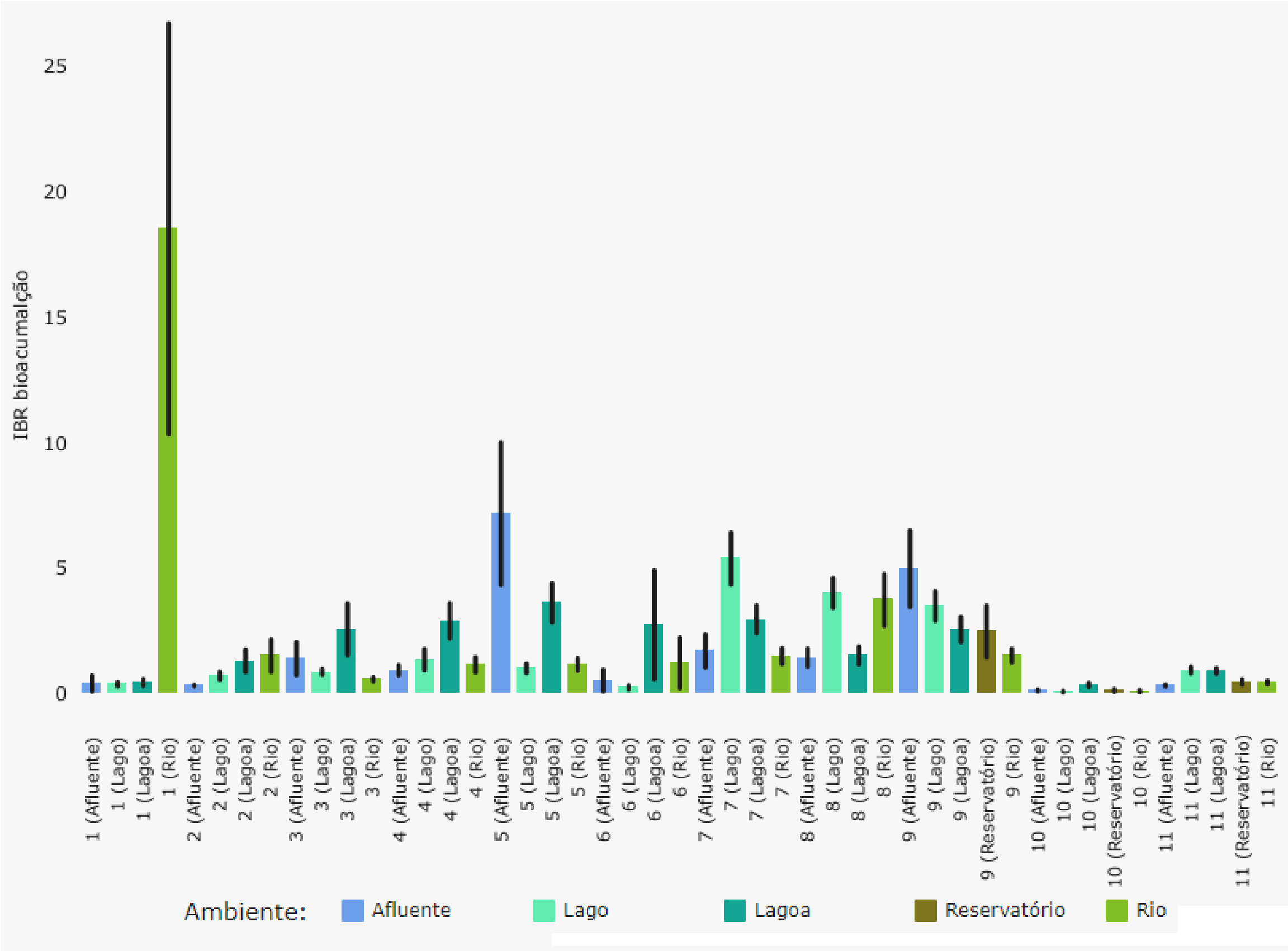
Fonte de Dados	Período de coleta	Localidades	Organismo	As ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cd ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cr ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Fe ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Mn ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Pb ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )
Dados pretéritos à chegada dos rejeitos	Expedição ICMBio (nov/2015)	Foz do Rio Doce	Zooplâncton	0,121	0,001	0,150	0,069	15,550	6,684	0,005
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 1 (set/out 2018)	Afluente (RGU-01)	Zooplâncton	0,194	0,107	5,148	2,284	123,562	124,649	0,073
		Rio Doce		0,123	0,159	0,025	0,099	306,195	0,460	0,046
		Lagos		0,020	0,019	0,032	0,191	14,191	0,918	0,089
		Lagoas		0,144	0,026	0,076	1,113	229,427	1,115	0,096
	Campanha 2 (jan/fev 2019)	Afluente (RGU-01)	Zooplâncton	0,022	0,030	0,272	3,277	107,327	20,289	0,014
		Rio Doce		0,520	0,020	0,035	55,546	198,532	41,192	0,023
		Lagos		0,033	0,049	0,049	0,197	14,786	2,485	0,016
		Lagoas		0,479	0,043	0,008	10,356	265,668	8,793	0,170
	Campanha 3 (set/out 2019)	Afluente (RGU-01)	Zooplâncton	0,020	0,069	0,016	0,384	27,284	4,658	0,014
		Rio Doce		0,133	0,218	0,053	0,567	50,055	3,117	0,009
		Lagos		0,142	0,045	0,021	0,269	12,993	1,288	0,022
		Lagoas		0,137	0,064	0,252	6,993	48,200	12,341	0,012

Fonte de Dados	Período de coleta	Localidades	Organismo	As (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )
Dados pretéritos à chegada dos rejeitos	Expedição ICMBio (nov/2015)	Foz do Rio Doce	Zooplâncton	0,121	0,001	0,150	0,069	15,550	6,684	0,005
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 4 (jan/fev 2020)	Afluentes (RGU-01)	Zooplâncton	0,041	0,146	0,035	0,816	224,513	42,860	0,082
		Rio Doce		0,164	0,041	0,601	0,517	143,136	52,050	0,106
		Lagos		0,082	0,135	0,049	0,545	40,604	10,311	0,024
		Lagoas		0,026	0,168	0,292	1,492	17,771	2,354	0,005
	Campanha 5 (jan/fev 2021)	Afluentes (RGU-01)	Zooplâncton	0,230	0,014	0,050	0,227	75,204	1,980	0,086
		Rio Doce		0,288	0,144	0,497	2,251	87,002	14,810	0,021
		Lagos		0,129	0,021	0,036	0,634	20,448	7,037	0,057
		Lagoas		0,085	0,029	0,031	1,576	9,863	1,045	0,026
	Campanha 6 (jul/ago 2021)	Afluentes (RGU-01)	Zooplâncton	0,184	0,116	0,046	0,050	1,480	0,118	0,178
		Rio Doce		0,153	0,154	0,251	0,284	1,216	0,277	0,221
		Lagos		0,072	0,021	0,141	0,344	22,619	12,689	1,295
		Lagoas		0,246	0,251	0,239	0,513	11,939	0,265	0,380
	Campanha 7 (mar/ 2022)	Afluentes (RGU-01)	Zooplâncton	0,005	0,014	3,906	0,909	31,649	61,235	0,545
		Rio Doce		0,566	0,011	5,050	1,696	85,250	40,616	11,696
		Lagos		0,150	0,015	1,397	0,429	147,943	13,495	11,335
		Lagoas		0,436	0,016	1,221	0,955	148,509	12,559	13,498
	Campanha 8 (set/out 2022)	Afluentes (RGU-01)	Zooplâncton	0,059	0,079	0,387	55,586	294,582	12,760	1,547
		Rio Doce		0,278	0,116	0,394	41,656	348,661	11,090	1,328
		Lagos		0,297	0,063	0,355	30,853	396,785	10,358	2,605
		Lagoas		0,206	0,058	0,336	33,351	403,025	9,039	2,374
	Campanha 9 (jan/fev 2023)	Afluentes (RMH-01)	Zooplâncton	0,012	0,012	0,757	0,250	441,190	8,466	3,485
		Rio Doce		0,161	0,010	3,492	0,932	766,820	23,527	4,527
		Lagos		0,076	0,007	0,457	0,368	313,467	9,375	4,717
		Lagoas		0,095	0,007	0,563	0,523	459,375	22,828	4,206
		Reservatório		0,128	0,007	2,140	1,051	622,457	44,558	1,554

Fonte de Dados	Período de coleta	Localidades	Organismo	As (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )
Dados pretéritos à chegada dos rejeitos	Expedição ICMBio (nov/2015)	Foz do Rio Doce	Zooplâncton	0,121	0,001	0,150	0,069	15,550	6,684	0,005
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 10 (jun/jul 2023)	Afluente (RMH-01)	Zooplâncton	0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
		Rio Doce		0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
		Lagos		0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
		Lagoas		0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
		Reservatório		0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
	Campanha 11 (jan 2024)	Afluente (RMH-01)	Zooplâncton	0,027	0,048	3,284	0,864	350,805	26,862	9,830
		Rio Doce		0,307	0,066	2,624	0,791	164,039	17,822	1,360
		Lagos		0,087	0,061	0,368	0,301	35,486	7,082	1,885
		Lagoas		0,152	0,032	0,224	0,421	133,445	7,753	0,449
		Reservatório		0,123	0,153	0,505	0,716	104,943	8,521	4,638



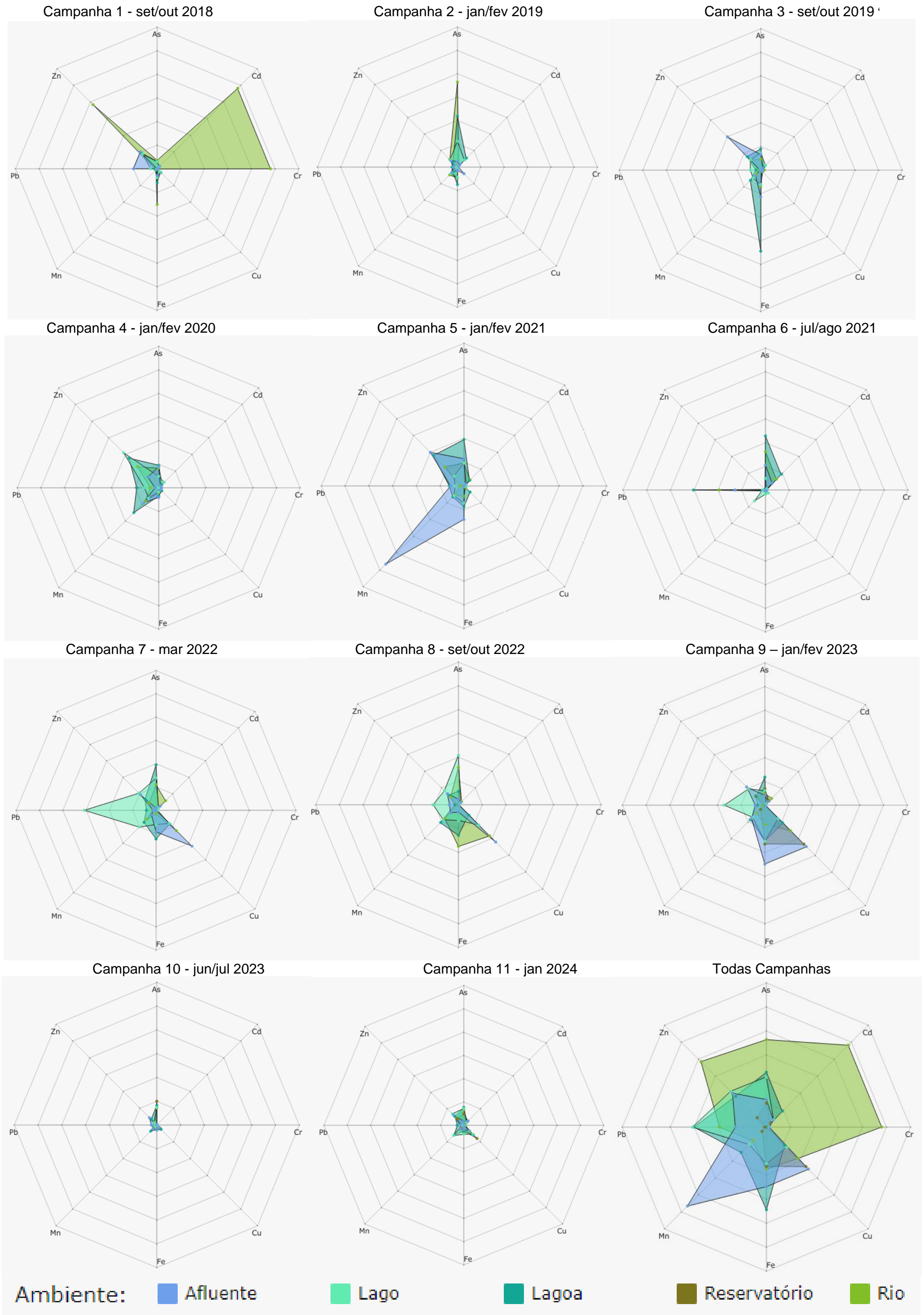
Figura 3: Valores médios do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação) determinados para amostras de tecidos (brânquias, hepatopâncreas e músculo) de camarões coletadas durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jul/ago 2021 – período seco), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluentes [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)]. As linhas verticais em preto representam o desvio padrão.



O gráfico de barras dos valores do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação), gerado para cada Setor avaliado e cada Campanha realizada, permite identificar as tendências espaço-temporais da bioacumulação de metais e As nos camarões do Ambiente Dulcícola, ao longo de todo o monitoramento.

Com relação à comparação temporal global para os camarões do Ambiente Dulcícola, pode ser observado na Figura 3 que o Setor Rio foi aquele que apresentou um valor de IBR Bioacumulação bastante alto, porém apenas na Campanha 1. Além disso, de modo geral, houve uma tendência de estabilização dos valores do índice em todos os Setores avaliados, desde a Campanha 2 até a Campanha 6, com exceção da Campanha 5, onde ocorreu um pico no valor do IBR Bioacumulação no Setor Afluente. Já nas Campanhas 7, 8 e 9, foi observado um discreto aumento dos valores do IBR Bioacumulação. Na Campanha 10, os valores deste índice diminuíram consideravelmente em todos os Setores avaliados, tendendo a zero. Porém, esta redução foi temporária, uma vez que os valores do IBR Bioacumulação aumentaram novamente em todos os Setores na Campanha 11. Assim, denota-se a partir dos resultados obtidos que os níveis de bioacumulação de metais e As nos camarões apresentam variações em longo prazo, possivelmente associadas ao fato de que os invertebrados bentônicos, incluindo os camarões, sofrem influência tanto da qualidade da água quanto do sedimento. Portanto, variações das condições físico-químicas destas duas matrizes ambientais certamente afetam os níveis de bioacumulação de metais e As nestes organismos. Apesar disso, denota-se claramente que, de uma maneira geral, há uma tendência de discreto aumento dos valores médios do IBR Bioacumulação ao longo do tempo. Isto indica claramente uma tendência de contaminação crônica dos camarões dulcícolas ao longo do período de monitoramento.

Figura 4: Gráficos de radar obtidos a partir dos valores médios do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação) determinados para amostras de tecidos (brânquias, hepatopâncreas e músculo) de camarões coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco ), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Metais analisados: Arsênio (As); Cádmio (Cd); Chumbo (Pb); Cobre (Cu); Cromo (Cr); Ferro (Fe); Manganês (Mn); e Zinco (Zn). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluentes [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].





Os gráficos de radar apresentados na Figura 4 foram obtidos a partir do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação) de cada Setor avaliado e de cada Campanha realizada. Estes gráficos mostram a variação espaço-temporal da bioacumulação de cada metal e do As nos camarões do Ambiente Dulcícola, bem como a contribuição de cada um destes na composição do valor deste índice.

Com relação aos valores de IBR Bioacumulação que mais se destacaram ao longo do monitoramento, o mais proeminente foi aquele observado no Setor Rio na Campanha 1, tendo este sido composto por todos os contaminantes analisados, com exceção do Cu. Neste caso, foram observados picos elevados de valores dos metais Cd, Cr, Fe e Zn. Em seguida, destaca-se o valor do IBR Bioacumulação do Setor Afluente na Campanha 5, onde o valor deste índice foi composto pelas contribuições do As, Cd, Fe, Mn, Pb e Zn, com um destaque para um alto valor de Mn. Na Campanha 9, este mesmo Setor teve o valor do seu índice composto por todos os contaminantes analisados, exceto o Cr. Neste caso, foram observados picos de valores de Cu e Fe.

Para o Setor Lagoa, foi observado que os valores do IBR Bioacumulação sempre foram mais altos que aqueles determinados para o Setor Lago, no início do monitoramento, desde a Campanha 1 até a Campanha 6. Contudo, no período compreendido entre as Campanhas 7 e 9, o Setor Lago se destacou pelos altos valores do IBR Bioacumulação, principalmente nas Campanhas 7 e 8, não só por ser maior em relação ao Setor Lagoa, mas também por apresentar os maiores valores do índice nestas Campanhas, quando comparado aos demais Setores avaliados. Nas Campanhas 7 e 8, os valores do IBR Bioacumulação do Setor Lago foram compostos por todos os contaminantes analisados, com exceção do Cr, apresentando ainda valores significativos de As, em ambas as Campanhas, e de Pb, na Campanha 7. Por sua vez, na Campanha 9, o Setor Reservatório teve o valor do seu índice composto pelo As, Cd, Cu, Fe, Mn e Zn, apresentando um pico de Cu.

Apesar de não ter sido observado um padrão temporal de variação do IBR Bioacumulação nos Setores avaliados, em função das Campanhas realizadas, todas as Campanhas apresentaram uma diversidade dos contaminantes analisados contribuindo para a composição dos valores do IBR Bioacumulação. Além disso, todos os contaminantes analisados, com exceção do Cr, ocorreram com grande frequência na composição do IBR Bioacumulação em todas as Campanhas realizadas no período do monitoramento. Cabe ressaltar que o As foi o contaminante que mais se destacou, devido à sua maior frequência de contribuição com picos altos de valores na composição do índice, seguido dos metais Pb e Zn. Isto é preocupante, uma vez que o As e Pb são contaminantes altamente tóxicos à biota aquática, bem como ao ser humano. Por outro lado, os demais contaminantes mencionados são considerados micronutrientes essenciais, mas que em concentrações excessivas podem gerar toxicidade aos organismos vivos (Lokeshappa et al., 2012).

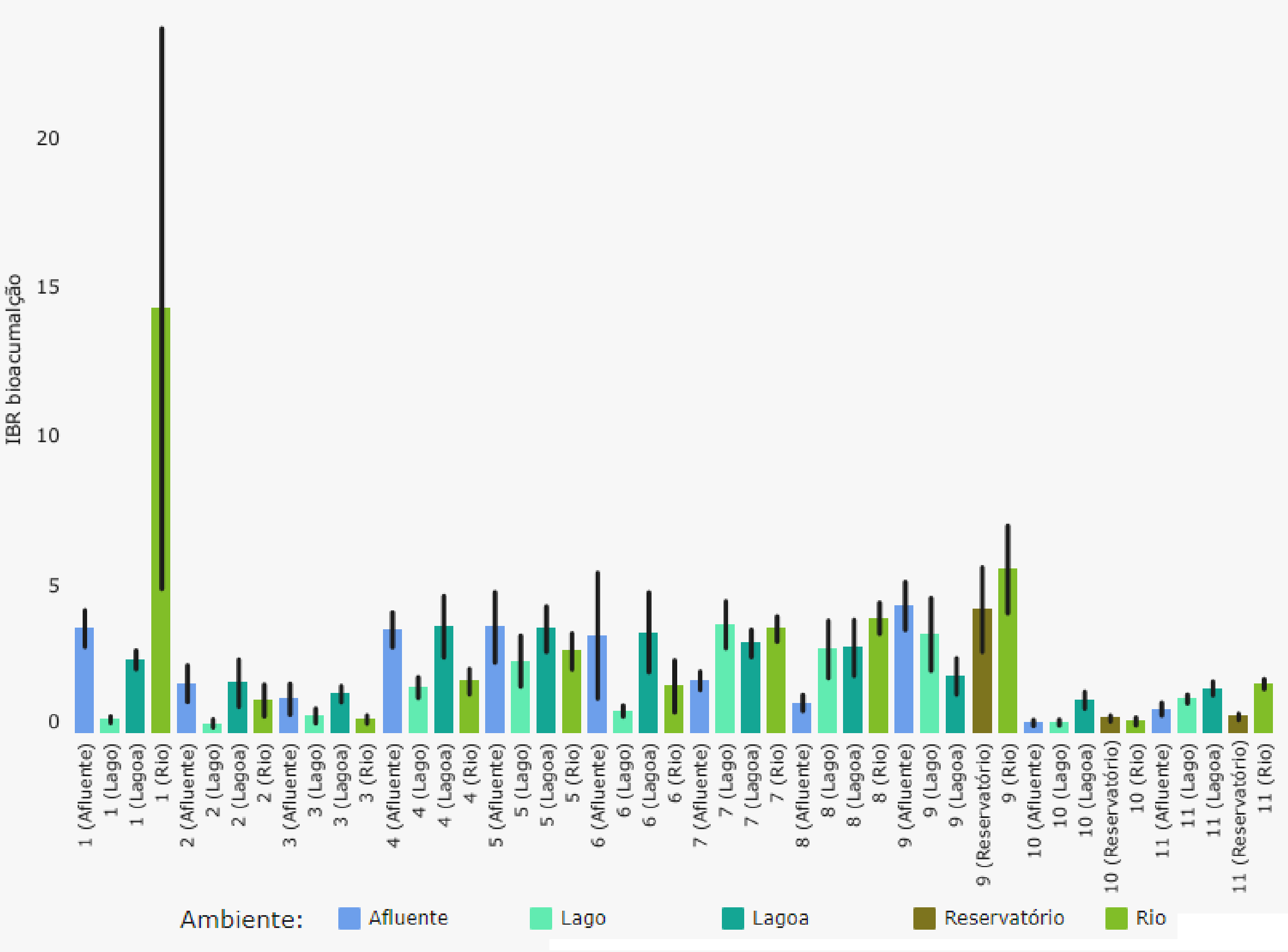
Tabela 5: Concentração média de metais ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no músculo de camarões coletados nos diferentes Setores do ambiente dulcícola (Afluente, Lago, Lagoa e Rio) durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), Campanha 4 (jan/fev 2020 – período chuvoso), Campanha 5 (jan/fev 2021 – período chuvoso), Campanha 6 (jul/ago 2021 – período seco), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso), comparadas com a concentração média de metais no músculo de camarões coletados na foz do Rio Doce antes da chegada dos rejeitos oriundos do rompimento da barragem de Fundão (Bianchini, 2019). Concentrações dos metais abaixo dos dados pretéritos estão destacadas em verde, enquanto concentrações acima dos valores pretéritos estão destacadas em vermelho. A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].

Fonte de Dados	Período de coleta	Localidades	Organismo	As ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cd ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cr ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Fe ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Mn ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Pb ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )
Dados pretéritos à chegada dos rejeitos	Expedição ICMBio (nov/2015)	Foz do Rio Doce	Camarões	0,7720	0,0010	0,0030	0,8350	26,9000	0,1640	0,2860
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 1 (set/out 2018)	Afluente (RGU-01)	Camarões	0,0371	0,0361	0,1397	0,4843	6,2662	0,1494	0,2240
		Rio Doce		0,0318	0,0827	0,0557	0,1136	17,6685	0,1914	0,0564
		Lagos		0,0601	0,0421	0,0216	0,8182	4,1530	0,2377	0,0309
		Lagoas		0,0605	0,0293	0,0305	1,6644	6,7484	0,4462	0,0231
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 2 (jan/fev 2019)	Afluente (RGU-01)	Camarões	0,0314	0,0378	1,4655	2,6000	4,8969	1,5006	0,0454
		Rio Doce		1,2740	0,0273	0,6114	0,3411	59,0219	2,4008	0,0398
		Lagos		0,1236	0,1061	0,2177	1,6554	8,4426	1,3728	0,0218
		Lagoas		0,5508	0,0896	0,0551	2,8199	52,2980	2,9142	0,0449
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 3 (set/out 2019)	Afluente (RGU-01)	Camarões	0,2745	0,0233	0,5234	1,7616	9,9427	1,2208	0,0047
		Rio Doce		0,1970	0,0700	0,2421	4,7483	50,3542	1,6465	0,0168
		Lagos		0,1299	0,0741	0,0385	0,1588	28,1492	1,8533	0,0611
		Lagoas		0,2868	0,0495	0,1326	1,1481	30,7090	3,0565	0,0087

Fonte de Dados	Período de coleta	Localidades	Organismo	As (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )
Dados pretéritos à chegada dos rejeitos	Expedição ICMBio (nov/2015)	Foz do Rio Doce	Camarões	0,7720	0,0010	0,0030	0,8350	26,9000	0,1640	0,2860
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 4 (jan/fev 2020)	Afluente (RGU-01)	Camarões	0,0192	0,0324	1,1598	2,2677	5,0574	1,4213	0,0602
		Rio Doce		0,3141	0,0396	0,3548	2,2770	3,2271	2,5185	0,0764
		Lagos		0,0475	0,1828	0,1134	0,2741	4,7008	2,4130	0,0904
		Lagoas		0,2738	0,2132	0,1774	14,4481	24,2823	2,2055	0,0272
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 5 (jan/fev 2021)	Afluente (RGU-01)	Camarões	0,1686	0,0239	0,0466	0,2795	128,1383	74,6369	0,1264
		Rio Doce		0,0888	0,1030	0,3510	3,3497	9,8579	3,7124	0,0662
		Lagos		0,1923	0,0494	0,2020	1,3781	44,7589	10,4155	0,1573
		Lagoas		0,1523	0,1644	0,0612	0,4817	15,7895	2,1400	0,0553
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 6 (jul/ago 2021)	Afluente (RGU-01)	Camarões	0,1351	0,0802	0,0419	0,5005	0,5982	0,1948	0,1240
		Rio Doce		0,2504	0,2335	0,3092	0,7161	0,7425	0,3873	0,3450
		Lagos		0,0875	0,0224	0,1554	1,9369	2,2600	0,8464	0,0145
		Lagoas		0,1991	0,1896	0,3727	0,8725	1,8505	0,5439	0,3101
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 7 (mar/ 2022)	Afluente (RGU-01)	Camarões	0,0788	0,1224	0,1121	6,2620	9,1294	0,6623	0,1605
		Rio Doce		0,4903	0,6821	0,5982	94,9291	30,8546	12,6090	0,1225
		Lagos		0,6722	0,1493	1,5507	54,3798	50,5994	12,7923	0,3070
		Lagoas		0,7213	0,1724	0,4287	55,2438	75,2772	18,3853	1,2169
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 8 (set/out 2022)	Afluente (RGU-01)	Camarões	0,0450	0,0243	0,1296	1,9583	3,7867	0,2342	0,0243
		Rio Doce		0,7267	0,2243	0,4936	142,0471	240,3798	16,7859	0,0885
		Lagos		0,4148	0,0574	0,2138	53,4625	113,4153	21,0732	0,1173
		Lagoas		0,9219	0,1244	0,7979	81,1242	153,8429	21,2444	0,6737
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 9 (jan/fev 2023)	Afluente (RMH-01)	Camarões	0,0316	0,0242	0,2278	3,8200	17,7500	0,5505	0,0242
		Rio Doce		0,2184	0,4269	0,2518	84,1561	95,1592	8,7373	0,0849
		Lagos		0,4063	0,0756	0,3629	55,4281	254,2124	10,2034	0,4869
		Lagoas		0,3978	0,0734	0,2812	50,6924	222,5509	11,1548	0,1295
		Reservatório		0,1081	0,1420	0,2625	50,9502	139,6465	2,2778	0,0281

Fonte de Dados	Período de coleta	Localidades	Organismo	As (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )
Dados pretéritos à chegada dos rejeitos	Expedição ICMBio (nov/2015)	Foz do Rio Doce	Camarões	0,7720	0,0010	0,0030	0,8350	26,9000	0,1640	0,2860
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 10 (jun/jul 2023)	Afluentes (RMH-01)	Camarões	0,0262	0,0244	0,1762	3,4840	2,5060	0,3598	0,0244
		Rio Doce		0,0769	0,0246	0,1666	3,4257	4,2768	0,5517	0,0244
		Lagos		0,0559	0,0251	0,1669	2,4312	5,7899	0,5110	0,0391
		Lagoas		0,0509	0,0251	0,1336	2,2398	3,2615	0,4180	0,0365
		Reservatório		0,0483	0,0251	0,1083	2,4658	3,0567	0,2361	0,0245
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 11 (jan 2024)	Afluentes (RMH-01)	Camarões	0,106	0,100	1,128	5,740	4,133	0,607	0,033
		Rio Doce		0,233	0,115	6,140	7,949	15,011	1,317	0,056
		Lagos		0,160	0,072	3,219	6,066	12,021	1,106	0,061
		Lagoas		0,157	0,028	0,654	7,235	5,191	1,488	0,062
		Reservatório		0,073	0,061	0,092	5,198	1,937	0,679	0,040

Figura 5: Valores médios do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação) determinados para amostras de tecidos (brânquias, fígado e músculo) de peixes (onívoros e carnívoros) coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluyente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)]. As linhas verticais em preto representam o desvio padrão.



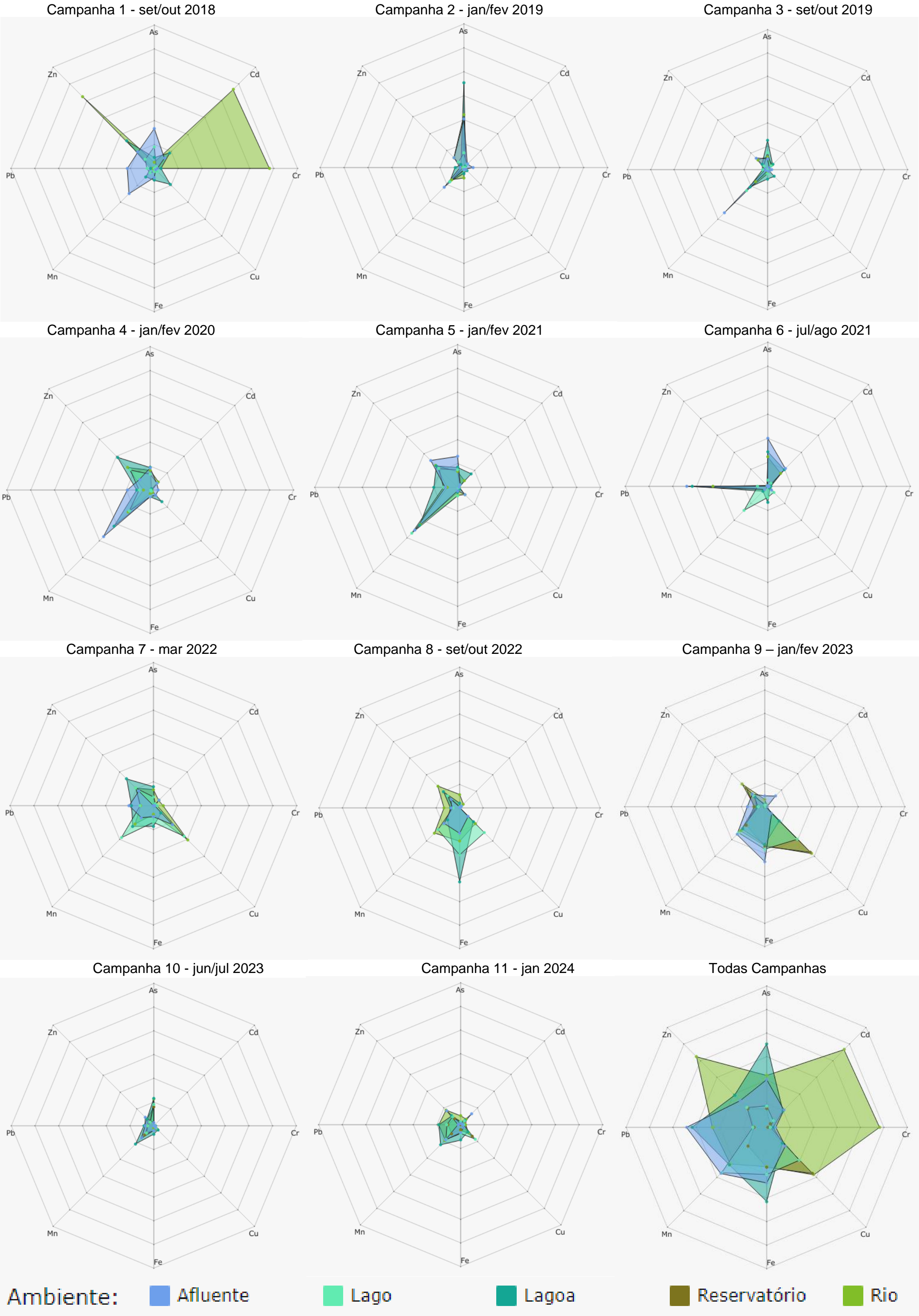
O gráfico de barras dos valores do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação), gerados para cada Setor avaliado e cada Campanha realizada, permite identificar as tendências espaço-temporais de bioacumulação dos metais e As nos peixes (onívoros e carnívoros) do Ambiente Dulcícola, ao longo de todo o monitoramento.

Com relação à comparação temporal global apresentada na Figura 5, pode ser observado que, nas Campanhas 2, 3, 10 e 11 foram observados os menores valores do IBR Bioacumulação para todos os Setores avaliados. Por outro lado, nas campanhas 1 e 4 a 9, foram observados valores mais altos e constantes do índice, apresentando apenas um pico de valor no Setor Rio na Campanha 1. A partir da Campanha 4, houve um discreto aumento nos valores do IBR Bioacumulação nos Setores Afluente, Lago e Lagoa, os quais apresentaram uma tendência de se estabilizarem ao longo do decorrer do monitoramento. Porém, com exceção da Campanha 1, o IBR Bioacumulação no Setor Rio apresentou um aumento gradual do seu valor ao longo do período de monitoramento. Entretanto, na Campanha 10 foi observada uma significativa redução nos valores do IBR Bioacumulação em todos os Setores avaliados, inclusive no Setor Rio. Porém, esta redução observada foi transitória, já que na Campanha 11 foi observado um novo aumento no valor do índice para todos os Setores avaliados.

De maneira geral, as variações observadas nos valores do IBR Bioacumulação de peixes dulcícolas seguem um padrão similar àquelas observadas para os valores do IBR Bioacumulação de plâncton e de camarões dulcícolas. Entretanto, de modo geral, há uma tendência dos valores do índice serem maiores para os peixes. Este fato pode ser uma evidência do processo de biomagnificação da contaminação ao longo da cadeia trófica pelos contaminantes analisados. Além disso, vale lembrar que tanto peixes onívoros como carnívoros foram avaliados, indicando que diferentes fontes alimentares, como detritos, plantas, algas, microcrustáceos, macrocrustáceos, insetos, anfíbios, outros peixes etc, (Alvim & Peret, 2004; Silva et al., 2019) podem estar contribuindo para os níveis de bioacumulação de metais e As observados nos peixes dulcícolas.



Figura 6: Gráficos de radar obtidos a partir dos valores médios do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação) determinados para amostras de tecidos (brânquias, fígado e músculo) de peixes (onívoros e carnívoros) coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Metais analisados: Arsênio (As); Cádmiio (Cd); Chumbo (Pb); Cobre (Cu); Cromo (Cr); Ferro (Fe); Manganês (Mn); e Zinco (Zn). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluentes [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].





Os gráficos de radar apresentados na Figura 6 foram obtidos a partir do Índice de Bioacumulação de metais e As (IBR Bioacumulação) de cada Setor avaliado e de cada Campanha realizada. Estes gráficos mostram a variação espaço-temporal da bioacumulação de cada metal e do As nos peixes (onívoros e carnívoros) do Ambiente Dulcícola, bem como a contribuição de cada um destes para a composição do índice.

O Setor Rio foi aquele que se destacou por apresentar os maiores valores de IBR Bioacumulação ao longo do monitoramento, tendo estes sido observados especialmente nas Campanha 1 e 9. Na Campanha 9, foi observado um aumento nos valores do IBR Bioacumulação nos Setores Rio e Afluente. Vale lembrar que, a partir da Campanha 9, foram iniciadas as coletas de organismos também no Setor Reservatório. Neste contexto, cabe destacar que, na Campanha 9, o Setor Reservatório apresentou um valor maior do IBR Bioacumulação do que os valores observados para os demais Setores avaliados, nas Campanhas anteriores do monitoramento. Como já mencionado para o plâncton dulcícola, onde um resultado similar foi observado, o maior valor do IBR Bioacumulação no Setor Reservatório indica uma maior quantidade de contaminantes, incluindo metais e As, associados aos sedimentos e à matéria orgânica depositados nos reservatórios, bem como às diferentes características físicas, químicas e hidrológicas deste setor, as quais estariam favorecendo uma maior biodisponibilidade e, conseqüentemente, uma maior bioacumulação de metais e As nos organismos residentes.

Cabe destacar que, em todas as Campanhas realizadas, os valores do IBR Bioacumulação foram compostos por uma grande diversidade dos contaminantes analisados, inclusive na Campanha 10, a qual apresentou os menores valores do índice, em todos os Setores avaliados, ao longo de todo o período de monitoramento. Isto indica que, apesar dos contaminantes avaliados estarem presentes em diferentes concentrações no ambiente ao longo do monitoramento, há uma contribuição semelhante de cada um deles para o valor do IBR Bioacumulação, ou seja, a proporcionalidade entre as concentrações destes contaminantes é conservada ao longo do tempo. Corroborando com isso, observou-se um aumento do valor médio do índice em todos os Setores avaliados na Campanha 11, em relação à Campanha 10. Além disso, todos os contaminantes analisados participaram da formação do IBR Bioacumulação em, pelo menos, oito das onze Campanhas realizadas. Este fato desperta e requer a atenção quanto à bioacumulação dos contaminantes analisados nos peixes do Ambiente Dulcícola, não apenas para os metais não essenciais, considerados altamente tóxicos (As, Cd e Pb), mas também para aqueles considerados como sendo micronutrientes (Cr, Cu, Fe, Mn e Zn), que em altas concentrações exercem toxicidade à biota aquática. Portanto, a devida atenção deve ser dada aos impactos negativos e riscos que estes contaminantes podem estar acarretando tanto na saúde dos ecossistemas dulcícolas quanto à saúde humana (Noman et al., 2022; Zaynab et al., 2022).

Tabela 6: Concentração média de metais ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no músculo de peixes (onívoros e carnívoros) coletados nos diferentes Setores do ambiente dulcícola (Afluente, Lago, Lagoa e Rio) 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso), comparadas com a concentração média de metais no músculo de peixes (onívoros e carnívoros) coletados em diferentes pontos da calha do Rio Doce no estado do Espírito Santo (ES), antes da chegada dos rejeitos oriundos do rompimento da barragem de Fundão (ACQUA, 2016). Concentrações dos metais abaixo dos dados pretéritos estão destacadas em verde, enquanto concentrações acima dos valores pretéritos estão destacadas em vermelho. "NA" significa que não há informação sobre a concentração do metal. A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devido a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8 ) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].

Fondeste de Dados	Período de coleta	Localidades	Espécies	As ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cd ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cr ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Fe ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Mn ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )	Pb ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )
Dados pretéritos à passagem da pluma (ACQUA, 2016)	(nov/2015)	Rio Doce (UHE Mascarenhas; jusante da UHE Mascarenhas; Colatina; Marilândia e Regência)	<i>Centropomus undecimalis</i> ; <i>Cichla monoculus</i> ; <i>Genidens genidens</i> ; <i>Geophagus brasiliensis</i> ; <i>Hypomasticus mormyrops</i> ; <i>Mugil sp.</i> ; <i>Pimelodus maculatus</i> ; <i>Polydactylus sp.</i> ; <i>Pochiclodus argenteus</i> ; <i>Pygocentrus nattereri</i> ; <i>Serrasalmus rhombeus</i>	0,703	0,020	0,111	0,200	9,300	0,460	0,020
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 1 (set/out 2018)	Afluente (RGU-01)	Peixes onívoros	0,261	0,106	0,902	0,683	49,030	1,615	0,068
		Rio Doce		0,062	0,104	17,698	0,179	7,252	0,144	0,019
		Lagos		0,066	0,047	0,048	0,212	4,382	0,406	0,047
		Lagoas		0,049	0,215	0,957	2,078	40,878	0,192	0,039
	Campanha 2 (jan/fev 2019)	Afluente (RGU-01)	Peixes onívoros	0,390	0,041	0,300	1,814	10,769	2,452	0,012
		Rio Doce		0,360	0,039	0,033	1,226	37,882	2,761	0,052
		Lagos		0,118	0,065	0,249	0,741	17,170	1,183	0,019
		Lagoas		0,569	0,031	0,077	2,582	42,234	4,377	0,044

Fonte de Dados	Período de coleta	Localidades	Espécies	As (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )
Dados pretéritos à passagem da pluma (ACQUA, 2016)	(nov/2015)	Rio Doce (UHE Mascarenhas; jusante da UHE Mascarenhas; Colatina; Marilândia e Regência)	<i>Centropomus undecimalis</i> ; <i>Cichla monoculus</i> ; <i>Genidens genidens</i> ; <i>Geophagus brasiliensis</i> ; <i>Hypomasticus mormyrops</i> ; <i>Mugil sp.</i> ; <i>Pimelodus maculatus</i> ; <i>Polydactylus sp.</i> ; <i>Pochiclodus argenteus</i> ; <i>Pygocentrus nattereri</i> ; <i>Serrasalmus rhombeus</i>	0,703	0,020	0,111	0,200	9,300	0,460	0,020
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 3 (set/out 2019)	Afluente (RGU-01)	Peixes onívoros	0,086	0,048	0,627	1,095	10,169	3,841	0,025
		Rio Doce		0,228	0,111	0,209	0,972	31,412	2,861	0,010
		Lagos		0,155	0,059	0,025	0,131	16,251	2,653	0,033
		Lagoas		1,041	0,111	0,511	1,941	80,821	3,725	0,144
	Campanha 4 (jan/fev 2020)	Afluente (RGU-01)	Peixes onívoros	0,173	0,106	0,100	1,956	48,416	10,396	0,070
		Rio Doce		0,159	0,157	0,605	5,197	33,697	6,205	0,056
		Lagos		0,209	0,189	0,254	0,468	47,769	3,138	0,091
		Lagoas		0,405	0,071	0,704	14,286	59,408	3,258	0,174
	Campanha 5 (jan/fev 2021)	Afluente (RGU-01)	Peixes onívoros	0,201	0,097	0,580	4,272	5,464	3,636	0,054
		Rio Doce		0,120	0,128	0,211	1,442	29,729	4,456	0,041
		Lagos		0,196	0,088	0,254	1,833	30,677	4,307	0,071
		Lagoas		0,156	0,149	0,102	1,378	33,823	3,489	0,123
	Campanha 6 (jul/ago 2021)	Afluente (RGU-01)	Peixes onívoros	0,268	0,251	0,527	0,497	2,484	0,588	0,371
		Rio Doce		0,332	0,207	0,145	0,139	2,025	0,454	0,328
		Lagos		0,064	0,044	0,251	0,330	10,632	0,881	0,034
		Lagoas		0,243	0,238	0,519	0,576	11,490	0,630	0,374
	Campanha 7 (mar/ 2022)	Afluente (RGU-01)	Peixes onívoros	0,019	0,111	0,131	0,295	6,115	0,179	0,183
		Rio Doce		0,178	0,192	2,576	31,137	98,605	4,029	0,155
		Lagos		0,161	0,070	0,528	50,307	114,860	5,405	0,122
		Lagoas		0,208	0,053	0,349	48,221	72,289	6,582	0,120

Fonde de Dados	Período de coleta	Localidades	Espécies	As (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )
Dados pretéritos à passagem da pluma (ACQUA, 2016)	(nov/2015)	Rio Doce (UHE Mascarenhas; jusante da UHE Mascarenhas; Colatina; Marilândia e Regência)	<i>Centropomus undecimalis</i> ; <i>Cichla monoculus</i> ; <i>Genidens genidens</i> ; <i>Geophagus brasiliensis</i> ; <i>Hypomasticus mormyrops</i> ; <i>Mugil sp.</i> ; <i>Pimelodus maculatus</i> ; <i>Polydactylus sp.</i> ; <i>Pochiclodus argenteus</i> ; <i>Pygocentrus nattereri</i> ; <i>Serrasalmus rhombeus</i>	0,703	0,020	0,111	0,200	9,300	0,460	0,020
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 8 (set/out 2022)	Afluente (RGU-01)	Peixes onívoros	0,025	0,025	0,118	0,128	3,774	0,210	0,031
		Rio Doce		0,182	0,126	0,182	10,508	276,863	4,845	0,168
		Lagos		0,036	0,054	0,136	36,629	419,000	4,476	0,050
		Lagoas		0,037	0,068	0,148	43,776	398,119	5,182	0,073
	Campanha 9 (jan/fev 2023)	Afluente (RMH-01)	Peixes onívoros	0,025	0,025	0,216	0,431	16,600	0,545	0,080
		Rio Doce		0,082	0,069	0,172	26,778	203,049	4,216	0,072
		Lagos		0,048	0,061	0,167	38,340	305,018	4,992	0,082
		Lagoas		0,048	0,041	0,177	29,153	255,996	5,261	0,073
		Reservatório		0,027	0,024	0,115	36,256	129,064	1,922	0,041
	Campanha 10 (jun/jul 2023)	Afluente (RMH-01)	Peixes onívoros	0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
		Rio Doce		0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
		Lagos		0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
		Lagoas		0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
		Reservatório		0,026	0,025	0,080	0,044	2,902	0,092	0,029
	Campanha 11 (jan 2024)	Afluente (RMH-01)	Peixes onívoros	0,073	0,068	0,907	0,410	6,359	0,867	0,0828
		Rio Doce		0,513	0,530	3,088	0,243	10,137	0,660	0,074
		Lagos		0,086	0,068	3,152	0,210	7,252	0,708	0,065
		Lagoas		0,058	0,081	3,095	0,274	11,549	0,993	0,061
		Reservatório		0,047	0,051	0,046	0,749	3,406	0,299	0,036
	Campanha 1 (set/out 2018)	Afluente (RGU-01)	Peixes carnívoros	0,023	0,004	0,079	1,814	7,741	0,060	0,005
		Rio Doce		0,031	0,047	0,020	0,076	7,002	0,295	0,022
		Lagos		0,114	0,032	0,039	0,296	9,568	0,303	0,037
		Lagoas		0,063	0,036	0,038	0,622	14,241	0,244	0,050

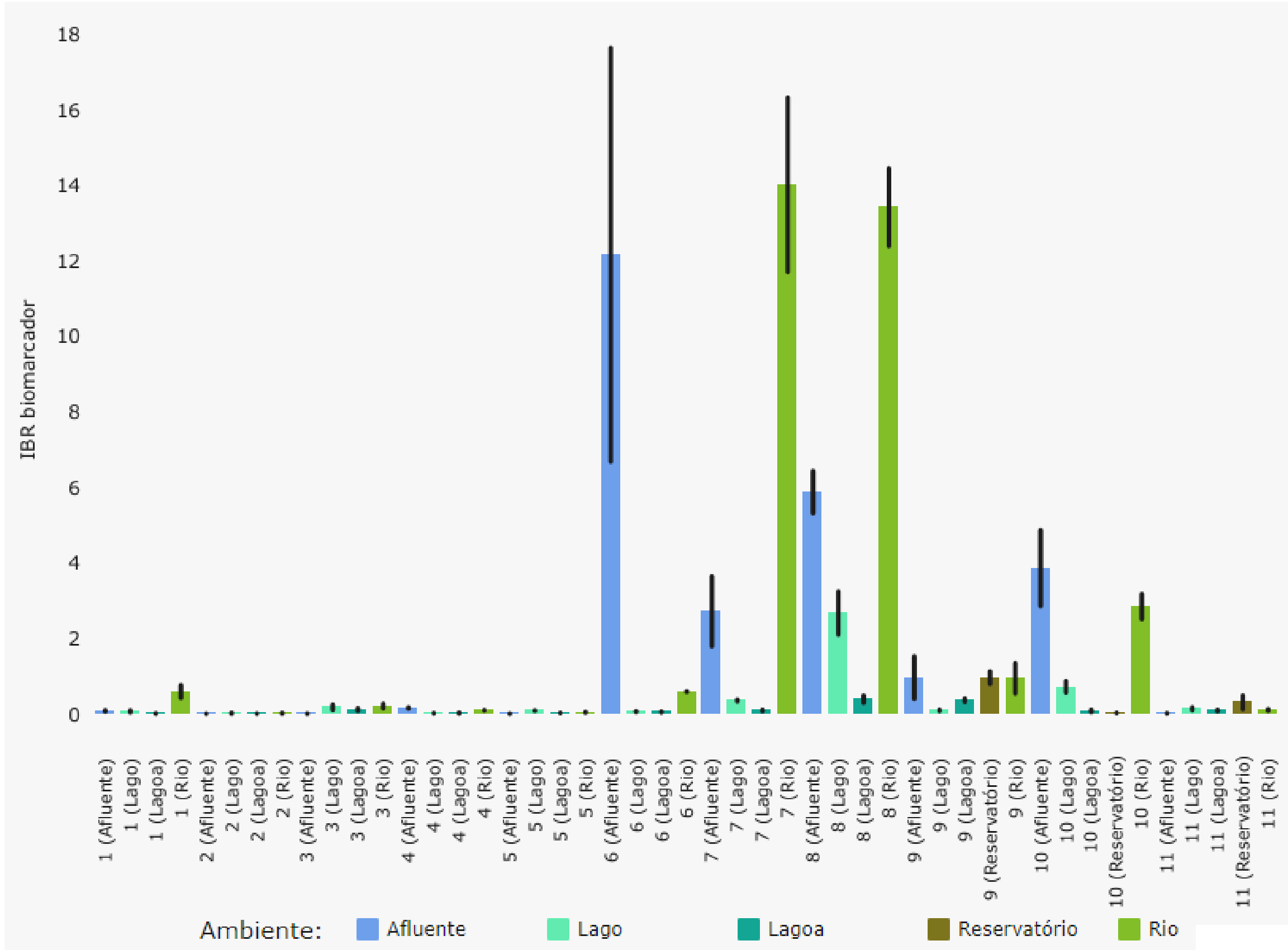
Fonde de Dados	Período de coleta	Localidades	Espécies	As (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )
Dados pretéritos à passagem da pluma (ACQUA, 2016)	(nov/2015)	Rio Doce (UHE Mascarenhas; jusante da UHE Mascarenhas; Colatina; Marilândia e Regência)	<i>Centropomus undecimalis</i> ; <i>Cichla monoculus</i> ; <i>Genidens genidens</i> ; <i>Geophagus brasiliensis</i> ; <i>Hypomasticus mormyrops</i> ; <i>Mugil sp.</i> ; <i>Pimelodus maculatus</i> ; <i>Polydactylus sp.</i> ; <i>Pochiclodus argenteus</i> ; <i>Pygocentrus nattereri</i> ; <i>Serrasalmus rhombeus</i>	0,703	0,020	0,111	0,200	9,300	0,460	0,020
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 2 (jan/fev 2019)	Afluente (RGU-01)	Peixes carnívoros	0,217	0,029	2,171	2,110	7,688	1,656	0,007
		Rio Doce		0,643	0,018	0,021	0,706	60,806	2,820	0,022
		Lagos		0,251	0,064	0,085	0,447	20,211	0,860	0,009
		Lagoas		0,641	0,035	0,056	1,879	44,810	4,207	0,023
	Campanha 3 (set/out 2019)	Afluente (RGU-01)	Peixes carnívoros	0,019	0,023	0,081	0,843	10,533	1,600	0,072
		Rio Doce		0,109	0,065	0,230	1,362	23,920	2,120	0,015
		Lagos		0,103	0,096	0,025	0,548	55,797	7,557	0,033
		Lagoas		0,097	0,074	0,029	0,518	55,646	6,426	0,046
	Campanha 4 (jan/fev 2020)	Afluente (RGU-01)	Peixes carnívoros	0,046	0,060	1,257	2,644	21,728	3,343	0,264
		Rio Doce		0,197	0,116	0,239	2,581	3,455	1,610	0,058
		Lagos		0,131	0,196	0,095	1,615	4,929	1,627	0,103
		Lagoas		0,759	0,028	0,896	4,410	4,088	1,962	0,036
	Campanha 5 (jan/fev 2021)	Afluente (RGU-01)	Peixes carnívoros	0,325	0,025	0,138	5,062	54,442	2,585	0,045
		Rio Doce		0,326	0,183	0,571	14,775	88,531	7,116	0,127
		Lagos		0,096	0,024	0,147	0,641	66,868	6,689	0,055
		Lagoas		0,137	0,116	0,136	1,876	11,998	7,878	0,036
	Campanha 6 (jul/ago 2021)	Afluente (RGU-01)	Peixes carnívoros	0,123	0,099	0,392	0,073	1,045	0,473	0,133
		Rio Doce		0,440	0,362	0,488	0,729	2,808	0,660	0,538
		Lagos		0,058	0,038	0,219	0,268	7,527	0,650	0,030
		Lagoas		0,259	0,257	0,451	0,584	5,189	0,797	0,397

Fonte de Dados	Período de coleta	Localidades	Espécies	As (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )
Dados pretéritos à passagem da pluma (ACQUA, 2016)	(nov/2015)	Rio Doce (UHE Mascarenhas; jusante da UHE Mascarenhas; Colatina; Marilândia e Regência)	<i>Centropomus undecimalis</i> ; <i>Cichla monoculus</i> ; <i>Genidens genidens</i> ; <i>Geophagus brasiliensis</i> ; <i>Hypomasticus mormyrops</i> ; <i>Mugil sp.</i> ; <i>Pimelodus maculatus</i> ; <i>Polydactylus sp.</i> ; <i>Pochiclodus argenteus</i> ; <i>Pygocentrus nattereri</i> ; <i>Serrasalmus rhombeus</i>	0,703	0,020	0,111	0,200	9,300	0,460	0,020
Dados PMBA/Fest - Ecotoxicologia	Campanha 7 (mar/ 2022)	Afluentes (RGU-01)	Peixes carnívoros	0,029	0,130	0,159	0,388	5,129	0,511	0,075
		Rio Doce		0,172	0,088	0,352	12,267	38,718	3,361	0,073
		Lagos		0,145	0,056	0,529	8,401	129,731	7,030	0,153
		Lagoas		0,179	0,057	0,704	7,919	104,087	7,327	0,196
	Campanha 8 (set/out 2022)	Afluentes (RGU-01)	Peixes carnívoros	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		Rio Doce		0,184	0,065	0,147	4,702	199,820	7,775	0,065
		Lagos		0,047	0,043	0,118	7,624	463,073	4,579	0,089
		Lagoas		0,055	0,041	0,132	11,448	497,344	4,208	0,116
	Campanha 9 (jan/fev 2023)	Afluentes (RMH-01)	Peixes carnívoros	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		Rio Doce		0,085	0,054	0,338	4,538	222,524	3,921	0,094
		Lagos		0,021	0,024	0,134	8,647	261,618	4,503	0,059
		Lagoas		0,032	0,023	0,151	5,992	296,625	5,582	0,080
		Reservatório		0,023	0,025	0,134	7,704	141,888	1,988	0,037
	Campanha 10 (jun/jul 2023)	Afluentes (RMH-01)	Peixes carnívoros	0,026	0,024	0,156	0,034	3,180	0,159	0,024
		Rio Doce		0,072	0,025	0,171	0,144	6,174	0,252	0,025
		Lagos		0,036	0,025	0,161	0,070	8,133	0,259	0,028
		Lagoas		0,042	0,025	0,107	0,038	4,138	0,229	0,026
		Reservatório		0,024	0,025	0,091	0,028	3,902	0,104	0,026
	Campanha 11 (jan 2024)	Afluentes (RMH-01)	Peixes carnívoros	0,065	0,077	0,815	0,012	3,593	0,260	0,033
		Rio Doce		0,134	0,082	3,763	0,203	10,353	0,580	0,054
		Lagos		0,072	0,057	2,215	0,174	5,874	0,508	0,062
		Lagoas		0,101	0,097	3,124	0,248	9,010	0,727	0,069
		Reservatório		0,039	0,044	0,041	0,268	1,875	0,300	0,048



3.2 ÍNDICE DE RESPOSTA BIOLÓGICA (IBR BIOMARCADOR)

Figura 7: Valores médios do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) determinados para amostras de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)]. As linhas verticais em preto representam o desvio padrão.

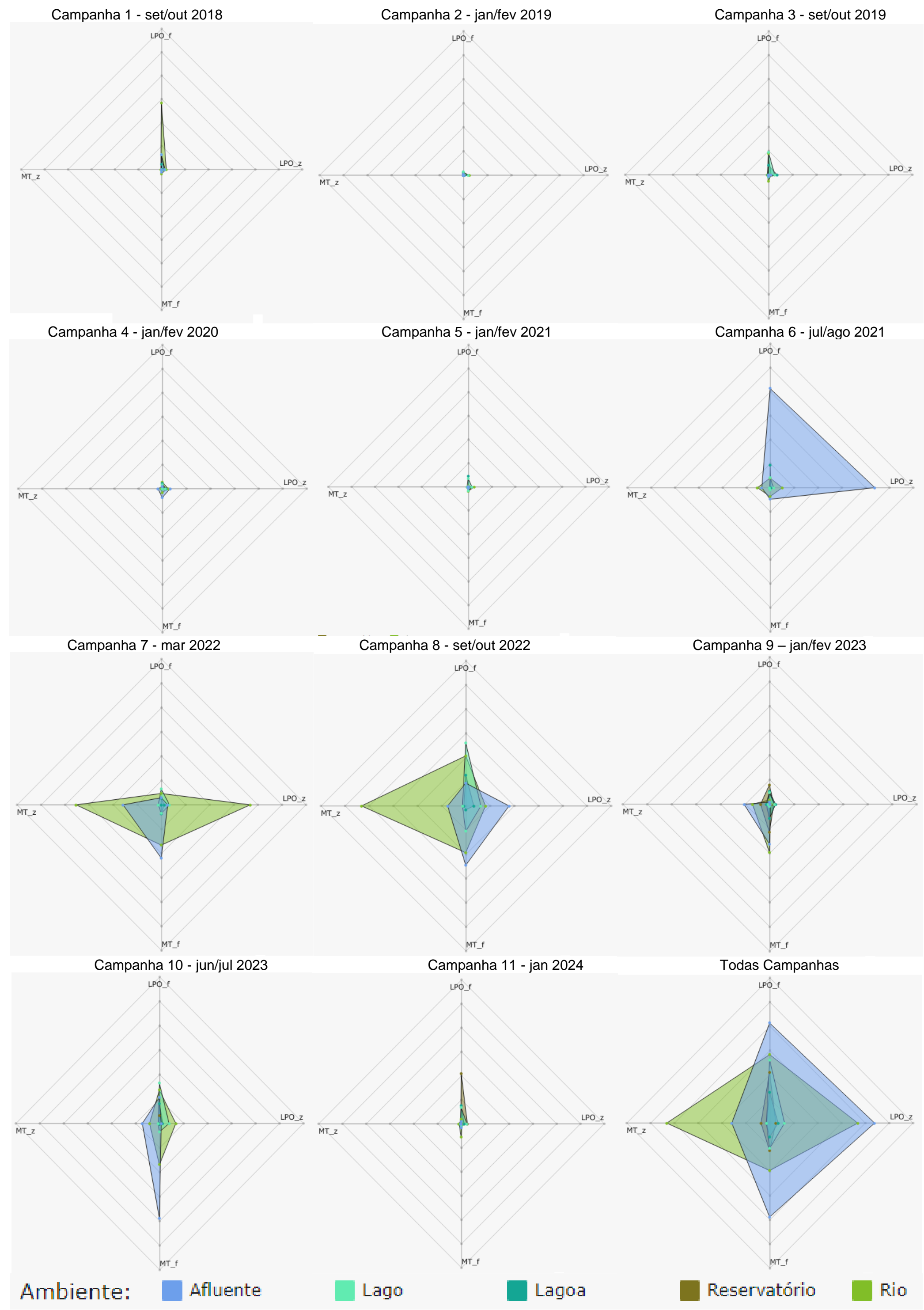




O gráfico de barras dos valores do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador), gerado para cada Setor avaliado e cada Campanha realizada, permite identificar as tendências espaço-temporais das respostas dos biomarcadores no plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) do Ambiente Dulcícola, ao longo de todo o período de monitoramento.

Com relação à comparação temporal global, feita a partir da avaliação do IBR Biomarcador e apresentada na Figura 7, foi observado que o estresse fisiológico mais pronunciado no plâncton dulcícola, caracterizado pelo valor do índice composto pelos biomarcadores selecionados, teve seu início na Campanha 6. Neste caso, os Setores que mais se destacaram foram o Afluente e o Rio. É importante salientar que estes resultados estão sugerindo não somente um estresse fisiológico precoce (agudo), mas também um estresse crônico nos organismos planctônicos avaliados, possivelmente associado à toxicidade dos contaminantes presentes no ambiente dulcícola. De fato, comparando-se as variações no IBR Biomarcador (Figura 7) com aquelas observadas no IBR Bioacumulação (Figura 1, pode ser inferido que há uma toxicidade, em nível bioquímico, causada pelos contaminantes (metais e As) analisados no plâncton dulcícola. Cabe lembrar que as respostas dos biomarcadores, conforme observado aqui, precedem os efeitos em níveis de indivíduo, população e comunidade. Por isso, as informações aqui apresentadas são relevantes e devem ser consideradas com atenção, uma vez que é evidente a presença de metais e As no Ambiente Dulcícola, com a consequente ocorrência de exposição crônica do plâncton dulcícola a estes contaminantes aquáticos, seguida da observação de efeitos biológicos relevantes.

Figura 8: Gráficos de radar obtidos a partir dos valores médios do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) determinados para amostras de plâncton [fitoplâncton (\_f) e zooplâncton (\_z)] coletadas durante 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Os biomarcadores analisados foram: lipoperoxidação (LPO); e concentração de metalotioneínas (MT). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].



No período entre as Campanhas 1 e 5 (Figura 8) os valores do IBR Biomarcador, apesar de relativamente baixos, demonstraram, em alguns dos Setores avaliados, uma pequena contribuição dos biomarcadores LPO no fitoplâncton e LPO no zooplâncton. Além disso, nas Campanhas 1, 3, 4 e 5, foi observada uma pequena contribuição do biomarcador MT do fitoplâncton na composição do valor do índice. Já na Campanha 4, houve uma pequena contribuição do biomarcador MT no zooplâncton. Com base nestes resultados, pode ser inferido que, no período de monitoramento compreendido entre as Campanhas 1 e 5, houve apenas uma discreta resposta dos biomarcadores analisados, frente ao estresse dos contaminantes presentes no Ambiente Dulcícola.

As respostas do plâncton ao estresse fisiológico foram mais acentuadas e evidentes a partir da Campanha 6, estando mais concentradas nos Setores Afluente e Rio. Na Campanha 6, no Setor Afluente, todos os biomarcadores analisados contribuíram para a composição do valor do IBR Biomarcador, com picos de valores no biomarcador LPO tanto no fitoplâncton como no zooplâncton. Quanto ao Setor Rio, foi observada uma contribuição equivalente de todos os biomarcadores analisados na composição do valor do IBR Biomarcador.

Já na Campanha 7, o Setor Rio apresentou os maiores valores do IBR Biomarcador, o qual foi composto por todos os biomarcadores analisados, mas com picos de valores naqueles monitorados no zooplâncton (MT e LPO). No Setor Afluente, o IBR Biomarcador também foi composto por todos os biomarcadores analisados, com os maiores valores sendo observados na MT (fitoplâncton e zooplâncton), caracterizando assim uma relevante acumulação de metais e As nas células. A contribuição dos biomarcadores MT e LPO para a composição dos valores do IBR Biomarcador nos Setores Lago e Lagoa também evidenciam uma importante acumulação de metais e As nas células dos organismos planctônicos, com consequentes efeitos biológicos (peroxidação lipídica).

Na Campanha 8, todos os Setores tiveram os seus valores do IBR Biomarcador compostos por todos os biomarcadores analisados. Porém, destaca-se o Setor Rio, que apresentou o maior valor do índice, o qual foi composto pelos maiores valores de MT no zooplâncton e fitoplâncton, bem como de LPO no fitoplâncton.

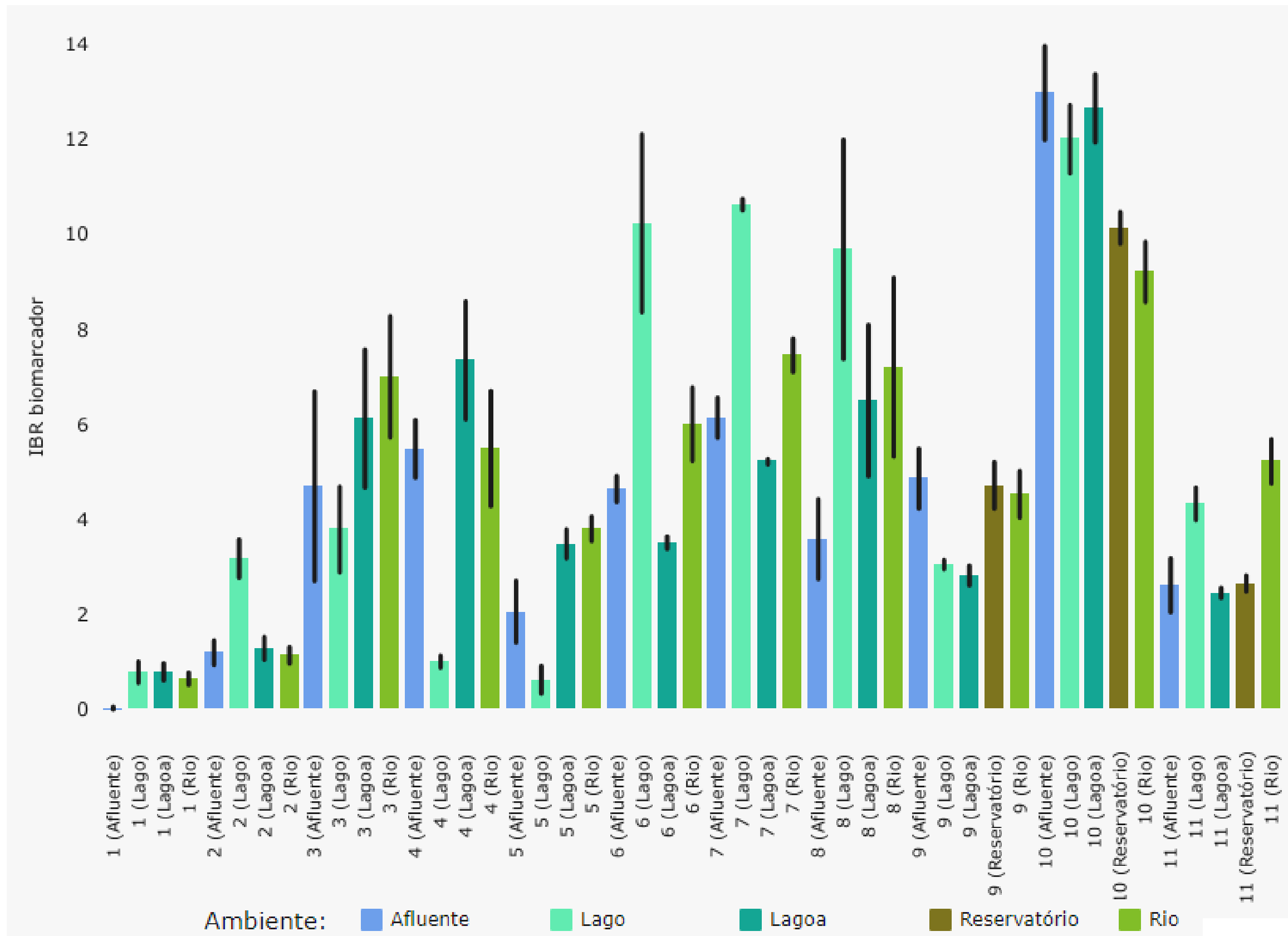
Na Campanha 9, os Setores Afluente, Reservatório e Rio merecem destaque, pois, embora os seus valores de IBR Biomarcador não tenham sido tão altos quando comparados àqueles observados para os outros Setores ao longo do monitoramento, estes foram os mais relevantes para a Campanha em questão. No caso do Setor Afluente, o valor do índice foi composto pelos biomarcadores MT no fitoplâncton e zooplâncton. Por sua vez, o valor do IBR Biomarcador no Setor Reservatório foi composto por todos os biomarcadores analisados. Já no Setor Rio, este índice contou com a contribuição dos biomarcadores MT no fitoplâncton e zooplâncton, bem como LPO no fitoplâncton.

Na Campanha 10, os biomarcadores que compuseram o valor do IBR Biomarcador no Setor Afluente foram LPO no fitoplâncton, MT no fitoplâncton e MT no zooplâncton. Já no Setor Rio, o valor do índice foi composto por todos os biomarcadores analisados. Por fim, Na Campanha 11, o principal

biomarcador que compôs o valor do índice foi o biomarcador LPO no fitoplâncton, em todos os Setores avaliados.

De maneira geral, todos os biomarcadores analisados contribuíram com bastante frequência na composição dos valores do IBR Biomarcador ao longo das Campanhas do monitoramento, refletindo assim os impactos bioquímicos crônicos associados à acumulação de contaminantes (metais e As), com consequentes danos oxidativos (lipoperoxidação) às células dos organismos analisados. Neste contexto, cabe ressaltar que a LPO (fitoplâncton e zooplâncton), o qual é um biomarcador de dano oxidativo na membrana plasmática, foi relevante para a composição do IBR Biomarcador em todas as Campanhas realizadas.

Figura 9: Valores médios do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) determinados para amostras de tecidos (brânquias, hepatopâncreas, músculo e hemolinfa) de camarões coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)]. As linhas verticais em preto representam o desvio padrão.



O gráfico de barras dos valores do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador), gerado para cada Setor avaliado e cada Campanha realizada, permite identificar as tendências espaço-temporais das respostas dos biomarcadores nos camarões do Ambiente Dulcícola, ao longo de todo o monitoramento. Na Figura 9, pode ser observado que os valores do IBR Biomarcador tendem a se manterem altos a partir da Campanha 3, em todos os Setores avaliados, ao longo do período de monitoramento. Além disso, cabe destacar que a Campanha 10 apresentou os maiores valores do índice para todos os Setores avaliados, em relação a todas as demais Campanhas realizadas. Porém, na Campanha 11 foi observada uma redução nos valores médios do IBR Biomarcador em todos os Setores avaliados.

É importante destacar que os contaminantes presentes no ambiente, incluindo os metais e o As, não estão ocorrendo de forma isolada, mas sim na forma de misturas. Vale lembrar também que a interação entre eles, mesmo em concentrações baixas, pode desencadear efeitos aditivos, antagônicos (menos severos) ou sinérgicos (mais severos) sobre a biota aquática (Cedergreen, 2014; Rocha et al., 2023). No caso dos camarões do Ambiente Dulcícola, houve a acumulação dos contaminantes analisados nos tecidos destes organismos, ao longo do monitoramento realizado. Isto sugere que os efeitos observados nos biomarcadores analisados estão vinculados à bioacumulação de metais e As nos camarões dulcícolas.

As respostas dos biomarcadores, quando utilizados para investigar os efeitos em decorrência da exposição à contaminantes, indicam os primeiros sinais de efeitos biológicos em nível tecidual, celular e/ou molecular. Entretanto, a persistência crônica da exposição ambiental aos contaminantes pode levar a alterações fisiológicas na espécie, tais como na reprodução e no crescimento dos organismos, com consequentes impactos relevantes em nível populacional e, até mesmo, de comunidade. Portanto, observando o gráfico de barras dos valores de IBR Biomarcador nos camarões dulcícolas, é possível evidenciar a ocorrência de um estresse crônico, o qual tem persistido ao longo de todo o período de monitoramento. Assim, os resultados aqui relatados destacam a necessidade de atenção especial à saúde do Ambiente Dulcícola, devido a possibilidade de ocorrência de efeitos tóxicos decorrentes da contaminação por metais e As, em níveis superiores de organização biológica. Os impactos mais preocupantes e negativos, que podem ocorrer a partir desse cenário, seriam os efeitos de cascatas tróficas, perda da biodiversidade, incapacidade dos organismos em realizar suas funções, bem como de fornecer serviços ecossistêmicos.



Figura 10: Gráficos de radar obtidos a partir dos valores médios do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) determinados para amostras de tecidos de camarões coletadas durante 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco ), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Os biomarcadores analisados foram: lipoperoxidação nas brânquias (LPO\_brq) e no hepatopâncreas (LPO\_hep); concentração de metalotioneínas no hepatopâncreas (MT); proteínas carboniladas no músculo (PCO); e níveis de sítios AP (apurínicos/apirimídicos) (AP) da Campanha 1 à 8 na hemolinfa e da Campanha 9 à 10 no músculo. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8 ) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].



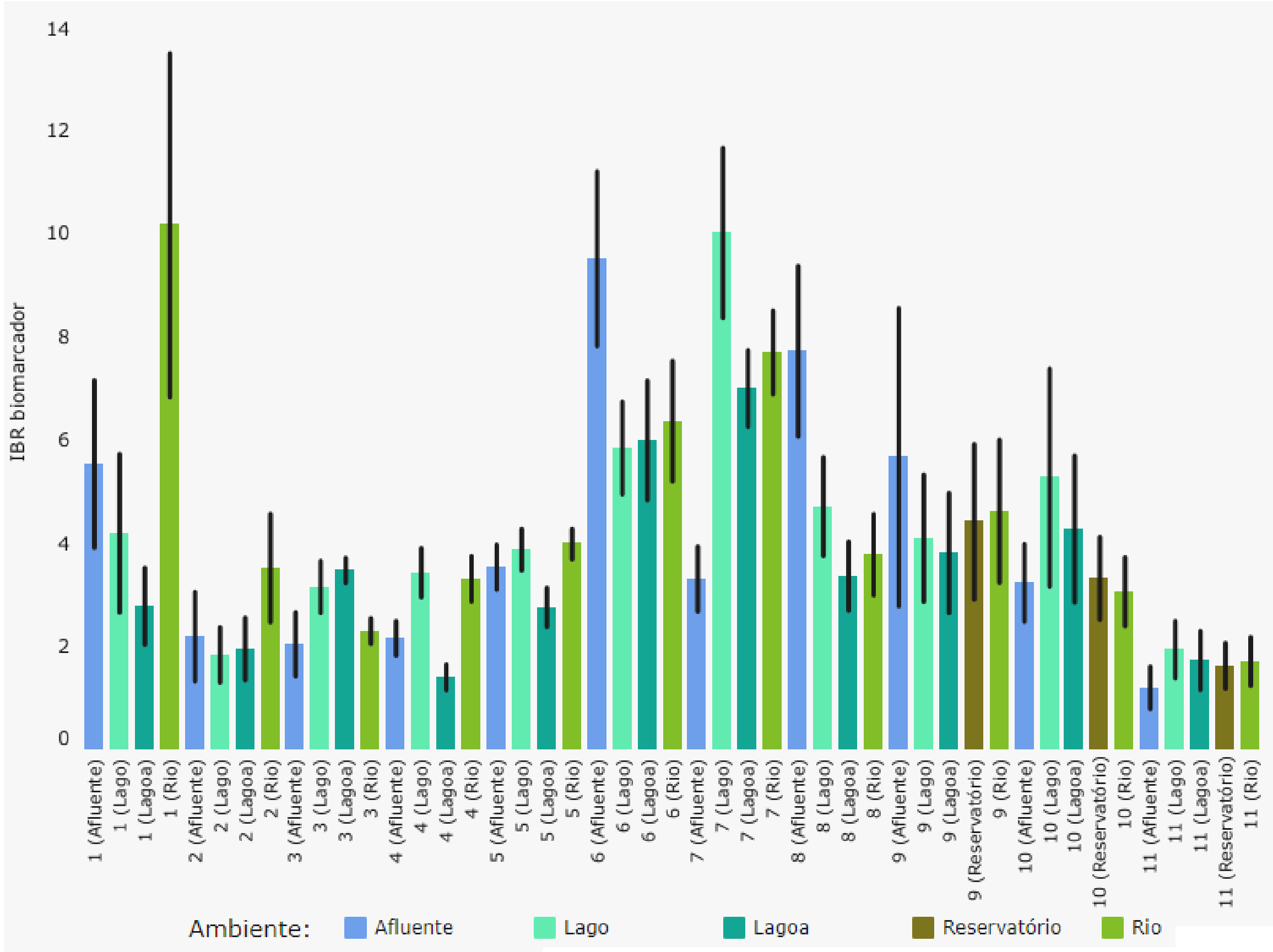


Os gráficos de radar apresentados na Figura 10 foram obtidos a partir do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) de cada Setor avaliado e de cada Campanha realizada. Estes gráficos mostram a variação espaço-temporal das respostas dos biomarcadores nos camarões do Ambiente Dulcícola, bem como a contribuição de cada um deles na composição do índice.

De uma forma geral, observa-se que, em todas as Campanhas realizadas e em todos os Setores avaliados, houve um alto nível de estresse nos indivíduos estudados, fato este representado pelas respostas dos biomarcadores analisados. As Campanhas que apresentaram os menores valores do IBR Biomarcador foram as Campanhas 1 e 2. Contudo, vale destacar que, no caso destas duas Campanhas, houve a participação de, pelo menos, quatro dos cinco biomarcadores analisados na composição do valor do IBR Biomarcador. Por outro lado, a Campanha que apresentou os maiores valores do índice foi a Campanha 10. Neste caso, os biomarcadores sítios AP, LPO nas brânquias, LPO no hepatopâncreas e MT foram os que mais contribuíram para a composição do valor do IBR Biomarcador, em todos os Setores avaliados. Por sua vez, o biomarcador PCO contribuiu na composição do valor do índice apenas no Setor Rio.

De uma forma geral, todos os biomarcadores analisados se mostraram importantes para evidenciar os impactos biológicos causados pela exposição dos camarões aos contaminantes (metais e As) presentes no Ambiente Dulcícola. Isto se dá não apenas pelo fato destes biomarcadores contribuírem na composição do IBR Biomarcador em praticamente todas as Campanhas, mas também pela intensidade dessa contribuição (altos valores). Neste contexto, fica evidente que os camarões do Ambiente Dulcícola vêm sendo submetidos à um impacto crônico associado à contaminação ambiental por metais e As, fato este que vem ocorrendo desde o início do monitoramento. Além disso, os biomarcadores utilizados sinalizam e caracterizam o estresse oxidativo às biomoléculas (lipídios e proteínas), danos ao DNA e impactos no sistema de defesa dos crustáceos, como resultado da bioacumulação de metais e As. A longo prazo, algumas das consequências dessa pressão ambiental podem ser alterações no desempenho da espécie no ambiente, impactos na sobrevivência da população e efeitos negativos na saúde de organismos que os consomem, incluindo o homem (Ezemonye et al., 2019; Frías-Espéricueta et al., 2022; MacFarlane et al., 2006).

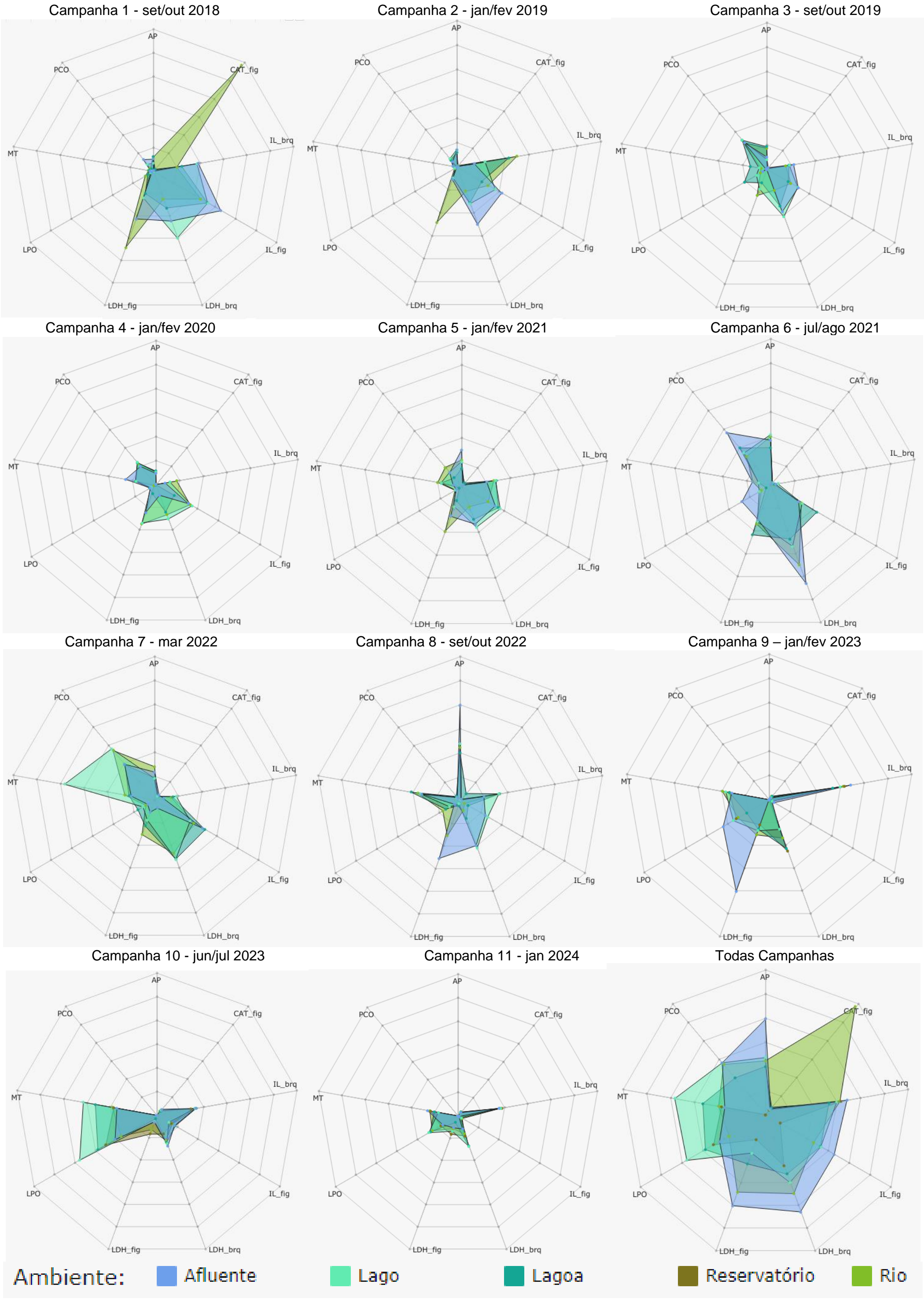
Figura 11: Valores médios do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) determinados para amostras de tecidos (brânquias, fígado, músculo e sangue) de peixes (onívoros e carnívoros) coletadas durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), Campanha 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8 ) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)]. As linhas verticais em preto representam o desvio padrão.



O gráfico de barras dos valores do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador), gerado para cada Setor avaliado e cada Campanha realizada, permite identificar as tendências espaço-temporais das respostas dos biomarcadores nos peixes (onívoros e carnívoros) do Ambiente Dulcícola, ao longo de todo o monitoramento.

Com relação à comparação temporal feita a partir da avaliação do IBR Biomarcador e apresentada na Figura 11, observa-se que, de forma geral, os valores do IBR Biomarcador foram relevantes em todos os Setores avaliados e em todas as Campanhas realizadas. Este fato merece atenção, como já ressaltado para o caso dos camarões dulcícolas. Quando os dados do IBR Biomarcador em peixes (Figura 11) são comparados com aqueles do IBR Bioacumulação em peixes (Figura 5), denota-se que a resposta dos biomarcadores nos peixes, assim como para os camarões, também está sendo influenciada pela bioacumulação dos contaminantes (metais e As) em seus tecidos. Outrossim, os resultados apresentados na Figura 11 evidenciam que os peixes também têm sido expostos à um estresse crônico, desde o início do monitoramento, o que pode gerar sérias consequências às populações destes animais, bem como afetar o equilíbrio do ecossistema e da diversidade aquática. Alguns efeitos negativos associados à contaminação dos peixes com metais e As são a diminuição da fecundidade e taxa de eclosão de ovos, bem como inibição do desenvolvimento, alterações fisiológicas, deformidades e tumores (Fatima et al., 2020; Garai et al., 2021; Taslima et al., 2022). Além disso, como os peixes fazem parte da dieta humana, os problemas relacionados à toxicidade dos metais e As podem também causar, indiretamente, problemas de saúde pública (Noman et al., 2022).

Figura 12: Gráficos de radar obtidos a partir dos valores médios do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) determinados para amostras de tecidos de peixes (onívoros e carnívoros) coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). A ausência do monitoramento em ago/set 2020 – período seco, entre as Campanhas 4 e 5, foi devida a pandemia da COVID-19. Os biomarcadores analisados foram: lipoperoxidação no fígado (LPO); concentração de metalotioneína no fígado (MT); níveis de proteínas carboniladas da Campanha 1 à 8 no músculo e da Campanha 9 à 10 no fígado (PCO); níveis de sítios AP (apurínicos/apirimídicos) da Campanha 1 à 8 no sangue e da Campanha 9 à 10 nas brânquias (AP); índices médios de lesões histopatológicas nas brânquias (IL\_brq) e no fígado (IL\_fig); atividade da enzima catalase no fígado (CAT\_fig); e atividade da enzima lactato desidrogenase nas brânquias (LDH\_brq) e no fígado (LDH\_fig). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].





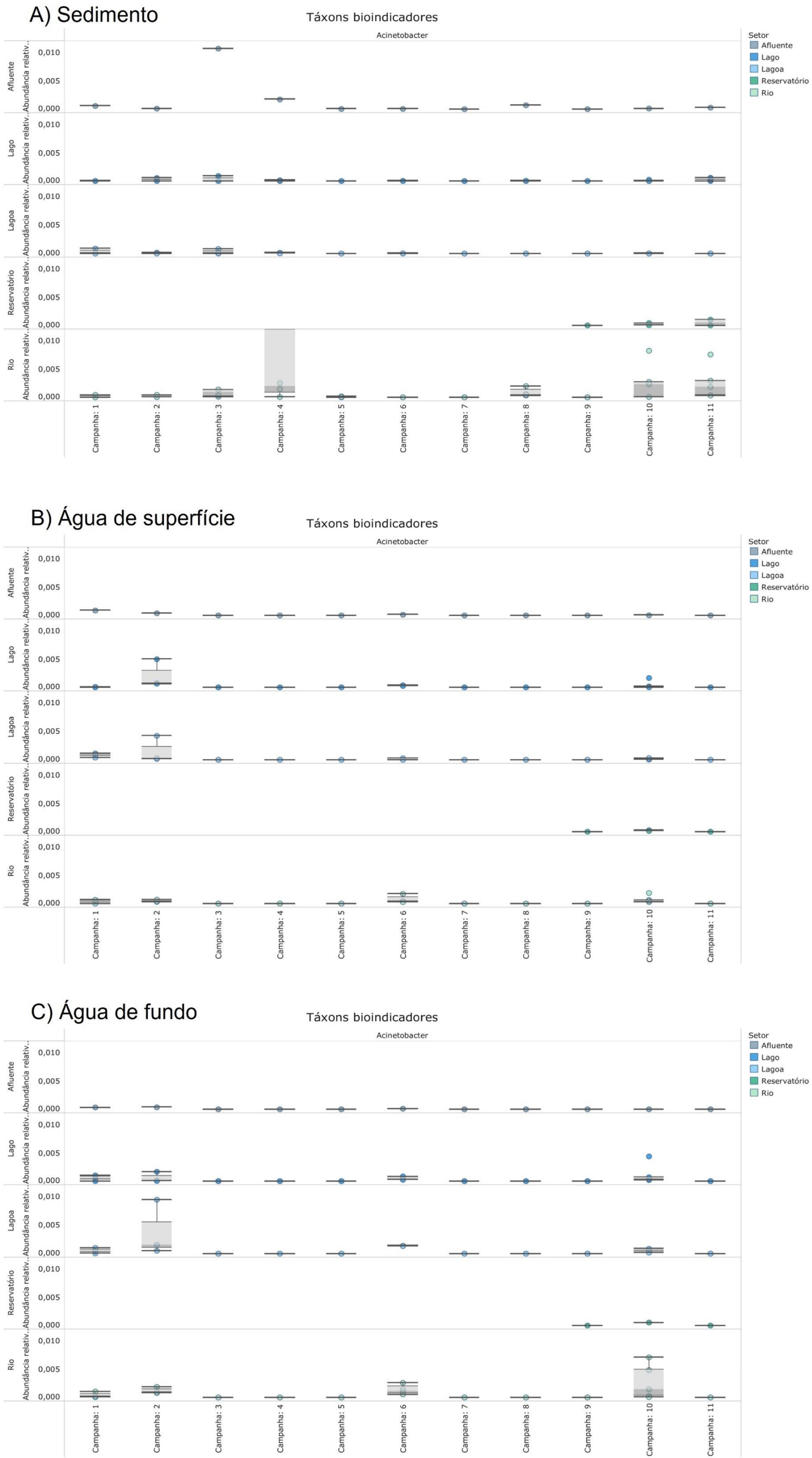
Os gráficos de radar apresentados na Figura 12 foram obtidos a partir do Índice de Resposta Biológica (IBR Biomarcador) de cada Setor avaliado e de cada Campanha realizada. Estes gráficos mostram a variação espaço-temporal das respostas dos biomarcadores nos peixes (onívoros e carnívoros) do Ambiente Dulcícola, bem como a contribuição de cada deles para a composição do índice.

Embora todos os valores de IBR Biomarcador observados para os peixes dulcícolas terem sido altos, no que se refere às respostas dos biomarcadores aos impactos dos contaminantes (metais e As) presentes no ambiente, denota-se que os maiores valores do índice foram observados nos Setores: (i) Rio na Campanha 1, onde todos biomarcadores contribuíram na composição do valor do índice, com destaques para a CAT no fígado, IL no fígado e LDH no fígado; (ii) Lago na Campanha 7, onde todos os biomarcadores participaram da composição do valor do índice, sendo que os maiores valores foram associados à LDH nas brânquias, MT e PCO; (iii) Afluente na Campanha 6, onde todos os biomarcadores analisados contribuíram para a composição do índice, sendo que os maiores valores foram observados para a LDH nas brânquias, PCO e sítios AP; (iv) Rio na Campanha 7, onde todos os biomarcadores analisados contribuíram para a composição do IBR Biomarcador, sendo que os maiores valores foram do IL no fígado, LDH nas brânquias e PCO; (v) Afluente na Campanha 8, onde todos os biomarcadores participaram na composição do valor índice, sendo que as maiores contribuições foram dos biomarcadores sítios AP e LDH no fígado; e (vi) Lagoa na Campanha 7, onde todos os biomarcadores contribuíram na composição do índice, tendo sido observados picos nos valores dos biomarcadores IL no fígado, LDH nas brânquias e PCO. Cabe ressaltar aqui que os biomarcadores LPO, PCO e Sítio AP são biomarcadores de efeito e, portanto, indicam efeitos diretamente relacionados à danos celulares. Por outro lado, o biomarcador MT indica a exposição à metais e metaloides, bem como a ativação do sistema de defesa celular, sem necessariamente indicar danos propriamente ditos.

Em todas as Campanhas realizadas, os valores do IBR Biomarcador para peixes dulcícolas contaram com a contribuição de uma grande diversidade dos biomarcadores analisados. Além disso, todos os biomarcadores contribuíram na composição do valor do índice na maior parte das Campanhas realizadas, sendo que o IL nas brânquias, IL no fígado, LDH nas brânquias, LDH no fígado e MT contribuíram para a composição do IBR Biomarcador em todas as Campanhas do monitoramento. Considerando-se as respostas desses biomarcadores, pode-se inferir que os peixes do Ambiente Dulcícola estão impactados pela contaminação por metais e As. Vale lembrar que os biomarcadores analisados indicam lesões nos tecidos dos peixes e ativação de mecanismos que requerem uma demanda anaeróbica das células, devido ao estresse e a ação do metabolismo para a proteção contra a bioacumulação dos contaminantes (metais e As) presentes no ambiente dulcícola.

3.3 DIVERSIDADE MICROBIANA

Figura 13: Boxplot da abundância relativa do táxon *Acinetobacter*, bioindicador microbiano da contaminação por metal, mensurada nas amostras de sedimento (A), água de superfície (B) e água de fundo (C) coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco ), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluentes [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8 ) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].



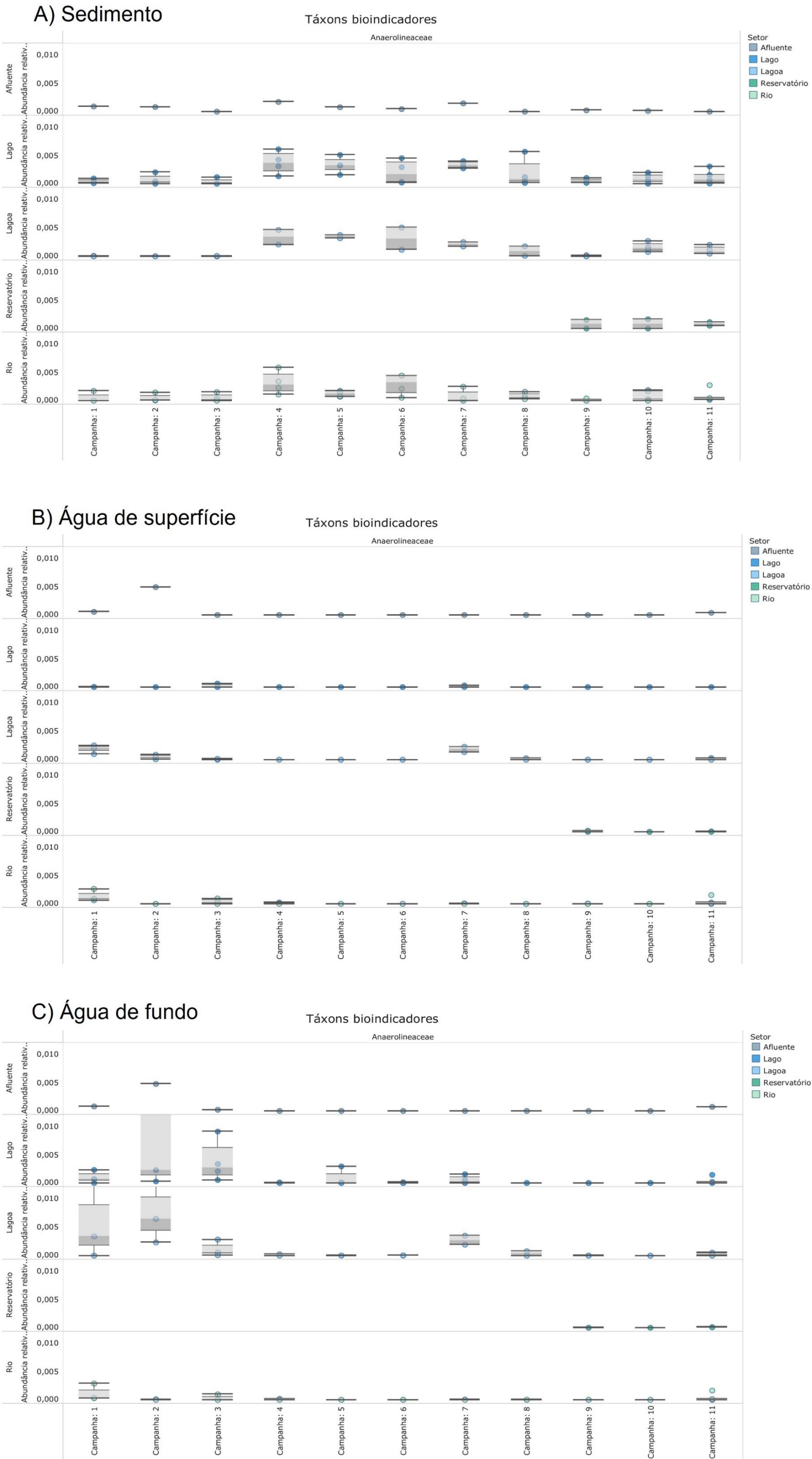
Os dados apresentados na Figura 13 mostram a abundância relativa do táxon *Acinetobacter* em diferentes matrizes ambientais. No sedimento do ecossistema dulcícola foi evidenciado que os Setores apresentaram uma oscilação ascendente do biomarcador *Acinetobacter* entre as Campanhas 1 e 4, alcançando até 0,02% no Setor Rio, seguido de redução e estabilização em patamares mais baixos em todos os Setores. No entanto, o Setor Rio continuou a demonstrar valores relativamente elevados durante as Campanhas 8, 10 e 11 (0,002%). Também é evidente um aumento gradativo da abundância do gênero no Setor Reservatório da Campanha 9 para a Campanha 11.

Na água de superfície, o gênero *Acinetobacter* apresentou os maiores índices de abundância relativa no Ano 1 (Campanhas 1 e 2), período mais próximo ao rompimento da barragem. Na Campanha 6, os Setores apresentaram um pico de até 0,001% na abundância do gênero. Os Setores Lago e Lagoa apresentaram os maiores valores de abundância relativa na água superficial, atingindo até 0,005%, durante as Campanhas 1 e 2. Porém, tenderam posteriormente a se estabilizar em níveis mais baixos. O Setor Reservatório apresentou valores elevados apenas na Campanha 10 (0,0002%), mas com percentual inferior ao observado nos outros Setores. Na Campanha 11, sua abundância voltou ao percentual apresentado anteriormente.

A abundância relativa do biomarcador *Acinetobacter* medida na água de fundo mostrou-se semelhante àquela observada na água de superfície. A tendência geral foi de ocorrência de valores mais altos no Ano 1 (Campanhas 1 e 2), seguida de estabilização, com picos notáveis nas Campanhas 6 e 10. Vale ressaltar que as detecções no Setor Reservatório foram similares àsquelas observadas na água de superfície, com baixa abundância relativa na Campanha 9 (<0,0002%), valores mais altos (>0,0004%) na Campanha 10, retornando a baixos valores na Campanha 11 (abaixo de 0,0002%). Por outro lado, no Setor Rio, houve um aumento expressivo da abundância relativa desse microorganismo, alcançando até 0,007% na Campanha 10, fato que não se manteve na Campanha 11 (abaixo de 0,002%). Para a Campanha 2, também foram observados valores consideravelmente elevados, comparáveis aos encontrados no sedimento do Setor Lagoa (0,01%). O gênero *Acinetobacter* é conhecido por tolerar altas concentrações de metais e óleo (Méndez et al., 2017). Portanto, sua presença no sedimento do Ambiente Dulcícola é um indicador de contaminação ambiental, visto que este gênero possui genes de resistência a ambientes altamente alcalinos, bem como a metais presentes na pluma de rejeitos, tais como Cu, Zn, Cd e Cr (Petrová et al., 2023).



Figura 14: Boxplot da abundância relativa do táxon Anaerolineaceae, bioindicador microbiano da contaminação por metal, mensurada nas amostras de sedimento (A), água de superfície (B) e água de fundo (C) coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco ), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluentes [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8 ) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].

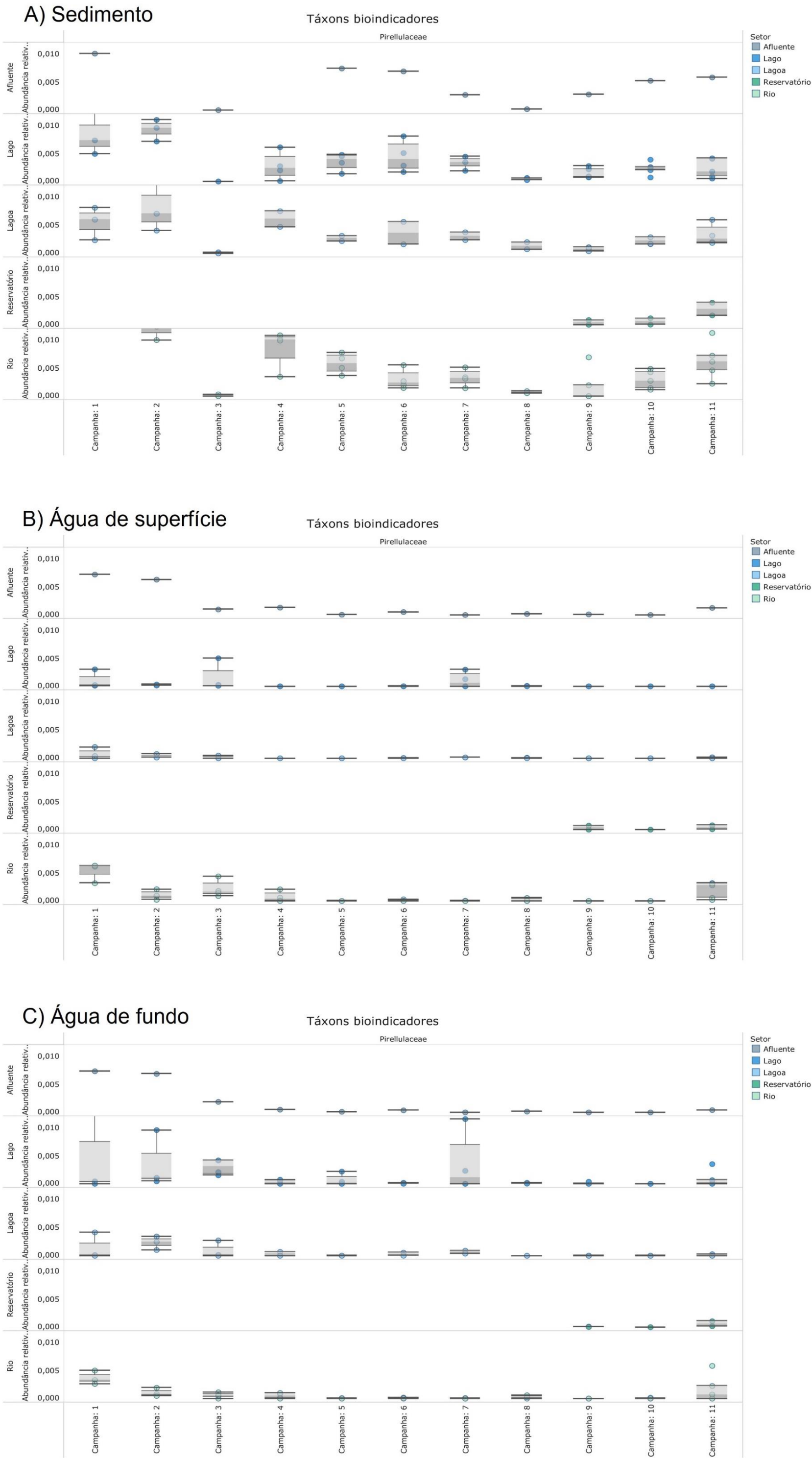


Os dados apresentados na Figura 14 mostram a abundância relativa do táxon Anaerolineaceae em diferentes matrizes ambientais. Os microrganismos da família Anaerolineaceae são fermentadores quimiorganoheterotróficos encontrados, principalmente, em ambientes anóxicos. Eles são altamente dependentes de compostos inorgânicos, funcionando como um indicador sensível de contaminação por metais, especialmente quando se considera a matriz sedimentar do Rio Doce, onde estes elementos podem se depositar e permanecer por longos períodos antes de serem lixiviados ou diluídos. Em sistemas de tratamento de águas residuais, a presença da Anaerolineaceae já foi associada à contaminação por Mn, Zn, Cu e Fe (Zeng et al., 2022). Os níveis de abundância relativa de Anaerolineaceae manifestaram flutuações marcantes e, embora a correlação não se revele prontamente evidente, é razoável supor que a sazonalidade das chuvas esteja exercendo influência sobre esses valores. No sedimento, foi observada uma tendência consistente de oscilação da abundância relativa de Anaerolineaceae entre 0,001% e 0,006%. Todos os Setores avaliados exibiram essa mesma tendência, com valores de abundância mais baixos registrados durante as três primeiras Campanhas do monitoramento, seguidos de picos registrados nas Campanhas de 4 a 6, e subsequente declínio até a Campanha 11.

Na água de superfície, os grupos pertencentes à família Anaerolineaceae foram consideravelmente menos abundantes do que no sedimento, conforme esperado, pela característica anóxica desta família de microrganismos. A tendência observada revelou maiores níveis de abundância relativa durante as três primeiras Campanhas do monitoramento, atingindo até ~0,002%, seguidos por uma diminuição que alcançou valores de abundância relativa tão baixos quanto 0,0002%, ou ainda menores. Na Campanha 11, foi observado um pequeno aumento na abundância relativa de Anaerolineaceae quando comparado às Campanhas anteriores, especialmente no Setor Rio (0,001%). A família Anaerolineaceae é comumente encontrada em áreas de descarte de resíduos de mineração em várias partes do mundo, sendo frequentemente associada ao solo contaminado por atividades mineradoras (Chung et al., 2019). Portanto, sua detecção na água superficial, mesmo em concentrações mínimas, caracteriza-se como um indicador de contaminação por metais.

Na água de fundo, apesar da proximidade desta com o sedimento, não foram observados valores substancialmente diferentes daqueles registrados para a água superficial. Porém, os valores mais elevados parecem estar concentrados nas Campanhas de 1 a 3, seguidos por uma clara tendência de redução para níveis menores de abundância relativa a partir da Campanha 4. Assim como na água de superfície, a análise da Campanha 11 mostrou um aumento da abundância relativa família Anaerolineaceae nos Setores que, apesar de distante dos valores encontrados nas Campanhas 1, 2 3, pode ser um indicativo de contaminação por metais.

Figura 15: Boxplot da abundância relativa do táxon Pirellulaceae, bioindicador microbiano da contaminação por metal, mensurada nas amostras de sedimento (A), água de superfície (B) e água de fundo (C) coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco ), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluentes [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8 ) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].



Os dados apresentados na Figura 15 mostram a abundância relativa do táxon *Pirellulaceae* em diferentes matrizes ambientais. A família *Pirellulaceae* é frequentemente encontrada em ambientes com pH neutro, mesofílicos ou que demonstram tolerância a condições psicrófilas. Neste grupo, estão inclusos microrganismos aeróbicos, microaerófilos ou anaeróbicos, além de heterotróficos (Lage et al., 2022). Esta família de microrganismos também está associada à contaminação por metais em resíduos de mineração, particularmente associada a altos níveis de contaminação por Mn (Sjöberg et al., 2020). De fato, ela foi repetidamente identificada em áreas de descarte de resíduos de mineração, demonstrando sua capacidade de tolerar ambientes contaminados por metais, bem como de reduzir esta contaminação ao longo do tempo (Chen et al., 2018; Yan et al., 2020). Para a matriz sedimento, nos Setores Lago e Lagoa, os valores de abundância relativa de *Pirellulaceae* permaneceram elevados desde o início do monitoramento, alcançando até 0,13%. No Setor Rio, abundâncias relativas de 0,02% foram registradas já na Campanha 1, diminuindo progressivamente até a Campanha 8. Entre as Campanhas 9 e 11, houve um crescimento progressivo da abundância relativa desta família, chegando a uma diferença de até aproximadamente 0,005% no Setor Rio.

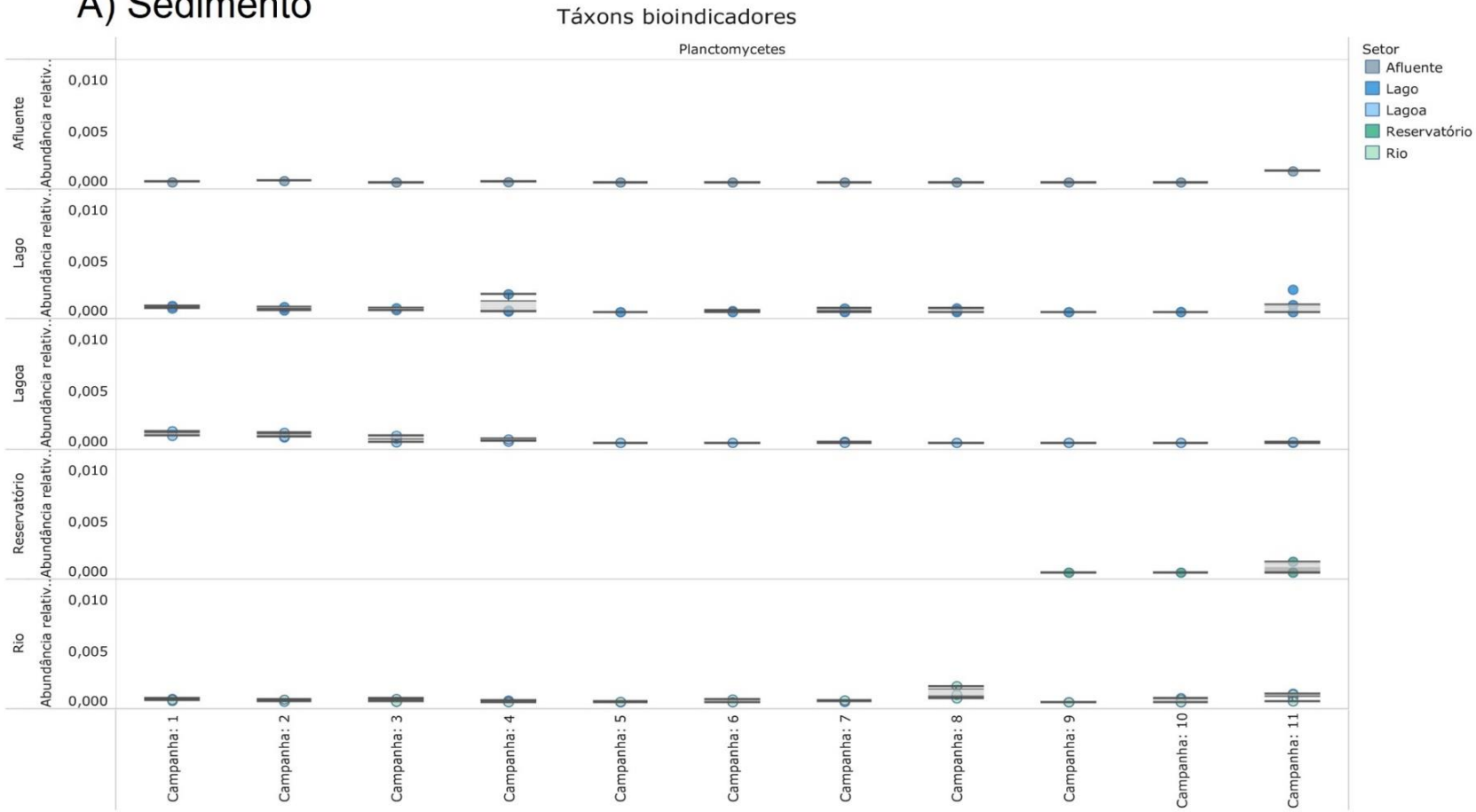
Na água de superfície, a abundância relativa da família *Pirellulaceae* exibiu padrões distintos em comparação ao sedimento, com menor abundância relativa. De maneira geral, a abundância de *Pirellulaceae* pareceu ser mais elevada até a Campanha 4, tendo sido então observada uma tendência de diminuição ao longo das Campanhas subsequentes. Porém, assim como no sedimento, um aumento da abundância relativa da família *Pirellulaceae* foi observado na Campanha 11, especialmente no Setor Rio (0,003%).

Na água de fundo, foi observado um padrão de abundância relativa de *Pirellulaceae* muito similar àquele registrado para a água de superfície, assim como observado para os demais táxons, ainda que a água de fundo se encontre mais próxima ou em contato com o sedimento. É provável e esperado que no sedimento haja uma maior deposição de metais e As do que na água corrente. Os níveis mais elevados de abundância relativa de *Pirellulaceae* observados no sedimento indicam que há uma maior deposição de metais e As nesta matriz. Porém, as chuvas podem causar flutuações mais acentuadas na abundância relativa da microbiota associada, devido a ressuspensão de partículas sedimentares. De maneira geral, os valores mais elevados de abundância relativa da família *Pirellulaceae* foram observados nos dois primeiros anos do monitoramento, seguidos por uma redução gradual. Essa tendência sugere uma possível estabilização da abundância relativa desse grupo de microrganismos em níveis mais baixos ao longo do tempo.

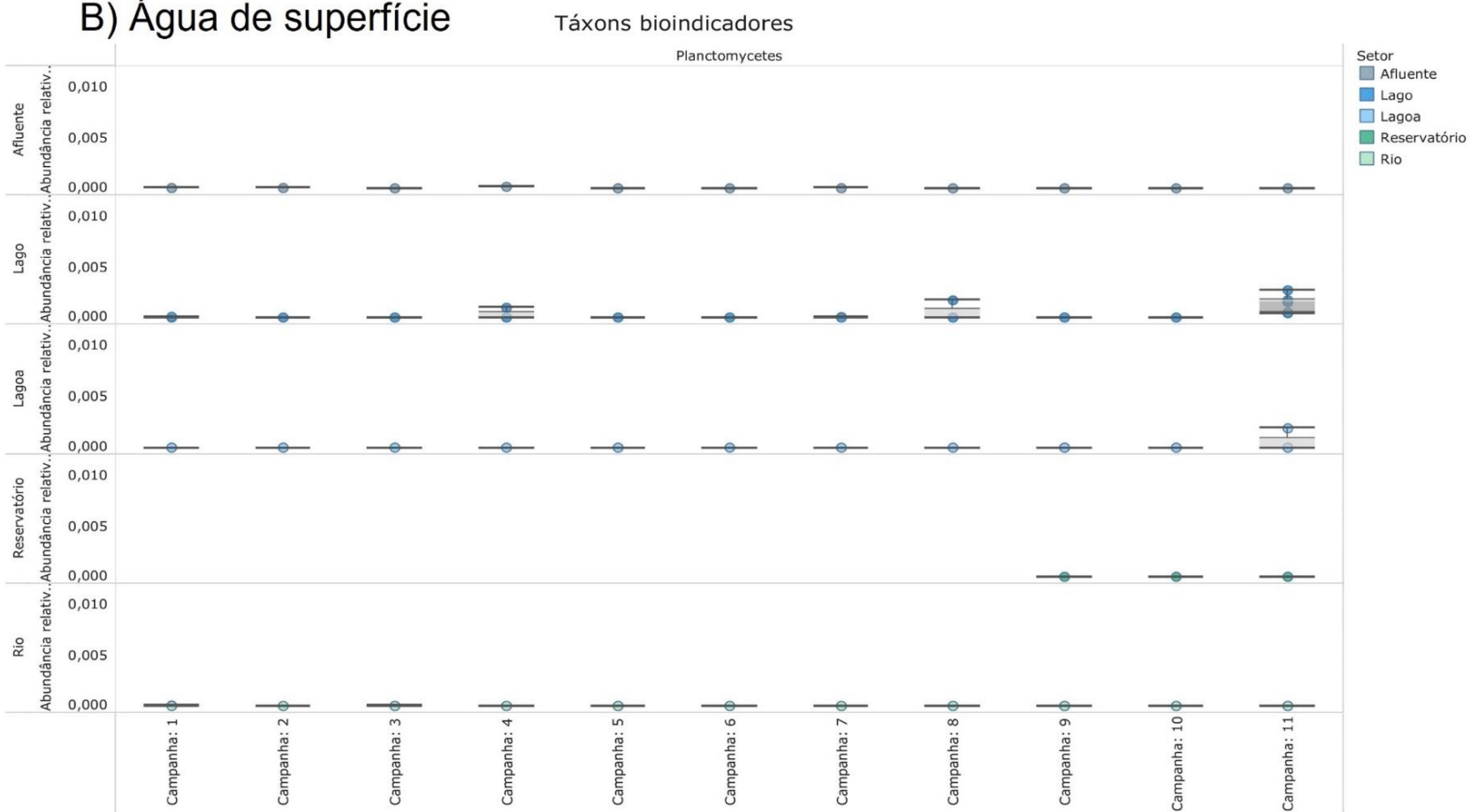


Figura 16: Boxplot da abundância relativa do táxon Planctomycetes, bioindicador microbiano da contaminação por metal, mensurada nas amostras de sedimento (A), água de superfície (B) e água de fundo (C) coletadas durante a Campanha 1 (set/out 2018 – período seco), Campanha 2 (jan/fev 2019 – período chuvoso), 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco ), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluyente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à 8 ) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; Lago [Lago Juparanã (LJP-01 - da Campanha 1 à 8), Lago do Limão 1 (LLM-01), Lago do Limão 2 (LLM-02 – a partir da Campanha 9), Lago Nova 1 (LNV-01), Lago Nova 2 (LNV-02 – a partir da Campanha 9), Lago Palmas 1 (LPA-01 – a partir da Campanha 3) e Lago Palmas 2 (LPA-02 – a partir da Campanha 9)]; Lagoa [Lagoa do Areal (LAL-01), Lagoa Areão (LAO-02 – da Campanha 1 à 3), Lagoa Monsarás 1 (LMN-01) e Lagoa Monsarás 2 (LMN-02 – a partir da Campanha 9)]; Reservatório [Reservatório Aimorés (UHE AIM – a partir da Campanha 9) e Reservatório Mascarenha (UHE MAS – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Regência (RDR – Campanhas 1 e 2), Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 – a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Linhares (RDO-15) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].

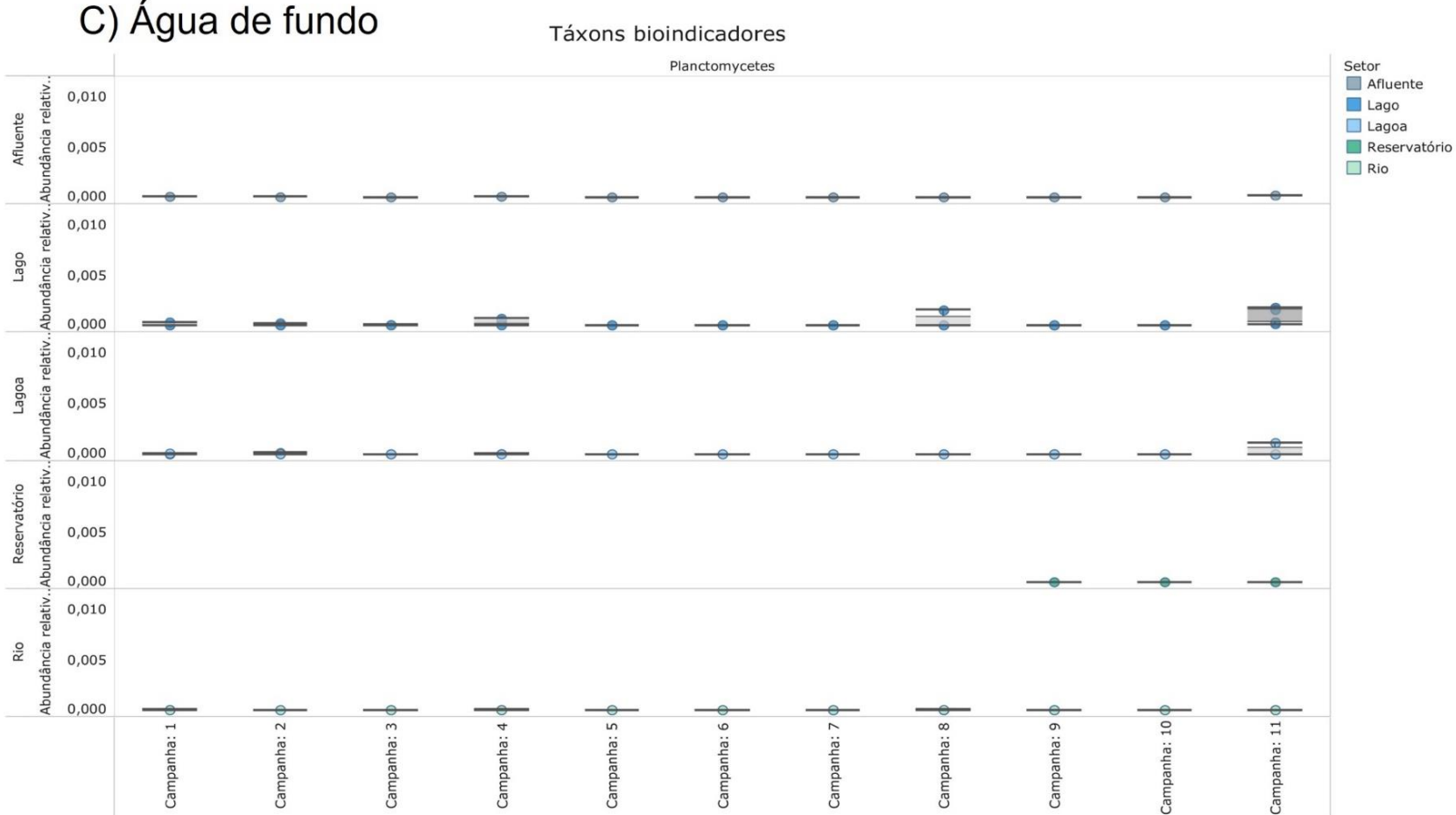
A) Sedimento



B) Água de superfície



C) Água de fundo



Os dados apresentados na Figura 16 mostram a abundância relativa do táxon Planctomycetes em diferentes matrizes ambientais. Este filo também está associado a resíduos de poluição por metais (Köhler et al., 2019). Na matriz sedimento, o filo Planctomycetes demonstrou uma alta abundância relativa no Setor Lagoa que, posteriormente, apresentou um declínio após a Campanha 4, registrando valores de abundância relativa inferiores a 0,0002%. Nos demais Setores avaliados, foi observada uma tendência geral de estabilidade da abundância relativa do táxon, com oscilações esporádicas em algumas Campanhas, como por exemplo na Campanha 8 no Setor Rio e na Campanha 4 no Setor Lago, e na Campanha 11 no Setor Reservatório. Neste contexto, vale ressaltar a estabilidade da abundância relativa de Planctomycetes no Setor Afluente, a qual se manteve entre 0,0001% e 0,0005%, com exceção das Campanhas 2 e 11.

Ao contrário de outros indicadores, o filo Planctomycetes possui abrangência taxonômica mais ampla, podendo apresentar variação menos pronunciada na sua abundância relativa. Isso é evidenciado pela menor variação observada na água de superfície no ambiente dulcícola, que apresentaram apenas algumas oscilações de abundância nos Setores Lago e Lagoa. No entanto, picos com valores elevados de abundância relativa deste filo podem indicar um ambiente significativamente impactado (Storesund & Øvreås, 2013). Além disso, na água de superfície, a tendência do filo Planctomycetes foi de se estabilizar, com oscilações eventuais na sua abundância relativa, possivelmente associadas a eventos sazonais como chuvas ou outros fenômenos ambientais.

A detecção de Planctomycetes na água de fundo também seguiu um padrão semelhante àquele observado na água de superfície, porém com mais pontos de alta abundância relativa. O primeiro ano de monitoramento apresentou abundâncias relativas elevadas deste grupo de microorganismos em todos os Setores avaliados. Na Campanha 3, houve uma redução na abundância relativa de Planctomycetes, seguida por um aumento desta na Campanha 4, também em todos os Setores avaliados. A menor variação em comparação com outros indicadores também é evidente, sendo que oscilações como aquela observada na Campanha 11, com um aumento simultâneo nos Setores Lago e Lagoa, indicam que eventos sazonais podem estar influenciando a abundância de Planctomycetes em ambos os Setores. Isso sugere a possibilidade de ocorrência de eventos de ressuspensão, com aporte de elementos metálicos na água, influenciando assim a abundância relativa deste táxon.



### 3.4 ÍNDICE DE TOXICIDADE

Figura 17: Classificação e valores da toxicidade das amostras de água e sedimento coletadas 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), Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), Campanha 10 (jun/jul 2023 - período seco) e Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso). As amostras foram classificadas de acordo com o índice de toxicidade, expresso numericamente, e seguindo um padrão de cores como: Verde - Não tóxico [NT ( $\leq 1$  ou Não Estimável (NE))]; Amarelo - Levemente tóxico [LT (2-25)]; Laranja - Moderadamente tóxico [MT (26-50)]; e Cinza – “NA” = sem dados devido a ausência de coleta. Classificação por Setores e por Estações de coleta: Afluente [Rio Guandu (RGU-01 - da Campanha 1 à Campanha 8) e Rio Manhuaçu (RMH-01 – a partir da Campanha 9)]; e Rio [Rio Doce em Resplendor (RDO-10 – a partir da Campanha 9), Rio Doce em Baixo Guandu (RDO-11 - a partir da Campanha 3), Rio Doce em Colatina (RDO-13 – a partir da Campanha 3) e Rio Doce no Estuário (RDO-16)].

Estações	Matriz	Campanha 1	Campanha 2	Campanha 3	Campanha 4	Campanha 5	Campanha 6	Campanha 7	Campanha 8	Campanha 9	Campanha 10	Campanha 11
RDO-11	Água	NA	NA	16	0	1	0	0	1	1	7	0
	Sedimento	NA	NA	0	0	32	3	0	1	9	17	17
RGU-01	Água	0	12	0	0	0	3	0	1	NA	NA	NA
	Sedimento	3	0	0	0	1	1	4	8	NA	NA	NA
RDO-13	Água	NA	NA	0	0	5	0	0	2	10	1	0
	Sedimento	NA	NA	4	3	36	1	1	1	1	14	19
RDO-16	Água	24	2	3	6	0	0	0	1	5	1	0
	Sedimento	46	46	35	24	0	4	1	8	25	2	19
RDO-10	Água	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	12	0
	Sedimento	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12	2	17
RMH-01	Água	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	14	4	0
	Sedimento	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	25	8	17

Classificação por matriz: ■ NT - Não tóxica ■ LT - Levemente tóxica ■ MT - Moderadamente tóxica ■ Sem dados

Os ensaios de toxicidade, sumarizados no Índice de Toxicidade apresentados na Figura 17, indicam oscilação na toxicidade das matrizes amostradas no Rio Doce (RDO-10, RDO-11, RDO-13 e RDO-16) ao longo de período de monitoramento. As matrizes do ponto mais próximo à foz (RDO16) mostraram-se mais tóxicas no início do monitoramento, com diminuição nas suas toxicidades a partir da Campanha 5. No último período monitorado (Campanhas 9, 10 e 11), as amostras de sedimento coletadas na calha do Rio Doce foram classificadas como levemente tóxicas em, pelo menos, uma das Campanhas. No mesmo período, as amostras do afluente avaliado (Rio Manhuaçu: RMH-01) também apresentaram a classificação levemente tóxica para ambas as matrizes investigadas. De maneira geral, os maiores valores de toxicidade e, portanto, as classificações ecotoxicológicas mais severas, estiveram associadas ao sedimento, possivelmente pelo maior conteúdo de matéria orgânica, um fator determinante na especiação de metais e As no ambiente aquático. Vale lembrar que os efeitos observados através dos testes de toxicidade estão relacionados com respostas como mortalidade, desenvolvimento e reprodução dos indivíduos testados. Portanto, efeitos ecotoxicológicos em outros níveis de organização biológica, como por exemplo os moleculares e bioquímicos, os quais foram avaliados através de biomarcadores específicos em organismos coletados em campo, merecem atenção, visto que são respostas biológicas mais sensíveis.

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

Os padrões de bioacumulação de metais e As nos diferentes grupos de organismos do ambiente dulcícola foram avaliados através do Índice de Bioacumulação (IBR Bioacumulação). Os resultados obtidos indicam, de maneira geral, maiores concentrações de metais e As na comunidade planctônica do Setor Rio, em quase todas as Campanhas monitoradas. Esses resultados refletem um incremento de metais e As na água e sedimento da calha principal do Rio Doce até o período chuvoso de 2022 (Campanha 7 – mar 2022). Os resultados também indicam que os níveis de metais associados aos rejeitos de minério de ferro aumentaram no plâncton dulcícola ao longo deste período do monitoramento. Na Campanha 8 (set/out 2022 – período seco) e na Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso) destacaram-se altos teores de Fe, Cd e Pb. Também é possível notar que o Setor Lagoa apresentou um pico de bioacumulação de metais e As durante a Campanha 7 (mar 2022 – período chuvoso), sugerindo um efeito sazonal, possivelmente relacionado com o maior aporte de água do Rio Doce para estes ambientes lacustres adjacentes e/ou maior remobilização dos sedimentos neste período, marcado por chuvas intensas na região monitorada. Cabe destacar que os teores elevados de Fe e outros metais, como Cd, Cr, Cu, Mn e Pb ainda foram encontrados em níveis elevados no zooplâncton coletado em todos os Setores do Ambiente Dulcícola até a Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), quando comparados com níveis de metais obtidos para amostras de zooplâncton coletadas em nov/2015, na região marinha mais próxima à foz do Rio Doce, antes da chegada da pluma de rejeitos (Bianchini, 2019). Na Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco), foi observada uma redução considerável nos níveis de bioacumulação de metais e As na comunidade plânctônica dulcícola de todos os Setores avaliados. Para o Setor Rio, foi observada uma tendência significativa de redução do valor do IBR Bioacumulação da Campanha 7 (março 2022 – período chuvoso) até a Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco), porém essa tendência foi interrompida com o discreto aumento dos valores do índice na Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso) nos três Setores avaliados.

Com relação aos camarões dulcícolas, os resultados do Índice de Bioacumulação (IBR Bioacumulação) apontaram para uma tendência de aumento temporal nos níveis de metais e As nos camarões coletados no Setor Lago até a última Campanha do período chuvoso (Campanha 9 – jan/fev 2023), seguida de uma redução significativa na Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco) e um novo e discreto aumento na Campanha 11 (jan 2024 – período chuvoso), como observado para o plâncton dulcícola. Além disso, assim como observado para a comunidade planctônica, os teores de Cd, Cr, Cu e Mn ainda são encontrados em níveis elevados no músculo de camarões coletados em todos os Setores do Ambiente Dulcícola quando comparados com níveis obtidos para amostras coletadas em nov/2015, na região marinha mais próxima à foz do Rio Doce, antes da chegada da pluma de rejeitos (Bianchini, 2019).

Para a comunidade de peixes, representada pelas guildas tróficas onívoros/herbívoros e carnívoros, os dados do IBR Bioacumulação apontaram para uma tendência de aumento temporal nos níveis de metais e As nos tecidos dos peixes coletados no Setor Lago até a Campanha 9 (jan/fev 2023 – período

chuvoso), assim como observado para os camarões. Para o Setor Rio, é importante destacar que o maior pico de bioacumulação de contaminantes foi observado na Campanha 1 (Campanha 1 – set/out 2018), apesar da grande variabilidade dos dados. Na Campanha 2, os níveis de metais e As nos tecidos dos peixes coletados no Setor Rio diminuíram significativamente. Apesar disso, os resultados obtidos nas Campanhas subsequentes apontaram para uma tendência geral de aumento temporal na bioacumulação destes contaminantes até a Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso). Os resultados obtidos no monitoramento ecotoxicológico, especialmente no período compreendido entre as Campanhas 7 e 9 e na Campanha 11, indicam que, de maneira geral, houve aumento temporal da contaminação por Fe nos peixes, corroborando assim os resultados encontrados por outros temas do PMBA/Fest e destacados no RSE 2023, que apontaram que não houve tendência de redução temporal da contaminação ambiental por contaminantes associados ao rejeito de minério de ferro. Além disso, em consonância com os resultados obtidos para os níveis tróficos inferiores (plâncton e camarões), os teores de Fe e outros elementos, como Cd, Cr, Cu, Mn e Pb, ainda se encontram em níveis elevados no músculo dos peixes coletados nos Setores do Ambiente Dulcícola, especialmente nos períodos chuvosos. Isto fica evidente quando os dados obtidos no monitoramento no âmbito do PMBA/Fest são comparados com dados pretéritos de concentrações de metais obtidos em amostras de músculo de peixes coletados em nov/2015, em diferentes pontos da calha do Rio Doce, antes da chegada da pluma de rejeitos (ACQUA, 2016).

De acordo com os achados do PMBA/Fest, altos percentuais do Índice de Não Conformidade (INC) foram detectados na água e sedimento da calha fluvial e sistemas lacustres, especialmente em relação às concentrações totais de Fe, Al e Cu. Os sistemas lacustres rasos (lagoas) apresentaram, em geral, maior INC relacionados às concentrações de Fe dissolvido e de Al total na água, podendo ser considerados como ambientes mais vulneráveis aos impactos da contaminação crônica. Neste contexto, os resultados de bioacumulação de metais nos níveis tróficos superiores (camarões e peixes) refletem esse padrão de contaminação, mostrando uma tendência de manutenção de níveis elevados de metais e As nos ambientes lacustres até o período chuvoso de 2023 (Campanha 9, jan/fev 2023). Na Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco), foi observada uma redução nos valores do IBR Bioacumulação em todos os Setores avaliados no Ambiente Dulcícola, e para todos os grupos de organismos avaliados (plâncton, camarões e peixes), refletindo assim uma redução na biodisponibilidade de metais e As neste ambiente, possivelmente devido à menor pluviosidade na Bacia do Rio Doce durante o período seco. Corroborando a isso, observa-se o aumento no IBR Bioacumulação na Campanha 11, realizada no período chuvoso (jan 2024). Cabe destacar que, aumentos ou reduções dos níveis de bioacumulação de metais e As, concomitantemente nos diferentes níveis tróficos (plâncton, camarões e peixes), como observado durante o período de monitoramento realizado no Ambiente Dulcícola no âmbito do PMBA/Fest, indicam claramente a resposta do ambiente como um todo ao aporte ou ressuspensão destes contaminantes na bacia hidrográfica, possivelmente relacionados ao regime de pluviosidade.

Os padrões de resposta biológica dos organismos de diferentes níveis da cadeia trófica, expressos como biomarcadores, foram apresentados e analisados através do Índice de Resposta Biológica (IBR

Biomarcador). Os valores deste índice mostraram um nível elevado de resposta biológica dos organismos planctônicos coletados nos Setores Afluente e Rio, nas últimas Campanhas realizadas: Campanha 6 (jul/ago 2021 – período seco), Campanha 7 (março 2022 – período chuvoso), Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso) e Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco). Apesar disto, na última Campanha realizada (Campanha 11 jan 2024 – período chuvoso), foi observada uma diminuição do índice em todos os Setores avaliados, o que pode sugerir uma diminuição pontual dos impactos previamente identificados. No Setor Afluente, os maiores valores de IBR Bioamarcador foram observados nas Campanhas realizadas no período seco (Campanhas 6, 8 e 10). Por sua vez, no Setor Rio, os maiores valores do índice também foram observados nas duas últimas Campanhas realizadas no período seco (Campanhas 8 e 10), bem como na Campanha 7, realizada no período chuvoso de 2022. Com relação aos dados da Campanha 7 (março 2022 – período chuvoso) e Campanha 8 (set/out 2022 – período seco) no Setor Rio, onde foram observados os maiores valores do IBR Biomarcador, cabe destacar que o conteúdo de metalotioneínas (MT - proteínas relacionadas com a detoxificação de metais) no zooplâncton e no fitoplâncton, bem como os níveis de lipoperoxidação (LPO) no fitoplâncton (biomarcador de dano oxidativo), foram as análises que mais contribuíram para o valor do IBR Biomarcador. Por sua vez, no Setor Afluente, os biomarcadores que mais contribuíram para a composição do índice foram a MT no fitoplâncton, a LPO no fitoplâncton e a LPO no zooplâncton. O Setor Lago apresentou o estresse fisiológico concentrado no fitoplâncton, demonstrando os maiores resultados nos biomarcadores LPO e MT. O biomarcador MT é aquele que se destaca como mais relevante na Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), tanto no fitoplâncton quanto no zooplâncton, sendo o parâmetro mais relevante para a composição do índice nos Setores Afluente e Rio. Este biomarcador indica uma resposta celular de proteção frente ao aumento na acumulação de metais e metalóides que pode estar relacionado ao aumento observado na carga de Fe, Cd e Pb nestes organismos durante a Campanha 9. Na Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco), os biomarcadores que compuseram o IBR Biomarcador no Setor Afluente foram a LPO no fitoplâncton, MT no fitoplâncton e MT no zooplâncton. Já no Setor Rio, o índice foi composto por todos os biomarcadores analisados. Por sua vez, a LPO no fitoplâncton foi o principal biomarcador que compôs o valor do índice na Campanha 11, para os três Setores avaliados. Portanto, de uma maneira geral, foi observado que, em todas as Campanhas realizadas, à exceção da Campanha 2, uma diversidade de biomarcadores contribuiu para a composição do IBR Biomarcador, sendo que todos os biomarcadores ocorreram com certa frequência na formação dos valores deste índice, ao longo de todo o monitoramento realizado. Este fato evidencia os impactos bioquímicos crônicos associados à acumulação de contaminantes (metais e As), com consequentes danos oxidativos (lipoperoxidação) aos organismos da comunidade planctônica dulcícola. Neste contexto, cabe ressaltar que a LPO, tanto no fitoplâncton como no zooplâncton, contribuíram sempre na composição do IBR Biomarcador, em todas as Campanhas realizadas.

Nos camarões dulcícolas, a comparação temporal dos valores do IBR Biomarcador mostrou que os valores deste índice tenderam a aumentar a partir da Campanha 3 (set/out 2019 – período seco), em todos os Setores avaliados, e a se manterem elevados até as últimas Campanhas analisadas, principalmente na Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco). Todavia, os aumentos mais expressivos

foram observados nos camarões coletados no Setor Lagos, corroborando assim os resultados do IBR Bioacumulação obtido para estes organismos. Além disso, cabe destacar que a Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco) apresentou os maiores valores do IBR Biomarcador para todos os Setores avaliados, quando comparados àqueles observados nas Campanhas realizadas anteriormente. Quanto à relevância de contribuição dos biomarcadores para a composição do IBR Biomarcador, observou-se que na Campanha 7 (março 2022 – período chuvoso), em todos os Setores avaliados, com exceção do Setor Afluente, todos os biomarcadores analisados contribuíram expressivamente para a composição do valor do índice. Na Campanha 8 (set/out 2022 – período seco), foi observado que os biomarcadores que apresentaram relevância na formação do IBR Biomarcador foram os mesmos em todos os Setores avaliados, sendo eles a MT no hepatopâncreas, LPO no hepatopâncreas e LPO nas brânquias. Vale lembrar que estes biomarcadores estão associados à exposição e aos efeitos de metais e As, respectivamente. Além disso, cabe destacar que estes biomarcadores também foram relevantes na composição do IBR Biomarcador para os organismos planctônicos. Da mesma forma, na Campanha 9 (jan/fev 2023 – período chuvoso), os biomarcadores mais importantes para a composição do IBR Biomarcador, em todos os Setores, foram a MT, sítios AP (danos ao DNA), LPO nas brânquias e LPO no hepatopâncreas. Na Campanha 10 (jun/jul 2023 – período seco), onde foram observados os maiores valores do IBR Biomarcador, bem como na Campanha 11 (jan 2023 – período chuvoso) os biomarcadores sítios AP, LPO nas brânquias, LPO no hepatopâncreas e MT foram aqueles que mais contribuíram para a composição do valor do índice, em todos os Setores avaliados. Já a PCO durante a Campanha 10 esteve presente apenas na composição do valor do índice no Setor Rio. Estes resultados indicam que, de maneira geral, todos os biomarcadores analisados foram relevantes para evidenciar os impactos biológicos causados pela exposição dos camarões aos contaminantes (metais e As) presentes no Ambiente Dulcícola.

No que se refere à análise da evolução temporal do IBR Biomarcador para os peixes dulcícolas, observou-se que os valores deste índice estão, de um modo geral, elevados em todos os Setores avaliados e em todas as Campanhas realizadas no Ambiente Dulcícola, com uma discreta tendência de redução na última Campanha realizada (Campanha 11, jan 2023 – período chuvoso). No que se refere à contribuição dos biomarcadores analisados para a composição do IBR Biomarcador, foi observado que, em todas as Campanhas realizadas, os valores deste índice foram compostos a partir da contribuição de grande parte dos biomarcadores analisados nos peixes dulcícolas, com destaque para o IL nas brânquias, IL no fígado, LDH nas brânquias, LDH no fígado e MT. Portanto, os resultados aqui relatados constituem evidência clara de que os peixes dulcícolas estão sendo cronicamente impactados pela contaminação do Ambiente Dulcícola por metais e o As.

Com relação a comunidade microbiana nas matrizes sedimento, água superficial e água de fundo do Ambiente Dulcícola, os resultados revelam a persistência de grupos bacterianos anteriormente registrados, estreitamente correlacionados com a presença de metais, bem como, de resíduos provenientes do rompimento da barragem de Fundão. O gênero *Acinetobacter* mantém-se notoriamente proeminente, sendo um bioindicador adequado para analisar a contaminação da água por metais. A predominância deste grupo bacteriano desperta interesse devido à sua uniformidade



tanto em amostras da água de superfície quanto em amostras da água de fundo. O gênero *Acinetobacter* é singular, devido às suas propriedades metabólicas associadas a ambientes extremos, além de já terem sido vinculadas à presença de metais e, inclusive, ao rompimento da barragem do Fundão (Almeida et al., 2023; Guo et al., 2022; Irawati et al., 2017; Méndez et al., 2017; Reis et al., 2020). Cepas do gênero *Acinetobacter* exibem arranjos genéticos que conferem uma considerável resistência a metais pesados, como Cu, Zn, Co, Cd, Cr e As (Petrová et al., 2023).

Análises da comunidade microbiana nos sedimentos do Ambiente Dulcícola revelaram repetidas vezes alta similaridade com as amostras de água. Grupos bacterianos de maior abundância estiveram presentes em ambas as matrizes, apesar das marcantes disparidades físico-químicas e ecossistêmicas. Estes resultados sugerem forte homogeneidade entre as amostras, sendo um possível indicativo de ressuspensão do sedimento do Rio Doce, proporcionando transferência de partículas e consequente migração de comunidades bacterianas associadas. ASVs (Amplicon Sequence Variant) da família Anaerolineaceae, bactéria proposta como indicadora da presença de rejeitos da barragem de Fundão, também foi observada no ambiente dulcícola, principalmente em amostras de sedimento e mais concentradas nos Setores Lago e Lagoa. Este grupo microbiano exibe uma estreita associação com o core microbiano encontrado em sedimentos com resíduos de mineração (Almeida et al., 2023; Chung et al., 2019). Gao et al. (2019) observaram a ocorrência de alguns grupos bacterianos em ambientes contaminados por rejeitos de mineração, juntamente com a sua co-ocorrência com o gênero *Acinetobacter*. Ademais, o grupo Pirellulaceae, um potencial bioindicador da presença de resíduos da barragem de Fundão, demonstrou uma abundância constante na região mais próxima à foz Rio Doce, localidade que registrou os piores índices de avaliação ecotoxicológica em várias Campanhas. Estes resultados sugerem que o grupo Pirellulaceae pode ser considerado como um indicador dos parâmetros de qualidade ecológica na região. Adicionalmente, a presença do filo Planctomycetes na água do fundo de todas os Setores avaliados evidenciou um comportamento paralelo ao observado na água de superfície. Em todos os Setores avaliados, foram observadas elevadas abundâncias relativas no primeiro ano de monitoramento, em comparação com os períodos subsequentes. Entretanto, da Campanha 3 em diante, foi observada uma redução nesta abundância relativa, seguida por um aumento em todos os Setores durante as Campanhas 4 e 11. Padrões de oscilação constante do filo Planctomycetes foram registrados em todos os Setores avaliados. Esses padrões sugerem a possibilidade de eventos de ressuspensão de elementos como os metais, exercendo influência sobre a abundância relativa deste táxon. Cabe destacar que este filo também está associado a resíduos de poluição por metais pesados, assim como a bactérias extremófilas que habitam esses ambientes (Köhler et al., 2019).

Os ensaios de toxicidade, cujos resultados estão resumidos no Índice de Toxicidade, indicaram oscilação da toxicidade das matrizes água e sedimento ao longo de período de monitoramento. As matrizes coletadas no ponto mais próximo à foz do Rio Doce (RDO16), mostraram-se mais tóxicas no início do monitoramento, com redução nas suas toxicidades a partir da Campanha 5. No último período monitorado (Campanhas 9, 10 e 11) as amostras de sedimento coletadas na calha do Rio Doce foram classificadas como levemente tóxicas em, pelo menos, uma das Campanhas realizadas. De maneira

geral, os maiores valores de toxicidade e, portanto, as classificações ecotoxicológicas mais severas, estiveram associadas ao sedimento, possivelmente pelo maior conteúdo de matéria orgânica, importante fator associado à partição e especiação de metais e As. Vale lembrar que os efeitos medidos através dos testes de toxicidade estão relacionados com respostas como mortalidade, desenvolvimento e reprodução dos indivíduos testados. Portanto, efeitos ecotoxicológicos observados em outros níveis de organização biológica, como por exemplo os moleculares e bioquímicos, que foram avaliados através de biomarcadores específicos em organismos coletados em campo, merecem atenção especial, visto que são respostas biológicas mais sensíveis do que aquelas medidas nos testes de toxicidade.

Ao serem analisados de forma conjunta e complementar, os efeitos ecotoxicológicos observados nos testes de toxicidade, os níveis observados de bioacumulação de contaminantes e as respostas dos biomarcadores avaliados nos organismos coletados na malha amostral do Ambiente Dulcícola evidenciam a contaminação dos organismos deste ambiente por metais e As, bem como identificam os impactos decorrentes desta contaminação em diferentes níveis de organização biológica. Neste contexto, cabe salientar que a contaminação por metais e As é bastante preocupante, já que estes são elementos não biodegradáveis e persistentes no ambiente. Estas características fazem com que estes contaminantes aquáticos entrem e façam parte da composição dos organismos de diferentes níveis da cadeia trófica, através dos processos de bioacumulação e biomagnificação (Pereira et al., 2023). Cabe ressaltar que a bioacumulação de As e metais nos organismos analisados foi evidente nos diversos Setores avaliados e nas diferentes Campanhas realizadas no Ambiente Dulcícola, ao longo da execução do PMBA/Fest. Por fim, é importante ressaltar que as consequências dos impactos observados podem causar alterações na estrutura das comunidades e populações aquáticas, alterações na dinâmica e funcionalidade do ecossistema, redução da biodiversidade (Tovar-Sánchez et al., 2018), perda de serviços ecossistêmicos e afetar, direta ou indiretamente, a saúde humana.

## **5 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS**

Todos os itens previstos foram cumpridos para o Tema.

## 6 REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12648. (2011). *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – método de ensaio com algas (Chlorophyceae)*. Associação Brasileira de Normas Técnicas.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12713. (2016). *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – método de ensaio com Daphnia spp. (Crustacea, Cladocera)*. Associação Brasileira de Normas Técnicas.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 13373:2016. (2017). *Ecotoxicologia aquática—Toxicidade crônica—Método de ensaio com Ceriodaphnia spp (Crustacea, Cladocera)*. Associação Brasileira de Normas Técnicas.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15088. (2016). *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – método de ensaio com peixes (Cyprinidae)*. Associação Brasileira de Normas Técnicas.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15469. (2021). *Ecotoxicologia—Coleta, preservação e preparo de amostras*. Associação Brasileira de Normas Técnicas.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15470. (2013). *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda e crônica – método de ensaio com Hyalella spp (Amphipoda) em sedimentos*. Associação Brasileira de Normas Técnicas.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15499. (2016). *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração – método de ensaio com peixes*. Associação Brasileira de Normas Técnicas.

ACQUA (2016). Avaliação de elementos químicos em peixes na área de influência do acidente com o rompimento da barragem de rejeitos de Fundão, Mariana, MG. Trecho do Rio Doce. ACQUA Consultoria e Recuperação de Ambientes Aquáticos Ltda. Belo Horizonte – MG.

Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. Em *Methods in Enzymology* (p. 121–126). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)

Almeida, P. I. N. de, Jesus, H. E. de, Pereira, P. H. F., Vieira, C. E. D., Bianchini, A., Martins, C. D. M. G., & Santos, H. F. dos. (2023). The microbial profile of rivers and lagoons three years after the impact

of the world's largest mining disaster (Fundão dam, Brazil). *Environmental Research*, 216. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114710>

Alvim, M. C. C., & Peret, A. C. (2004). Food resources sustaining the fish fauna in a section of the upper São Francisco River in Três Marias, MG, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 64, 195–202. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842004000200003>

Beliaeff B., & Burgeot, T. (2002). Integrated biomarker response: A useful tool for ecological risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(6), 1316– 1322. <https://doi.org/10.1002/etc.5620210629>

Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., & Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1), 25–34. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1999.00134.x>

Bianchini, A. (2019). Monitoramento dos efeitos ecotoxicológicos da pluma de sedimentos oriunda da foz do Rio Doce sobre o ambiente marinho. Relatório Técnico-Científico - FURG/ICMBio, Rio Grande, RS.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Bulich, A. A. (1982). A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. *Process Biochemistry*, 17(2), 45–47.

Cedergreen, N. (2014). Quantifying synergy: A systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. *PLOS ONE*, 9(5), e96580. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096580>

Chen, Y., Jiang, Y., Huang, H., Mou, L., Ru, J., Zhao, J., & Xiao, S. (2018). Long-term and high-concentration heavy-metal contamination strongly influences the microbiome and functional genes in Yellow River sediments. *Science of The Total Environment*, 637–638, 1400–1412. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.109>

Childress, J. J., & Somero, G. N. (1979). Depth-related enzymic activities in muscle, brain and heart of deep-living pelagic marine teleosts. *Marine Biology*, 52(3), 273–283. <https://doi.org/10.1007/BF00398141>

Chung, A. P., Coimbra, C., Farias, P., Francisco, R., Branco, R., Simão, F. V., Gomes, E., Pereira, A., Vila, M. C., Fiúza, A., Mortensen, M. S., Sørensen, S. J., & Morais, P. V. (2019). Tailings microbial community profile and prediction of its functionality in basins of tungsten mine. *Scientific Reports*, 9(1), 19596. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55706-6>

Devin, S., Burgeot, T., Giambérini, L., Minguez, L., & Pain-Devin, S. (2014). The integrated biomarker response revisited: Optimization to avoid misuse. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(4), 2448–2454. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2169-9>

Ezemonye, L. I., Adebayo, P. O., Enuneku, A. A., Tongo, I., & Ogbomida, E. (2019). Potential health risk consequences of heavy metal concentrations in surface water, shrimp (*Macrobrachium macrobrachion*) and fish (*Brycinus longipinnis*) from Benin River, Nigeria. *Toxicology Reports*, 6, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.11.010>

Fatima, S., Muzammal, M., Rehman, A., Rustam, S. A., Shehzadi, Z., Mehmood, A., & Waqar, M. (2020). Water pollution of heavy metals and its effects on fishes. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 8(3), 06–14.

FEST, Fundação Espírito-santense de Tecnologia. Relatório Semestral de Evolução do PMBA/Fest – RT-44, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática. 79 pag. 2023.

Frías-Espéricueta, M. G., Bautista-Covarrubias, J. C., Osuna-Martínez, C. C., Delgado-Alvarez, C., Bojórquez, C., Aguilar-Juárez, M., Roos-Muñoz, S., Osuna-López, I., & Páez-Osuna, F. (2022). Metals and oxidative stress in aquatic decapod crustaceans: A review with special reference to shrimp and crabs. *Aquatic Toxicology*, 242, 106024. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106024>

Gao, P., Sun, X., Xiao, E., Xu, Z., Li, B., & Sun, W. (2019). Characterization of iron-metabolizing communities in soils contaminated by acid mine drainage from an abandoned coal mine in Southwest China. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(10), 9585–9598. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04336-6>

Garai, P., Banerjee, P., Mondal, P., Ch, N., & Saha, R. (2021). Effect of heavy metals on fishes: toxicity and bioaccumulation. *Journal of Clinical Toxicology*, 1–10. <https://doi.org/10.35248/2161-0495.21.s18.001>

Guo, K., Cheng, C., Chen, L., Xie, J., Li, S., He, S., & Xiao, F. (2022). Application of Deinococcus radiodurans in the treatment of environmental pollution by heavy metals and radionuclides. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 331(2), 655–664. <https://doi.org/10.1007/s10967-021-08141-9>

Hussain, M. B., Laabir, M., & Daly Yahia, M. N. (2020). A novel index based on planktonic copepod reproductive traits as a tool for marine ecotoxicology studies. *Science of The Total Environment*, 727, 138621. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138621>

Irawati, W., Parhusip, A. J. N., Sopiah, N., & Tnunay, J. A. (2017). The role of heavy metals-resistant bacteria *Acinetobacter* sp. in copper phytoremediation using *Eichhornia crasippes* [(Mart.) Solms]. *KnE Life Sciences*, 3(5), 208. <https://doi.org/10.18502/kl.v3i5.995>

Ju, Y.-R., Lo, W.-T., Chen, C.-F., Chen, C.-W., Huang, Z.-L., & Dong, C.-D. (2019). Effect of metals on zooplankton abundance and distribution in the coast of southwestern Taiwan. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(33), 33722–33731. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2169-x>

Köhler, J. M., Kalensee, F., Cao, J., & Günther, P. M. (2019). Hadesarchaea and other extremophile bacteria from ancient mining areas of the East Harz region (Germany) suggest an ecological long-term memory of soil. *SN Applied Sciences*, 1(8), 839. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0874-9>

Lage, O. M., Calisto, R., Vitorino, I., & Øvreås, L. (2022). Pirellulaceae. In S. N. Dedysh (Ed.), *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (pp. 1–7). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00402>

Lokeshappa, B., Shivpuri, K., Tripathi, V., & Dikshit, A. K. (2012). assessment of toxic metals in agricultural produce. *Food and Public Health*, 2(1), 24–29.

MacFarlane, G. R., Schreider, M., & McLennan, B. (2006). Biomarkers of heavy metal contamination in the red fingered marsh crab, *Parasesarma erythodactyla*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51(4), 584–593. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-5067-4>

Marklund, S., & Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3), 469–474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>

Méndez, V., Fuentes, S., Morgante, V., Hernández, M., González, M., Moore, E., & Seeger, M. (2017). Novel hydrocarbonoclastic metal-tolerant *Acinetobacter* and *Pseudomonas* strains from Aconcagua river oil-polluted soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4), 1074–1087. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017000400017>

Noman, M. A., Feng, W., Zhu, G., Hossain, M. B., Chen, Y., Zhang, H., & Sun, J. (2022). Bioaccumulation and potential human health risks of metals in commercially important fishes and shellfishes from Hangzhou Bay, China. *Scientific Reports*, 12(1), Artigo 1.



OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development. (2012). *Test No. 211: Daphnia magna Reproduction Test*. Organisation for Economic Co-operation and Development. [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-211-daphnia-magna-reproduction-test\\_9789264185203-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-211-daphnia-magna-reproduction-test_9789264185203-en)

OECD- Organisation for Economic Co-operation and Development. (2013). *Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test*. Organisation for Economic Co-operation and Development. <https://doi.org/10.1787/9789264203709-en>

Pereira, J. G., Raikar, S. S., Bhatti, A. G., Fatarpekar, P. G., & Nasnodkar, M. R. (2023). Metal bioavailability, bioaccumulation, and toxicity assessment through sediment and edible biota from intertidal regions of the Aghanashini Estuary, India. *Marine Environmental Research*, 191, 106172.

Petrová, N., Kisková, J., Kolesárová, M., & Pristaš, P. (2023). Genetic basis of *Acinetobacter* sp. K1 adaptation mechanisms to extreme *Environmental Conditions*. *Life*, 13(8), 1728. <https://doi.org/10.3390/life13081728>

RRDM, Rede Rio Doce Mar (2022). Relatório Anual do PMBA/Fest-RRDM 2022 - Síntese integrativa entre ambientes. RT-39E, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito santense de Tecnologia. 150 pag

Reis, M. P., Suhadolnik, M. L. S., Dias, M. F., Ávila, M. P., Motta, A. M., Barbosa, F. A. R., & Nascimento, A. M. A. (2020). Characterizing a riverine microbiome impacted by extreme disturbance caused by a mining sludge tsunami. *Chemosphere*, 253, 126584. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126584>

Ribeiro, A. C., Batista, M. T. O., Rodrigues Junior, E., Oliveira, M. F. de, Vani, G. S., Rodrigues, E., & Suda, C. N. K. (2015). Atividades de lactato desidrogenase e malato desidrogenase de *Astyanax bimaculatus* (lambari) da bacia hidrográfica do rio Una como biomarcadoras de impacto ambiental. *Revista Ambiente & Água*, 10, 793–803. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1615>

Rocha, G. S., de Palma Lopes, L. F., de Medeiros, J. F., Montagner, C. C., & Gaeta Espíndola, E. L. (2023). Environmental concentrations of cadmium and fipronil, isolated and combined, impair the survival and reproduction of a Neotropical freshwater copepod. *Environmental Pollution*, 336, 122415. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122415>

Silva, Z., Nascimento, P. E. C. do, Vitule, J. R. S., Frehse, F. de A., Ferraz, M. S. O., & Mourgués-Schurter, L. R. (2019). Diet and resource sharing by two Pimelodidae species in a Southeastern Brazilian reservoir. *Biota Neotropica*, 19, e20180675. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2018-0675>

Sjöberg, S., Stairs, C. W., Allard, B., Homa, F., Martin, T., Sjöberg, V., Ettema, T. J. G., & Dupraz, C. (2020). Microbiomes in a manganese oxide producing ecosystem in the Ytterby mine, Sweden: impact on metal mobility. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(11). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa169>

Storesund, J. E., & Øvreås, L. (2013). Diversity of Planctomycetes in iron-hydroxide deposits from the Arctic Mid Ocean Ridge (AMOR) and description of *Bythopirellula goksoyri* gen. nov., sp. nov., a novel Planctomycete from deep sea iron-hydroxide deposits. *Antonie van Leeuwenhoek*, 104(4), 569–584. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-0019-x>

Taslima, K., Al-Emran, M., Rahman, M. S., Hasan, J., Ferdous, Z., Rohani, M. F., & Shahjahan, M. (2022). Impacts of heavy metals on early development, growth and reproduction of fish – A review. *Toxicology Reports*, 9, 858–868. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.04.013>

Tovar-Sánchez, E., Hernández-Plata, I., SantoyoMartínez, M., Valencia-Cuevas, L., & Galante, P. M. (2018). Heavy Metal Pollution as a Biodiversity Threat. Em Heavy Metals. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74052>

U.S. EPA. (2007). *Method 3015A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Aqueous Samples and Extracts*. Revision 1. Washington, DC.

U.S. EPA. (2007). *Method 3051A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Oils*, Revision 1. Washington, DC.

U.S. EPA. (1998). *Method 6020A (SW-846): Inductively Coupled Plasma—Mass Spectrometry*. [https://19january2017snapshot.epa.gov/homeland-security-research/epa-method-6020a-sw-846-inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry\\_.html](https://19january2017snapshot.epa.gov/homeland-security-research/epa-method-6020a-sw-846-inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry_.html)

Walker, C. H., Hopkin, S. P., Sibly, R. M., & Peakall, D. B. (1996). *Principles of Ecotoxicology*. Taylor & Francis.

Yan, C., Wang, F., Liu, H., Liu, H., Pu, S., Lin, F., Geng, H., Ma, S., Zhang, Y., Tian, Z., Chen, H., Zhou, B., & Yuan, R. (2020). Deciphering the toxic effects of metals in gold mining area: Microbial community tolerance mechanism and change of antibiotic resistance genes. *Environmental Research*, 189, 109869. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109869>

Zaynab, M., Al-Yahyai, R., Ameen, A., Sharif, Y., Ali, L., Fatima, M., Khan, K. A., & Li, S. (2022). Health and environmental effects of heavy metals. *Journal of King Saud University - Science*, 34(1), 101653. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101653>

Zeng, T., Wang, L., Zhang, X., Song, X., Li, J., Yang, J., Chen, S., & Zhang, J. (2022). Characterization of microbial communities in wastewater treatment plants containing heavy metals located in chemical industrial zones. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(11), 6529. <https://doi.org/10.3390/ijerph19116529>