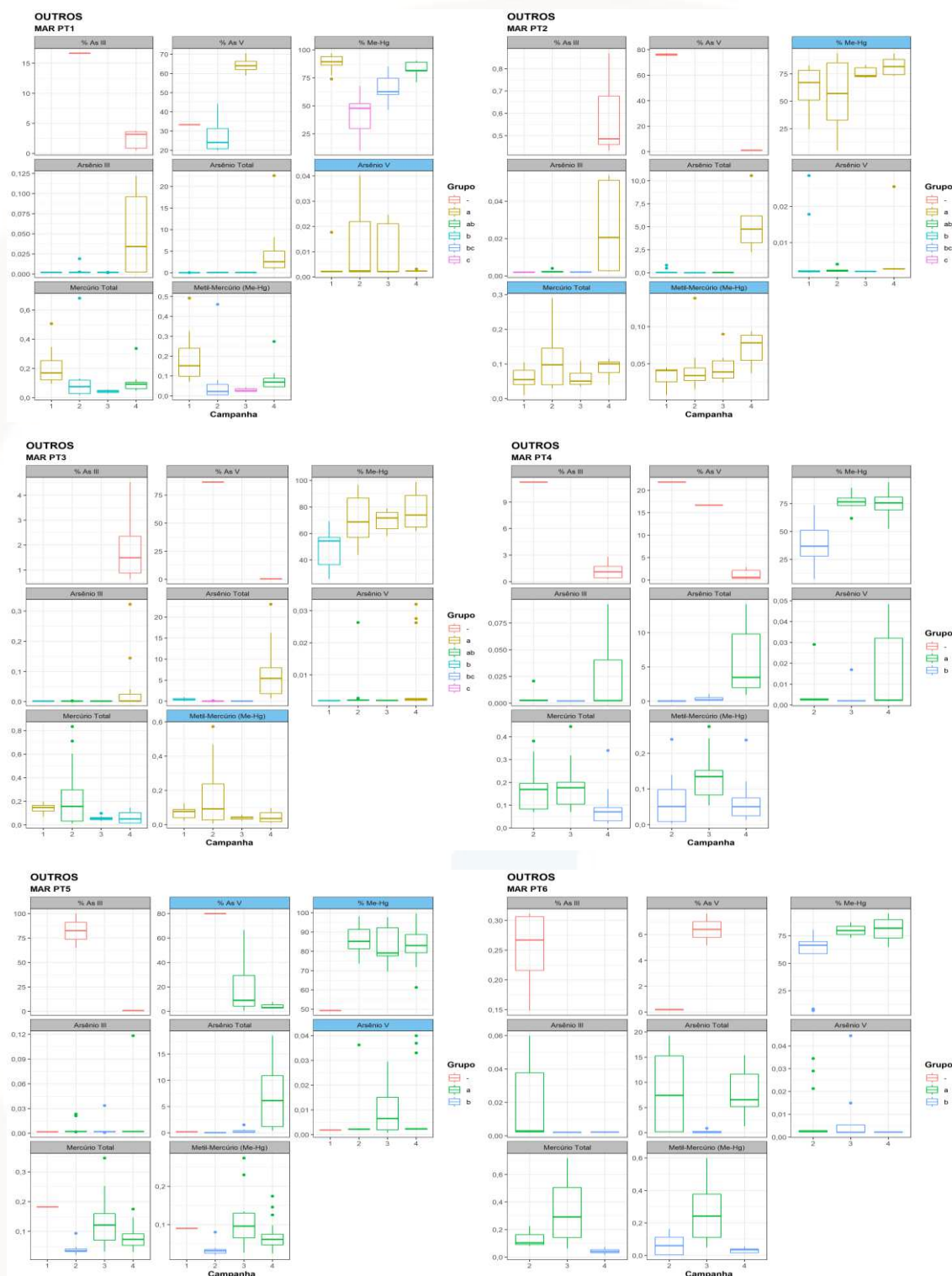


Figura 188. Comparação das concentrações das espécies inorgânicas de As (As^{3+} e As^{5+}) e orgânica de Hg (MeHg) nos peixes capturados em cada um dos pontos ao longo das campanhas amostrais (comparação temporal)

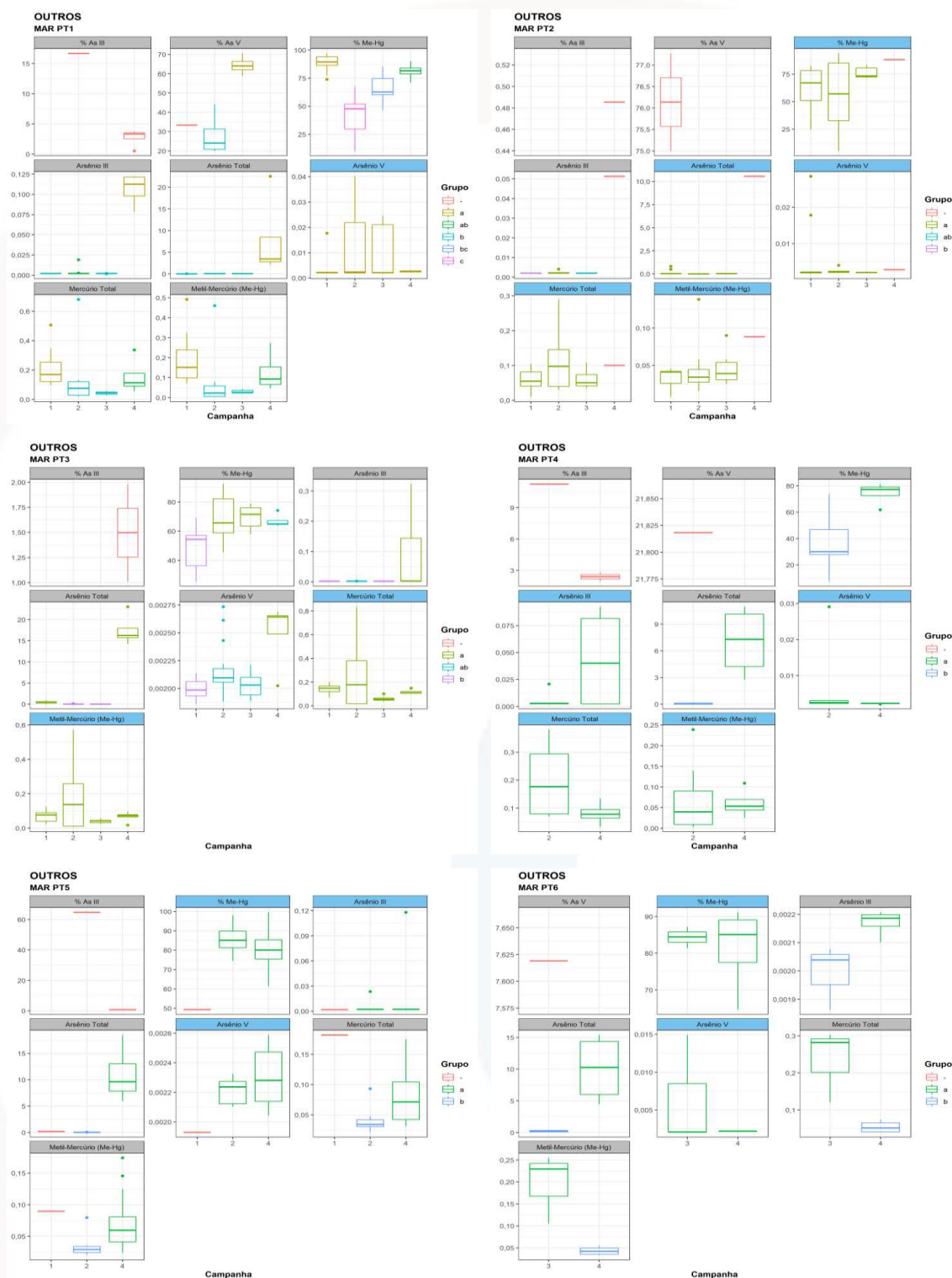


Letras e cores diferentes apresentadas na legenda de cada painel de gráficos representam diferença estatística (teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn; $p < 0,05$). Traço (-) indica grupo não avaliado estatisticamente. % As III (As^{3+}): porcentagem de arsênio (III); % As V (As^{5+}): porcentagem de arsênio (V); % Me-Hg: porcentagem de metilmercúrio; Arsênio III, Arsênio V, Arsênio Total, Mercúrio Total e Metil-Mercúrio = mg.kg^{-1} .

Siluriformes

Os peixes pertencentes a ordem Siluriformes e capturados no ponto 1 apresentaram maior concentração de As^{3+} na 4ª campanha em relação às concentrações determinadas nos peixes capturados nas 1ª e 3ª campanhas, enquanto que a concentração de MeHg foi maior nos peixes capturados na 1ª campanha em relação aos capturados nas 2ª e 3ª campanhas. Para os peixes capturados no ponto 2, no qual os Siluriformes foram avaliados apenas nas campanhas 1, 2 e 3, apenas a concentração de As^{3+} apresentou diferença, sendo maior na 2ª campanha em relação aos peixes capturados na 1ª campanha. Para os peixes capturados no ponto 3, também, apenas a concentração de As^{3+} apresentou diferenças entre as campanhas, sendo maior nos peixes capturados na 4ª campanha que nos capturados nas 1ª e 3ª campanhas. Os peixes capturados no ponto 4, que foram avaliados apenas nas 2ª e 4ª campanhas, não apresentaram diferenças nas concentrações dos três contaminantes. Os peixes capturados no ponto 5 e, também avaliados apenas nas 2ª e 4ª campanhas, apresentaram, apenas o MeHg em elevadas concentrações na 4ª campanha. No ponto 6, onde os Siluriformes foram capturados apenas nas 3ª e 4ª campanhas, os peixes apresentaram as maiores concentrações de As^{3+} e As^{5+} na 4ª campanha e, de MeHg na 3ª campanha (Figura 189).

Figura 189. Comparação das concentrações das espécies inorgânicas de As (As^{3+} e As^{5+}) e orgânica de Hg (MeHg) nos peixes, da ordem Siluriformes, capturados em cada um dos pontos ao longo das campanhas amostrais (comparação temporal)



Letras e cores diferentes apresentadas na legenda de cada painel de gráficos representam diferença estatística (teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn; $p < 0,05$). Traço (-) indica grupo não avaliado estatisticamente. % As III (As^{3+}): porcentagem de arsênio (III); % As V (As^{5+}): porcentagem de arsênio (V); % Me-Hg: porcentagem de metilmercúrio; Arsênio III, Arsênio V, Arsênio Total, Mercúrio Total e Metil-Mercúrio = mg.kg^{-1} .

Discussão

Após 17 dias do rompimento da barragem de Fundão o rejeito atingiu a foz do rio Doce no oceano Atlântico, na localidade de Regência, município de Linhares, estado do Espírito Santo e, em poucas horas a pluma de rejeito foi amplamente distribuída pela região estuarino-marinha (IBAMA, 2015; ICMBio, 2015; POEMAS, 2015; DEAMB/SEMAD/SISEMA, 2016; FELIPPE et al., 2016; FERNANDES et al., 2016; GOLDBERG ASSOCIATES, 2016a; SEDRU, 2016; SEGURA et al., 2016; SILVA et al., 2016; UFES, 2016a; VARGAS et al., 2016; CARMO et al., 2017; GUERRA et al., 2017; HATJE et al., 2017; LEONARDO et al., 2017; MAIA, 2017; SARTORI et al., 2017; UFES, 2017; UFVJM, 2017; AGUIAR et al., 2020). Na região costeira, mesmo após mais de 5 anos da ocorrência do desastre, ainda não existe um consenso da extensão acometida pela pluma de sedimentos, uma vez que ainda existe uma grande quantidade de rejeito ao longo da calha do rio Doce o qual, por muito tempo, será remobilizado e disponibilizado para o ambiente por influência da sazonalidade, em especial do regime de chuvas na região (IBAMA, 2015; FERNANDES et al., 2016; UERJ, 2016; HATJE et al., 2017; UFES, 2017; AGUIAR et al., 2020). Além disso, uma vez no ambiente marinho, a pluma de rejeitos sofrerá a influência de vários fatores sobre sua dispersão como, por exemplo, ventos superficiais, correntes, ondas e vazão (IBAMA, 2016; UERJ, 2016; ICMBio, 2017; UFES, 2017; AGUIAR et al., 2020) e, por apresentar características particulares quanto a granulometria (muito fina) este material ainda poderá ser transportado a longas distâncias (UFES, 2017; AGUIAR et al., 2020).

Resíduos de mineração constituem ameaça grave para a qualidade da água e dos sedimentos e para a vida de organismos aquáticos, bem como de pessoas que venham a ter contato com esse material ou que utilizem organismos contaminados pelo mesmo para alimentação, devido a presença de elementos potencialmente tóxicos em sua composição (HORA et al., 2012; POEMAS, 2015; FERNANDES et al., 2016; LOTTERMOSER, 2010 *apud* GUERRA et al., 2017; HATJE et al., 2017; AGUIAR et al., 2020). De fato, desde a ocorrência do desastre foi identificado aumento nas concentrações totais de metais e semimetais em amostras de água e sedimentos coletadas na foz do rio Doce e região marinha adjacente (FAURG, 2016a; b; GOLDBERG ASSOCIATES, 2016a; IBAMA, 2016; ICMBio, 2016 a; b; d; f; NETO et al., 2016; UFES, 2016 a; b; 2017; BRASIL (MPF)/LACTEC, 2018a; 2019d; 2020e), inclusive em concentrações superiores as permitidas para água e sedimento pelas Resoluções 357 e 454, respectivamente (CONAMA, 2005; 2012). Nas amostras de água houve aumento nas concentrações dos elementos arsênio (As), alumínio (Al), bário (Ba), ferro (Fe), cádmio (Cd), cromo (Cr), chumbo (Pb), cobre (Cu), manganês (Mn), níquel (Ni), vanádio (V) e zinco (Zn) (FAURG a; b; GOLDBERG ASSOCIATES, 2016a; ICMBio, 2016 a; b; d; f; NETO et al., 2016; UFES, 2016 a; b; 2017; BRASIL (MPF)/LACTEC, 2018a; 2019d; 2020e), enquanto que nas amostras de sedimento houve aumento nas concentrações de Al, As, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Ni e Zn (ICMBio, 2016b; UFES, 2016 b; 2017). Estudos mais recentes indicam claro padrão temporal nas concentrações dos diferentes elementos, tanto em água quanto em

sedimentos. Apesar disso, as análises físico-químicas em diferentes matrizes evidenciam a contribuição do desastre para o aumento das concentrações e maior disponibilização desses elementos nas águas costeiras (FAURG, 2016a; b; ICMBio, 2016 a; b; d; f; UFES, 2016a; b; 2017; AGUIAR et al., 2020; BRASIL (MPF)/LACTEC, 2018a; 2019d; 2020e).

Corroborando a distribuição do rejeito por grande extensão da região costeira, bem como a presença de uma série de EPTs em sua composição, todos os peixes capturados no estuário (compartimento 4) e mar (compartimento 5) apresentaram alterações nas condições de saúde e no acúmulo de EPTs ao longo do período avaliado no presente relatório. Em suma, os peixes capturados na foz do rio Doce (FRD) apresentaram, em relação aos peixes capturados no estuário da foz do rio Piraquâ-Açú (PA), maior comprometimento na estrutura e função branquial com consequentes alterações fisiológicas, especialmente nos processos de osmorregulação e equilíbrio ácido-base; maior demanda energética, menor atividade das enzimas dos sistemas antioxidante e de biotransformação; maior concentração de MT, mas, ainda assim, maior LPO; maior neuro e citogenotoxicidade, bem como maior bioacumulação de EPTs, especialmente dos elementos Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Sb, Se e Zn (nos tecidos muscular e hepático) e das espécies inorgânicas de As (As^{3+} e As^{5+}) e orgânica de Hg (MeHg). Apesar de todas essas alterações não foi observada modificação na estrutura das gônadas dos peixes capturados nesse ponto, muitos dos quais, inclusive, apresentaram-se em atividade reprodutiva. Ainda, com relação aos peixes estuarinos, observou-se que o agrupamento por ordem apenas ressaltou alguns dos danos observado para todos os organismos, porém, o agrupamento por hábito alimentar demonstrou que os peixes de hábito zoobentívoro apresentaram maior comprometimento orgânico funcional que os de hábito invertívoro bentônico.

Do mesmo modo, os peixes capturados no mar apresentaram alterações morfofuncionais das estruturas branquiais, alterações fisiológicas, especialmente nos processos de osmorregulação e equilíbrio ácido-base; alterações metabólicas, comprometimento dos sistemas antioxidante e de biotransformação; danos aos lipídios e proteínas, neuro e citogenotoxicidade, bem como bioacumulação de EPTs e das espécies de As e Hg. No entanto, a comparação entre as respostas apresentadas pelos peixes capturados nos pontos próximos em relação aos distantes da costa demonstrou que os danos foram significativamente maiores/mais intensos nos peixes capturados nos pontos próximos da costa (1, 3 e 5) e, dentre esses, principalmente nos pontos 3 e 5, os quais correspondem, respectivamente, aos pontos imediatamente a frente e ao norte da foz do rio Doce. Ainda, através da comparação entre as campanhas, foi possível identificar que, embora os peixes tenham apresentado danos em todas as campanhas, a maior magnitude dos mesmos, bem como o maior acúmulo de EPTs nos tecidos muscular e hepático dos animais, ocorreu na 2ª campanha. Do mesmo modo que nos peixes estuarinos, não foram identificadas alterações morfológicas nas gônadas dos peixes marinhos e, muitos desses também se apresentavam em atividade reprodutiva. Destaca-

se, no entanto, que tanto para os peixes estuarinos quanto para os marinhos, o número de indivíduos jovens capturados foi muito pequeno.

Organismos aquáticos estão imersos no meio, portanto, são diretamente afetados por alterações nas condições físico-químicas do mesmo. A primeira e mais intensa superfície de contato dos peixes com os contaminantes presentes no ambiente são as brânquias. Este órgão de extensa área superficial, altamente vascularizado e, conseqüentemente, de elevada permeabilidade, é responsável pelo contato direto do animal com o meio exercendo, deste modo, funções fisiológicas e metabólicas vitais, tais como: respiração, osmorregulação e excreção, mas, também, se configurando como o sítio de tomada e depuração de contaminantes (EVANS, 1987; WENDELAAR BONGA, 1997; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; EVANS et al., 2005; DE DOMENICO et al., 2013; ROUX, 2015; MA et al., 2019). EPTs estão entre as mais nocivas substâncias ativas capazes de afetar a estrutura branquial tanto morfológica quanto fisiologicamente. Alterações morfológicas são os efeitos primários, e bastante comuns, gerados neste tecido como respostas de defesa (SILVA, 2004). A partir desses, a ocorrência de alterações fisiológicas é subsequente (EVANS, 1987; WENDELAAR BONGA, 1997; WINKALER et al., 2001; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; EVANS et al., 2005; CAMARGO; MARTINEZ, 2007; FONTAÍNHAS-FERNANDES et al., 2008).

Corroborando essas informações, uma série de alterações morfológicas foram identificadas tanto nos peixes capturados no estuário quanto no mar. Dentre as lesões identificadas estão, por exemplo, descolamento do epitélio branquial, presença de edemas, hiperplasia, proliferação celular, fusão lamelar (tanto das primárias quanto das secundárias), aneurismas, constrições e congestões vasculares. Alteração na estrutura e no funcionamento das brânquias pode levar o peixe a óbito (THOPHON et al., 2003). Devido a isso, vastos estudos presentes na literatura científica retratam o uso da histopatologia branquial como uma excelente ferramenta de avaliação, diagnóstico e monitoramento ambiental (e.g., EVANS, 1987; WENDELAAR BONGA, 1997; RANDALL et al., 1999; CERQUEIRA; FERNANDES, 2002; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; EVANS et al., 2005; CAMARGO; MARTINEZ, 2007; FONTAÍNHAS-FERNANDES, et al., 2008). Na região estuarino-marinha da foz do rio Doce não haviam estudos de linha de base que tivessem monitorado este parâmetro, no entanto, os resultados obtidos no presente estudo foram piores que os encontrados por Souza et al. (2013) na baía de Vitória, uma vez que embora estes autores tenham encontrado lesões nas brânquias de *Centropomus parallelus* (robalo), as mesmas não foram tão significativas como as aqui evidenciadas. Assim, provavelmente os danos observados no tecido branquial das espécies capturadas na região costeira podem ser relacionados a elevada toxicidade conferida às partículas de rejeito, as quais, devido ao seu pequeno tamanho (entre 1 a 200 μm) tem elevado potencial para adsorção de elementos tóxicos (SEGURA et al., 2016; UFES, 2016a; HATJE et al., 2017).

Diante de alterações morfológicas na estrutura e células branquiais, perturbações ou desafios para a homeostasia são inevitáveis. Assim, alterações na estrutura e nos processos fisiológicos deste tecido, devido a seu íntimo contato com o ambiente e os fluidos corpóreos, afetam rapidamente outros órgãos prejudicando o funcionamento de todo o organismo (EVANS, 1987; WENDELAAR BONGA, 1997; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; EVANS et al., 2005) que, como uma cascata, manifesta alterações em diversos processos (ROCHE; BOGÉ, 1996; WENDELAAR BONGA, 1997; STIEN et al., 1998; WINKALER et al., 2001; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; CAMARGO; MARTINEZ, 2006; PORTZ et al., 2006). Parâmetros fisiológicos são normalmente mantidos constantes por mecanismos regulatórios, porém, alterações fisiológicas como desequilíbrios em processos vitais de balanço hidromineral, trocas gasosas, equilíbrio ácido-básico e excreção de produtos nitrogenados são bastante comuns diante da exposição a poluentes, como metais e semimetais. Essas alterações são os primeiros efeitos gerados por estes estressores sobre os peixes e, portanto, bastante sensíveis e muito utilizados como marcadores (ZACHARIASSEN et al., 1991; JOBLING, 1995; ROCHE; BOGÉ, 1996; WENDELAAR BONGA, 1997; STIEN et al., 1998; WINKALER et al., 2001; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; CAMARGO; MARTINEZ, 2006; PORTZ et al., 2006; MONSERRAT et al., 2007; SOUZA et al., 2013).

Corroborando a relação entre as alterações histopatológicas das brânquias e o desequilíbrio em processos vitais dos organismos avaliados, foi possível identificar que, de modo geral, todos os animais capturados no estuário (FRD) e mar apresentaram prejuízos à homeostasia manifestados, de forma mais significativa, por alterações nos processos de osmorregulação (regulação na concentração de íons e na quantidade de água das células) e equilíbrio ácido-base (manutenção do pH). Metais são reconhecidos por causarem alterações em processos vitais de peixes (revisado em BARTON; MORGAN; VIJAYAN, 2002), uma vez que levam a alterações fisiológicas que ultrapassam a capacidade regulatória. Diante dessa condição diversas alterações metabólicas são evocadas como, por exemplo, ativação metabólica (inclusive com ativação do metabolismo anaeróbico), aumento no débito cardíaco e no consumo de oxigênio, aumento na mobilização dos substratos energéticos e na produção de CO₂ (e.g. REDDING; SCHRECK, 1983; REUBUSH; HEATH, 1997; WENDELAAR BONGA, 1997; MOMMSEN et al., 1999; BARCELLOS et al., 2001; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2002; GOMES et al., 2003; SANGIAO-ALVARELLOS et al., 2003; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; BARRETO; VOLPATO, 2006; GOMES et al., 2006; PERRY; GILMOUR, 2006; PORTZ et al., 2006; SOENGAS et al., 2007; MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008; MARIANO; OBA; SILVA DE ASSIS, 2009), assim como demonstrado no presente estudo. A maior produção de CO₂ gera acidose metabólica (PERRY; GILMOUR, 2006), dada a baixa capacidade de tamponamento do sistema bicarbonato em peixes (revisado em EVANS et al., 2005). Assim, além da acidose ser um efeito comumente causado por EPTs, é provável que o quadro evidenciado nos peixes marinho-estuarinos seja resultante, não somente do aumento do CO₂

sanguíneo em decorrência do metabolismo, mas, também, da retenção do CO₂ no organismo devido a redução na permeabilidade branquial causada pelas inúmeras lesões, bem como pela produção de muco em grande quantidade, estratégia essa bastante comum em peixes para proteção das brânquias diante de situações de estresse (e.g., GOMES et al., 2003; 2006; GARCIA et al., 2007).

Ainda, o excesso de CO₂ bem como as alterações nas estruturas branquiais desencadeiam maior demanda sobre a função de enzimas (AC – branquial e renal, NAK e H⁺-ATPase) relacionadas tanto com aspectos osmorregulatórios quanto de regulação ácido-básica (HENRY; SWENSON, 2000), exatamente como evidenciado no presente estudo. Essa condição desencadeia prejuízos à todo o organismo, visto que absorção de sais, regulação do volume celular e manutenção do pH são essenciais ao funcionamento dos mais diferentes tipos de células (PERRY et al., 2000; KIRSHNER 2004; MARSHALL; GROSELL, 2005; FREIRE et al., 2008; HUANG et al., 2010; EVANS, 2011; MCNAMARA; FARIA 2012; DUARTE et al., 2013). Além disso, prejuízos às funções respiratória e de excreção (eliminação de resíduos) não podem ser desconsiderados, visto que alterações identificadas nas brânquias também prejudicam esses processos, os quais são interdependentes aos demais aqui citados. É importante mencionar, ainda, que embora não tenham sido realizadas medidas diretas de avaliação do equilíbrio ácido-básico, o *status* de acidose metabólica foi indiretamente inferido através do aumento proporcionalmente maior de Cl⁻ do que de Na⁺ (TRUCHOT, 1992; JENSEN et al., 1998; SOUZA-BASTOS; FREIRE, 2009), uma vez que em teleósteos a concentração plasmática de Na⁺ deve ser à de Cl⁻ (revisado em FREIRE; PRODOCIMO, 2007). Ressalta-se que os peixes capturados no estuário do rio Piraquê-Açú não apresentaram esse quadro patológico, o que confirma a influência negativa do maior aporte de contaminantes provenientes da lama de rejeitos sobre a região costeira adjacente a foz do rio Doce e à biota ali presente.

Nenhum estudo de linha de base havia identificado a ocorrência de danos aos processos fisiológicos dos peixes capturados na região marinha adjacente à foz do rio Doce. No entanto, o estudo realizado por Souza et al. (2013), na baía de Vitória, também indicou alterações nas respostas da enzima NAK em *C. parallelus*. Embora a baía de Vitória represente uma área distinta da região costeira da foz do rio Doce, a mesma é bastante contaminada por diferentes fontes antrópicas, especialmente metais, provenientes de diferentes fontes como efluentes urbanos e industriais, erosão e intemperismo de rochas e solos que compõem as bacias hidrográficas e lixiviação de áreas contendo sucatas metálicas (JOYEUX; CAMPANHA FILHO; JESUS, 2004; JESUS et al., 2004; MOREIRA, 2011; SOUZA et al., 2013), assim, as alterações enzimáticas manifestadas por *C. parallelus* podem ser utilizadas para comparação às respostas fisiológicas manifestadas pelos peixes capturados na foz do rio Doce, bem como para corroborar a influência dos EPTs sobre os mesmos.

EPTs também são reconhecidos por causar aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de radicais livres em peixes (e.g., WENDELAAR BONGA, 1997; MOMMSEN et al.,

1999; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; PORTZ et al., 2006; MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008; COGO et al., 2009; MARIANO; OBA; SILVA DE ASSIS, 2009; SOUZA et al., 2013; PEREIRA et al., 2016) os quais, embora existam sistemas atuando na manutenção dos níveis destas moléculas, como os sistemas antioxidante e de biotransformação, podem promover o estado chamado de estresse oxidativo, no qual a produção e a degradação das EROs e de radicais livres se encontra em desbalanço, fazendo com que esses elementos excedentes atuem sobre diferentes macromoléculas promovendo danos a elas como, por exemplo, peroxidação de lipídeos, carbonilação de proteínas e degradação de ácidos nucleicos e, conseqüentemente, inúmeros danos às células e suas funções, inclusive culminando em danos irreversíveis às células afetadas ou ainda morte celular (LIMA; ABDALLA, 2001; WILHELM FILHO et al., 2001; DORVAL et al., 2003; PANDEY et al., 2003; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; HERMES-LIMA, 2004; MONSERRAT et al., 2007; MARIANO; OBA; SILVA DE ASSIS, 2009; CRAFTFORD; AVENANT-OLDEWAGE, 2010; SOUZA et al., 2013; HALLIWELL, 2016; BIRNIE-GAUVIN et al., 2017). Os prejuízos aos sistemas antioxidante e de biotransformação, bem como os danos em macromoléculas (lipídios, proteínas e ácido nucleicos) evidenciados no presente estudo não puderam ser comparados com estudos pretéritos, inexistentes para as porções estuarina e marinha do rio Doce. Apesar disso, as respostas aqui identificadas foram bastante similares às descritas por Souza et al. (2013) em *C. parallelus* capturados na baía de Vitória. Do mesmo modo, Cagnin (2013), em estudo laboratorial para avaliação dos efeitos do As sobre exemplares de *C. parallelus*, também identificou drásticos prejuízos ao sistema antioxidante. Sendo o As um elemento amplamente encontrado na região estuarina e marinha adjacente à foz do rio Doce, as alterações identificadas em *C. parallelus* corroboram os efeitos dos diferentes elementos disponíveis na região sobre os peixes, uma vez que estas alterações, especialmente no que se trata de redução no sistema antioxidante, representam danos graves à saúde dos mesmos e podem evoluir para prejuízos drásticos às macromoléculas, ao longo do tempo (COGO et al., 2009; MARIANO; OBA; SILVA DE ASSIS, 2009; SOUZA et al., 2013), alguns das quais já estão ocorrendo nos animais capturados nas porções estudadas.

Não obstante, os peixes avaliados no presente estudo apresentaram comprometimento das respostas da enzima acetilcolinesterase (AChE), enzima de extrema importância por ser responsável pela degradação do neurotransmissor acetilcolina que propaga o impulso nervoso entre os neurônios colinérgicos adjacentes, a placa motora e as junções neuromusculares e, promove o funcionamento adequado do sistema colinérgico responsável por diversas ações e reações sensoriais e motoras. O funcionamento inadequado desta enzima acarreta efeitos comportamentais como hiperatividade, asfixia e morte, tanto decorrentes de neurodegeneração como de mudanças na estrutura do citoesqueleto e hiperfosforilação (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; CANAL; VIRGENS; VELHA, 2009; CAGNIN, 2013). Os peixes avaliados no presente estudo apresentaram alterações tanto na atividade da AChE cerebral quanto muscular, indicando comprometimento das funções

neuroológicas dos mesmos. Especial destaque deve ser dado aos peixes que apresentaram redução da atividade desta enzima no cérebro, pois, tal resposta é indicativo de maior comprometimento neurológico decorrente da exposição a contaminantes ambientais capazes de atravessar a barreira hematoencefálica e, conseqüentemente, causar efeitos diretos ao sistema nervoso central destes organismos (BANKS, 2009; CAGNIN, 2013). Essa condição prejudica a transmissão dos impulsos nervosos incapacitando o animal de responder aos estímulos ambientais impedindo-os de executar ações essenciais à manutenção das espécies como, por exemplo, predação, fuga de predadores, busca por refúgio e parceiro sexual, etc. (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; CANAL; VIRGENS; VELHA, 2009; CAGNIN, 2013).

O evidente comprometimento da saúde da biota aquática da região estuarino-marinha vem sendo relatado em estudos desenvolvidos na região desde o rompimento da barragem (FAURG, 2016a; b; ICMBio, 2016 a; b; d; e; f; RRDM, 2019; BRASIL (MPF)/LACTEC, 2020b) e, são totalmente compatíveis com a elevada disponibilidade de EPTs nesta região. A elevada disponibilidade de EPTs é resultante do sinergismo das diferentes alterações que aconteceram em toda a extensão do rio Doce e região costeira adjacente em decorrência da passagem da lama como, por exemplo, alterações em processos de adsorção e dessorção, os quais regulam a mobilidade de metais nestes ambientes aquáticos (FAURG, 2016a; b; GOLDER ASSOCIATES, 2016a; IBAMA, 2016; ICMBio, 2016 a; b; d; f; NETO et al., 2016; UFES, 2016 a; b; 2017). Além disso, é importante mencionar que áreas com ocorrência de salinidade, em especial regiões estuarinas que representam ambiente de transição, favorecem a incorporação de EPTs pela biota, pois, o aumento no teor de cátions livres na coluna d'água como, por exemplo Na^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+} , tende a intensificar os processos de dessorção das espécies químicas sorvidas nos materiais sólidos, em especial de espécies metálicas, devido à competição destas com os íons ocorrentes. Assim, as espécies químicas que se apresentavam ligadas e com menor mobilidade relativa, em ambientes salinos tendem a ser novamente disponibilizadas, favorecendo a sua absorção pelos organismos ali presentes (PACHANA, WATTANAKORNIRI, NANUAM, 2010).

Corroborando a maior disponibilidade de EPTs no ambiente costeiro, os 19 elementos avaliados foram determinados tanto no tecido muscular quanto no hepático dos peixes capturados em todos os pontos analisados, obviamente, em concentrações variáveis entre os pontos e campanhas realizadas. De modo geral, as maiores concentrações de EPTs foram determinadas nos peixes capturados no estuário e nos pontos marinhos mais próximos da costa (1, 3 e 5) e, especialmente, durante a segunda campanha amostral (estação chuvosa). É importante mencionar, ainda, a ocorrência das espécies inorgânicas de As (As^{3+} e As^{5+}) e da espécie orgânica de Hg (MeHg) no tecido muscular desses animais, que embora também tenham apresentado concentrações variáveis entre os pontos e campanhas foram constantes nesses animais. A média, ao longo das campanhas, de amostras

musculares que apresentaram essas espécies metálicas foram: 10, 31% para As^{3+} , 26,06% para As^{5+} e 71,45% para MeHg.

Exceto pelo estudo realizado pela equipe de pesquisadores da FAURG (2016), que realizou amostragem de peixes na região próxima a foz do rio Doce para avaliação da concentração de EPTs antes da chegada da lama ao local, não foram encontrados estudos de linha-base que tivessem avaliados esses parâmetros, especialmente se considerados todos os elementos e as espécies metálicas avaliadas no presente estudo. A maior parte dos estudos realizados na região litorânea do estado do Espírito Santo foi realizada em Vitória, devido ao histórico da região quanto à contaminação (JOYEUX; CAMPANHA FILHO; JESUS, 2004; JESUS et al., 2006; MOREIRA, 2011; SOUZA et al., 2013). Porém, desses estudos apenas dois utilizaram peixes como bioindicadores (JOYEUX; CAMPANHA FILHO; JESUS, 2004; SOUZA et al., 2013). Além disso, existem alguns estudos realizados na Lagoa Mãe-Bá, que apesar de ser uma lagoa de água doce, tem sido estudada quanto à contaminação por EPTs por estar situada ao lado da Barragem Norte, que corresponde a unidade pelletizadora da Samarco, e receber resíduos dessa barragem por meio de um barramento que é aberto, em média, quatro vezes por ano por cerca de 72 h (PEREIRA; MENDONÇA; ANDRADE FILHO, 2006; FERNANDES et al., 2009). Dos três estudos realizados nessa lagoa (PEREIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2010; PEREIRA; HATTUM; BROUWER, 2012) apenas Pereira et al. (2010) avaliaram espécimes de peixes quanto à contaminação e bioacumulação de EPTs em tecido muscular. Existem, ainda, dois estudos realizados na região de Santa Cruz (SOUZA et al., 2013; NIENCHESKI et al., 2014) que avaliaram a concentração de EPTs em peixes. Devido à baixa disponibilidade de estudos exatamente na foz do rio Doce e porção marinha adjacente, todos os estudos supracitados, foram utilizados como linha base em relação aos resultados obtidos pelo Lactec (Tabela 79).

Apesar disso, identifica-se que somente para os pontos Santa Cruz/Aracruz – foz do Piraquê-Açu e Foz do rio Doce existem dados comparáveis. Para esses pontos foi possível observar que a média das concentrações determinadas no presente estudo foram superiores às determinadas nos estudos pré-desastre. Na comparação pré/pós-desastre para o ponto PA (Santa Cruz/Aracruz – foz do Piraquê-Açu) as concentrações dos elementos Ag, Al, As, Cr, Fe, Ni e Se foram superiores às determinadas nos estudos pré-desastre (III e IV na tabela), os elementos Cd, Cu e Zn, apresentaram concentrações intermediárias, enquanto apenas os elementos Hg, Mn e Pb apresentaram concentrações inferiores. É importante destacar que um dos estudos realizados neste ponto no período pré-desastre (III - SOUZA et al., 2013) tem suas concentrações apresentadas em peso seco. Ainda assim, as concentrações foram inferiores às determinadas no presente estudo, cujas concentrações são apresentadas em peso úmido, ou seja, “mais diluídas”. Ainda em relação a comparação entre estes estudos, é importante chamar a atenção para os elementos Ag, Cd e Ni que apresentavam concentrações abaixo do limite de quantificação (<LQ), mas, no presente estudo, encontram-se em concentrações elevadas. A

comparação dos presentes resultados com os do estudo realizado pela FAURG (2016), na foz do rio Doce, dias antes da chegada da lama na região revelou que todos os elementos comparáveis (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn e Pb) apresentaram incremento (ou seja, aumento) em suas concentrações (Tabela 79).

Tabela 79. Média das concentrações de EPTs (mg.kg⁻¹ PU) determinadas em tecido muscular de peixes. Comparação entre o estudo atual e estudos pré-desastre (linha base)

	Pré-Desastre						Pós-desastre							
	Lagoa Mãe-Bá	Vitória	Santa Cruz	Vitória	Santa Cruz	Foz do rio Doce	PA	FRD	MAR PT1	MAR PT3	MAR PT5	MAR PT2	MAR PT4	MAR PT6
	I ^a	II	III ^b	IV	V ^c		Resultados obtidos no presente estudo							
Ag	ND	ND	<LQ	<LQ	ND	ND	0,0012	0,0011	0,0011	0,0011	0,0012	0,0010	0,0020	0,2710
Al	8,92	ND	2,7	1,4	ND	ND	9,1266	4,2669	10,3306	8,7010	4,4556	9,9730	4,0307	4,9104
As	0,1	ND	0,82	0,51	ND	ND	2,5380	3,5692	10,0730	16,8255	10,4776	14,6658	7,9688	6,3051
Ba	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0459	0,2989	0,0769	0,9376	0,1747	3,6001	0,1892	0,0994
Cd	0,037	0,028	<LQ	<LQ	0,173	0,000001	0,0018	0,0018	0,0013	0,0011	0,0012	0,0010	0,0012	0,0015
Co	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0049	0,0218	0,0174	0,0143	0,0136	0,0173	0,0115	0,0071
Cr	0,075	0,155	0,07	0,11	0,0002	0,00003	0,0784	0,1100	0,1037	0,0763	0,0951	0,1336	0,0899	0,1087
Cu	1,21	0,237	0,66	0,57	0,0049	0,001	0,1931	0,4028	0,2773	0,2587	0,2892	0,3019	0,2954	0,2364
Fe	33,87	ND	7,8	5	ND	0,005	16,1468	15,8292	10,7046	6,6629	7,0936	7,8488	4,5892	6,5043
Hg	0,203	ND	0,24	0,22	ND	ND	0,1971	0,2863	0,1120	0,1218	0,0855	0,1212	0,0856	0,0378
Mn	1,66	ND	0,95	0,39	ND	0,0005	0,3488	0,4223	0,4393	0,5659	0,5775	0,6724	0,7384	0,5103
Ni	0,023	ND	<LQ	0,05	ND	ND	0,0093	0,0069	0,0284	0,0193	0,0112	0,0386	0,0097	0,0175
Pb	0,024	0,25	0,05	0,1	ND	0,00002	0,0110	0,0055	0,0094	0,0703	0,0048	0,0088	0,0021	0,0040
Sb	ND	ND	ND	ND	0,0004	ND	0,0012	0,0011	0,0012	0,0036	0,0014	0,0013	0,0013	0,0014
Se	ND	ND	0,29	0,69	ND	ND	0,5486	0,5844	0,6843	0,6603	0,7754	0,5566	0,7975	0,6652
Sn	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0017	0,0014	0,0032	0,0024	0,0014	0,0048	0,0018	0,0045
Zn	34,12	4,7	14,2	12	0,0167	ND	6,0794	8,5924	8,2650	6,3980	7,2690	6,7911	7,6240	6,7028

Células coloridas correspondem às diferenças existentes entre os estudos. Células vermelhas correspondem aos elementos cujas concentrações foram superiores, células amarelas concentrações intermediárias e células verdes concentrações inferiores nas comparações entre os estudos, pré e pós-desastre, realizados em uma mesma localidade. Células roxas aos elementos cujas concentrações foram inferiores na Lagoa Mãe-Bá em comparação às concentrações obtidas para a foz do rio Doce. Ressalta-se que embora a Lagoa Mãe-Bá seja uma lagoa de água doce, a mesma recebe resíduos da unidade pelletizadora da Samarco. Números romanos correspondem às referências citadas, *a saber*: I – Pereira et al. (2010); II – Joyeux; Campanha Filho; Jesus (2004); III – Souza et al. (2013); IV – Niencheski et al. (2014); V – FAURG (2016). a e b – Correspondem a referências cujos resultados são apresentados em peso seco. c – corresponde a referência cujos valores foram aproximados devido terem sido obtidos de gráficos e não de dados brutos. Os valores apresentados pelo Lactec correspondem a média dos resultados obtidos para cada um dos pontos nas quatro campanhas realizadas.

Estudos realizados pós-desastre em diferentes localidades do litoral do Espírito Santo também corroboram a bioacumulação de EPTs em peixes. Os estudos realizados pela Econservation (2016) entre os meses de dez/2015 e fev/2016 identificaram bioacumulação de arsênio, alumínio, bário, cádmio, chumbo, cobalto, cobre, cromo, ferro, manganês, mercúrio, níquel, prata, selênio e zinco em espécimes de peixes de diferentes espécies (*Rhizoprionodon porosus* – cação, *Lycengraulis grossidens* – manjubão, *Aspistor luniscutis* – bagre, *Bagre bagre* – bagre bandeira, *Bagre marinus* – bagre bandeira, *Cathorops spixii* – bagre amarelo, *Genidens barbatus* – bagre, *Genidens genidens* – bagre, *Notarius grandicassis* – bagre, *Centropomus undecimalis* – robalo flecha, *Eugerres brasiliensis* – carapeba, *Conodon nobilis* – roncador, *Polydactylus virginicus* – barbudo, *Cynoscion jamaicensis* – pescada, *Larimus breviceps* – cangoá, *Macrodon ancylodon* – pescadinha, *Macrodon atricauda* – pescadinha, *Menticirrhus americanus* – pé de banco, *Nebris micro* – pescada mole, *Paralonchurus brasiliensis* – roncador do norte ou Maria Luiza, *Stellifer brasiliensis* – cangoá, *Stellifer rastrifer* – cangoá, *Scomberomorus cavala* – sarda, *Scomberomorus regalis* – sarda, *Peprilus paru* – gordinho) coletados em cinco diferentes regiões (Barra seca, Barra nova, Regência, Barra do Riacho e Santa Cruz) entre os municípios de São Mateus e Aracruz.

Ainda, confirmando a contribuição da pluma de rejeitos sobre a bioacumulação de EPTs na biota aquática, estudos de monitoramento que foram realizados por pesquisadores da Universidade Federal do Rio Grande (FURG/Coral Vivo) em parceria com o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), também identificaram, desde a primeira coleta após a chegada da pluma de sedimentos na região marinha-estuarina, aumento nas concentrações de metais e semimetais (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn e Pb) em amostras de pescado (camarões e peixes) coletados em 13 (campanha 1) e 21 (campanha 2) pontos ao longo do litoral norte do Espírito Santo e sul da Bahia, incluindo ambientes recifais, coralíneos e algais (FAURG, 2016a; b; ICMBio, 2016 a; b; d; e; f). Os resultados da primeira coleta realizada a bordo do navio Soloncy Moura, realizada entre os dias 27/01 e 03/02/2016, indicaram aumento nas concentrações de As, Cd e Pb, respectivamente, em amostras de músculos de pescados (peixes e camarões) em comparação aos limites máximos estabelecidos pela Resolução RDC nº 42 (ANVISA, 2013) (ICMBio, 2016a; b; c; d; f). Esses resultados já indicavam a existência de contaminação por metais fora da área de proibição estabelecida pela justiça federal, especificamente nas áreas de Barra Nova – São Mateus – ES e banco de Abrolhos ao norte e, nas Unidades de Conservação (UCs) Área de Proteção Ambiental (APA) Costa das Algas e Refúgio de Vida Silvestre (RVS) de Santa Cruz ao sul (ICMBio, 2016a; b; c; e). Os resultados apresentados em relatório subsequente, referente a amostragens realizadas no período de 19 a 27/04/2016, permitiram identificar a presença de Cd, Cu, Cr, Pb, As, Fe e Mn em 36%, 79%, 92%, 63%, 40%, 99,6% e 98%, respectivamente, das 493 amostras de pescado (peixes e camarões) analisadas (FAURG, 2016a). Por sua vez, a análise do relatório comparativo divulgado pela FAURG (2016b), o qual inclui dados de amostras obtidas de uma

coleta realizada antes do desastre (outubro de 2015) e duas outras coletas realizadas após a ocorrência do mesmo (abril e junho de 2016), permitiu identificar padrões distintos de bioacumulação de metais e semimetais nas amostras musculares de peixes (pescada, pescadinha, pescadão, pescada foguete e oveva), comumente denominadas pescadas. Para os elementos Cd e Cr houve um aumento significativo nas concentrações dos mesmos ao longo do tempo. Para Fe, Mn e Cu houve aumento significativo na primeira coleta após o desastre (28/01/2016), seguido da diminuição nas concentrações obtidas na segunda coleta após o desastre (24/04/2016), porém, ainda em concentrações maiores que as encontradas para os peixes coletados antes da chegada da lama (outubro de 2015). Para Pb, não foram observadas alterações entre as concentrações estabelecidas antes e após a ocorrência do desastre (FAURG, 2016b). Para as outras espécies de peixes (*Eucinostomus argenteus*, *Eucinostomus melanopterus*, *Pachyurus adspersus*, *Caranx latus*, *Eugerres brasiliensis*, *Cathorops spixii*, *Genidens genidens*, *Pachyurus adspersus*, *Pomadasys ramosus*, *Bairdiella ronchus*, *Pimelodus maculatus*, *Callichthys callichthys*, *Mugil liza*, *Mugil curema*, *Oligoplites saliens*, *Cynoscion sp.*, *Micropogonias furnieri* e *Centropomus parallelus*), coletadas entre 19 a 23/11/2015 e 20 a 30/06/2016, e que tiveram tanto músculo quanto fígado analisados houve, de forma geral, um aumento significativo nas concentrações de metais e semimetais, em ambos os tecidos analisados, nas amostras obtidas após o desastre quando comparadas àquelas obtidas antes do mesmo (FAURG, 2016b).

Ainda, ao compararmos os presentes resultados com estudos realizados no período entre 2 a 4 anos após a ocorrência do desastre, mais especificamente com os estudos realizados pela RRDM (2019) e por BRASIL (MPF)/LACTEC (2020f), percebe-se que com o passar dos anos o incremento nas concentrações de grande parte dos elementos avaliados se mantém, enquanto outros apresentaram redução nas concentrações ao longo do tempo. É importante ter em mente que as concentrações dos elementos e, especialmente a bioacumulação dos mesmos, é variável e totalmente dependente de uma série de fatores. A biodisponibilidade é totalmente dependente das condições abióticas do meio (pH, temperatura, salinidade, potencial redox, etc.). No ambiente aquático estes EPTs passam por diferentes transformações químicas, especialmente complexação com outros elementos e substâncias presentes na coluna d'água, podendo ser transportados pelos materiais particulados em suspensão ou depositados gradualmente nos sedimentos de fundo, em decorrência da redução da velocidade da corrente de água (FÖRSTNER; WITTMANN, 1981; CHAPMAN et al., 1996; GUILHERME et al., 2005; RAMOS, 2005; QUEIROZ, 2006; SOUZA, 2007; VAREJÃO, 2008; RHODES, 2010; SILVA, 2010; SARMIENTO et al., 2011; SALES, 2013; SOUZA et al., 2015; IBAMA, 2016). Ao serem incorporados aos sedimentos os mesmos tornam-se menos biodisponíveis, ou seja, quando em fase aquosa os EPTs são mais facilmente absorvidos pelos organismos. No entanto, é válido ressaltar que o sedimento é um compartimento ativo no meio, e qualquer alteração físico-química pode promover não somente o

acúmulo de elementos, mas, também, a reposição, redistribuição e biodisponibilização para a coluna d'água e, conseqüentemente, à biota aquática (FÖRSTNER; WITTMANN, 1981; BEVILACQUA, 1996; GUILHERME et al., 2005; RAMOS, 2005; QUEIROZ, 2006; VAREJÃO, 2008; SARMIENTO et al., 2011; SALES, 2013; PUPPIM, 2014; SOUZA et al., 2015; FERNANDES et al., 2016; IBAMA, 2016; MAIA, 2017; JUNCÁ et al., 2017; AGUIAR et al., 2020), atuando como fonte potencial de poluição difusa no ambiente aquático (SILVA, 2010; AGUIAR et al., 2020). A bioacumulação, por sua vez, é dependente não somente da concentração química dos elementos no meio, mas, da forma como estes estão fixados, das condições abióticas, do tempo e nível de exposição, da rota de absorção (oral, cutânea, branquial), da capacidade absorptiva e de defesa dos organismos e, também, de como a sua especificidade química afeta a distribuição deste no organismo (ANDRADE, 2003; GUILHERME et al., 2005; RAMOS, 2005; QUEIROZ, 2006; VAREJÃO, 2008; MORAIS, 2009; RHODES, 2010; PEREIRA et al., 2010; SOUZA et al., 2015; YANCHEVA et al., 2015; FAURG, 2016a; ICMBio, 2016d).

Tabela 80. Média das concentrações de EPTs (mg.kg^{-1} PU) determinadas em tecido muscular de peixes. Comparação entre estudos realizados entre 2 e 4 anos pós-desastre

RRDM (2019)										LACTEC (2019)								PRESENTE ESTUDO						
setembro/outubro de 2018 (2 anos e 11 meses)*					janeiro/fevereiro de 2019 (3 anos e 3 meses)*					março/abril de 2019 (3 anos e 4 meses)				setembro/outubro de 2019 (3 anos e 11 meses)				entre junho/2018 a agosto/2019						
Santa Cruz/Aracruz	Foz do rio Doce	Degredo	Barra Nova		Santa Cruz/Aracruz	Foz do rio Doce	Degredo	Barra Nova		Santa Cruz/Aracruz	Foz do rio Doce	Degredo	Barra Nova	Santa Cruz/Aracruz	Foz do rio Doce	Degredo	Barra Nova	PA	FRD	MAR PT1	MAR PT3	MAR PT5	MAR PT2	MAR PT6
Ag	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,501	0,0003	0,034	0,002	0,001	0,0005	0,001	0,004	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Al	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3,519	1,096	8,895	21,496	9,221	16,852	3,074	6,968	9,127	4,267	10,331	8,701	4,456	9,973	4,031
As	0,878	0,749	0,61	0,02	0,051	0,056	0,069	0,013		3,275	0,702	2,091	3,917	4,03	3,115	0,623	3,252	2,538	3,569	10,073	16,826	10,478	14,666	7,911
Ba	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,082	0,173	0,056	0,132	0,171	0,211	0,21	0,2	0,046	0,299	0,077	0,938	0,175	3,600	0,111
Cd	0,1643	0,197	0,906	0,9118	0,77	0,148	0,045	0,05		0,5	0,0003	0,0002	0,001	0,052	0,001	0,054	0,048	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Co	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,502	0,005	0,007	0,037	0,062	0,032	0,048	0,038	0,005	0,022	0,017	0,014	0,014	0,017	0,017
Cr	2,453	2,204	0,395	0,273	0,126	0,092	0,367	0,12		0,055	0,093	0,117	0,072	0,239	0,08	0,1	0,198	0,078	0,110	0,104	0,076	0,095	0,134	0,095
Cu	0,606	0,889	0,19	0,648	0,138	0,105	0,085	0,12		0,919	1,348	1,265	0,943	5,069	1,412	1,66	1,556	0,193	0,403	0,277	0,259	0,289	0,302	0,291
Fe	4,196	5,119	7,19	5,653	21,35	16,622	3,255	2,41		4,293	3,799	7,67	4,942	14,406	23,411	16,085	9,537	16,147	15,829	10,705	6,663	7,094	7,849	4,531
Hg	0,008	0,006	0,004	0,001	0,004	0,001	0,013	0,01		0,115	0,089	0,046	0,168	0,174	0,068	0,242	0,055	0,197	0,286	0,112	0,122	0,085	0,121	0,081
Mn	0,835	2,211	7,94	1,74	0,963	1,131	0,985	0,96		0,281	0,287	0,431	0,292	0,6	1,217	0,364	0,497	0,349	0,422	0,439	0,566	0,577	0,672	0,731
Ni	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,148	0,128	0,148	0,233	0,165	0,058	0,065	0,244	0,009	0,007	0,028	0,019	0,011	0,039	0,031
Pb	0,029	0,051	0,019	0,023	0,011	0,028	0,015	0,007		0,126	0,033	0,05	0,041	0,705	0,059	0,063	0,058	0,011	0,005	0,009	0,070	0,005	0,009	0,001
Sb	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,28	0,0002	0,0002	0,0002	0,035	0,001	0,062	0,06	0,001	0,001	0,001	0,004	0,001	0,001	0,001
Se	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,509	0,509	0,555	0,666	0,494	0,384	0,456	0,678	0,549	0,584	0,684	0,660	0,775	0,557	0,791
Sn	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,269	0,001	0,001	1,088	0,118	0,118	0,169	0,22	0,002	0,001	0,003	0,002	0,001	0,005	0,001
Zn	2,916	4,776	16,32	10,938	2,96	2,602	2,945	3,24		3,072	2,738	3,04	3,158	9,862	7,497	5,676	5,042	6,079	8,592	8,265	6,398	7,269	6,791	7,611

Células coloridas correspondem às diferenças existentes entre os estudos. Células vermelhas correspondem aos elementos cujas concentrações foram superiores, células amarelas concentrações intermediárias e células verdes concentrações inferiores em uma mesma localidade. É importante mencionar que os pontos marinhos 5 e 6 foram comparados com os resultados das regiões de Degredo e Barra Nova por serem as regiões na direção norte da foz do rio Doce que mais se aproximam aos pontos de coleta do presente estudo. Os valores apresentados pelo Lactec correspondem a média dos resultados obtidos para cada um dos pontos nas quatro campanhas realizadas.

É importante mencionar que após a ocorrência do desastre a Justiça Federal do Espírito Santo instaurou a proibição da pesca na região entre a Barra do Riacho, em Aracruz, e Degredo/Ipiranguinha, em Linhares, litoral do Espírito Santo [processo no 0002571-13.2016.4.02.5004 (2016.50.04.002571-0) datada de 17/02/2016]]. Dentre os pontos avaliados no presente estudo PA na foz do rio Piraquê-Açú e os pontos marinhos 2, 4 e 6, localizados a 20 km da costa, estão fora da faixa de proibição (Figura 190 e Figura 191). Ressalta-se, porém, que mesmo fora desta área de proibição os peixes apresentaram elevadas concentrações dos diferentes EPTs. Os peixes da ordem Siluriformes (bagres e cascudos) capturados no presente estudo são organismos que, normalmente, possuem hábito de fundo, assim, esses animais podem se contaminar tanto por contato com os sólidos em suspensão na água (Figura 190) quanto pelo contato direto com o material que vem se sedimentando ao longo de toda a extensão avaliada (Figura 191), refletindo no prejuízo identificado nos organismos ali capturados, conforme evidenciado pelos diferentes biomarcadores. Cabe ressaltar que o material que está atingindo os pontos mais distantes é, provavelmente, aquele composto por partículas granulométricas de característica muito fina e constituídas, basicamente, de grânulos de silte ou argila, as quais associam mais facilmente contaminantes devido às características de ligações químicas que as mesmas propiciam (PIRES et al., 2003; PUPPIM, 2014; SEGURA et al., 2016; UFES, 2016b; HATJE et al., 2017; JUNCÁ et al., 2017; UFES, 2017; AGUIAR et al., 2020).

Corroborando esse fato, além do ponto no estuário, que sofre influência direta do material advindo da calha do rio Doce, os pontos marinhos que apresentam as maiores concentrações de EPTs foram os pontos 3 e 5, localizados imediatamente a frente e ao norte da foz do rio Doce, respectivamente. De acordo com Aguiar et al. (2020) os elementos advindos com o derramamento e, que estão sendo depositados nos sedimentos de fundo das regiões estuarina e marinha, representam risco para a biota local, uma vez que muitos deles, mesmo em baixas concentrações, apresentam alto potencial de toxicidade e, sob condições físico-químicas específicas, estão sendo disponibilizados à coluna d'água. Ainda, de acordo com estes autores a tendência natural da pluma é de ser transportada preferencialmente para o sul, no entanto, o setor central (mais próximo da foz do rio Doce) e a parte inferior do norte da foz do rio Doce também estão sendo contaminadas por influência de desvios nas correntes, especialmente em decorrência das condições meteorológicas. Os achados desses autores são totalmente compatíveis ao padrão de bioacumulação descrito no presente trabalho.

Figura 190. Mapa da delimitação da área de proibição da pesca (em magenta) e da concentração de sólidos em suspensão na região esturina-marinha acometida pela lama proveniente do rompimento da Barragem de Fundão, em Marina – MG

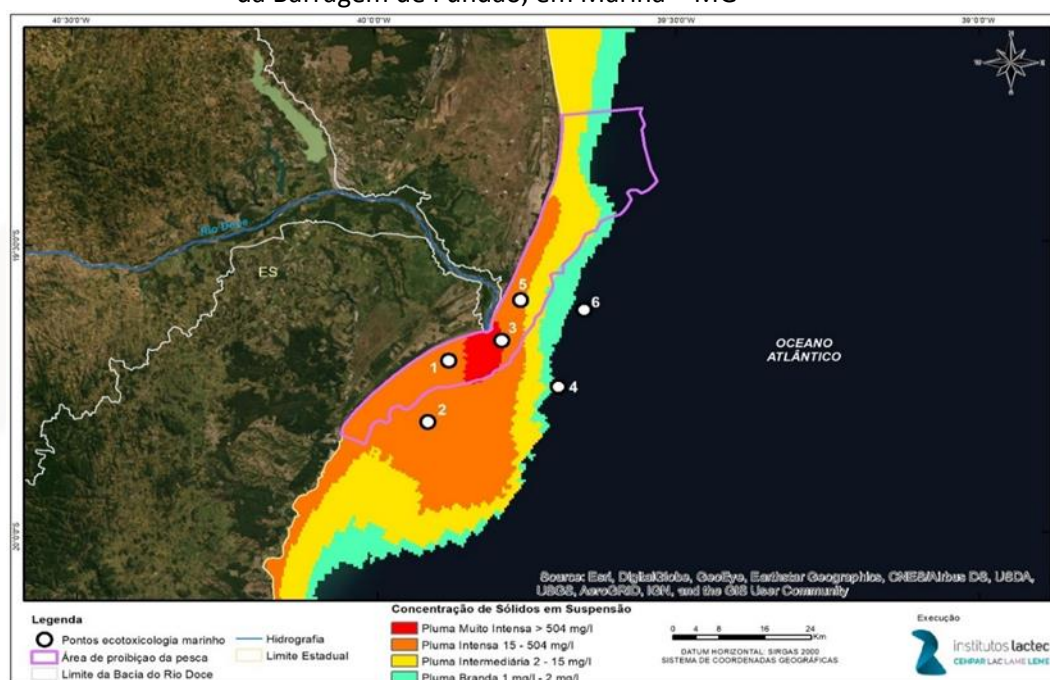
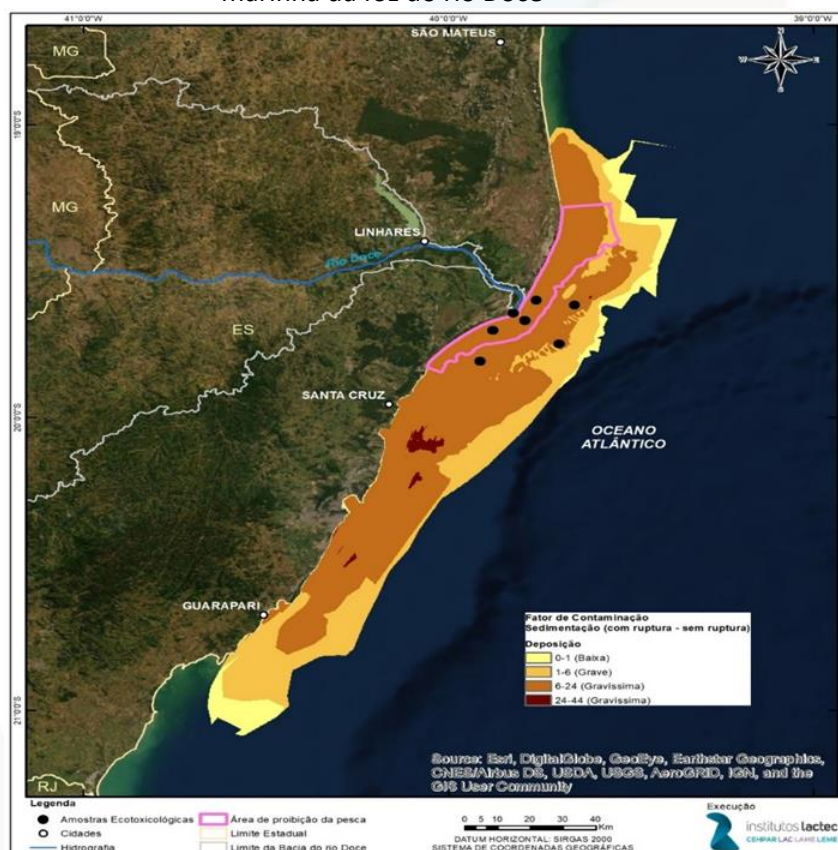


Figura 191. Mapa da delimitação da área de proibição da pesca (em magenta) e da sedimentação de rejeito proveniente do rompimento da Barragem de Fundão, em Marina - MG na região esturina-marinha da foz do rio Doce



É muito importante mencionar que todas as espécies químicas, essenciais ou não, apresentam a potencialidade de causar efeitos prejudiciais, os quais são referidos como adversos ou tóxicos, tanto à biota quanto à saúde humana (OMS, 2008). Dentre os elementos acumulados pelos peixes Al, As, Cd, Cu e Hg são reconhecidamente tóxicos, uma vez que não possuem qualquer função metabólica e que seus efeitos sobre a biota normalmente são deletérios (FÖRSTNER; WITTMANN, 1981; EISLER, 2000; WOOD, 2012; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2014; ALI; KHAN; 2018). Os elementos Cr, Fe, Mn e Se, embora sejam considerados essenciais, pois, são importantes para a fisiologia e como constituintes de vários organismos vivos (FÖRSTNER; WITTMANN, 1981; EISLER, 2000; WOOD, 2012; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2014), em elevadas concentrações podem ser considerados tóxicos (FÖRSTNER; WITTMANN, 1981; NRIAGU, 1988; EISLER, 2000; ANDRADE, 2003; FERREIRA, 2003; JOYEUX; CAMPANHA FILHO; JESUS, 2004; GUILHERME et al., 2005; RAMOS, 2005; QUEIROZ, 2006; SOUZA, 2007; VAREJÃO, 2008; MORAIS, 2009; SILVA, 2010; WOOD, 2012; SALES, 2013; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2014; MAIA, 2017). Apesar disso, dentre os elementos determinados no tecido muscular dos peixes, apenas quatro (As, Cd, Hg e Pb) possuem limites máximos estabelecidos pela legislação brasileira que tem como objetivo estabelecer limites máximos de contaminantes inorgânicos em pescado destinado ao consumo humano (ANVISA, 2013). Desses elementos, apenas o As apresentou concentrações que ultrapassaram o limite máximo legislado, no entanto, essa violação ocorreu em todos os pontos e campanhas avaliadas, exceto para o ponto PA na campanha 3, na qual a concentração determinada ultrapassou 50% do limite permitido (Tabela 81).

Tabela 81. Média da concentração de As (mg.kg^{-1} PU) determinada no tecido muscular de peixes capturados em cada um dos pontos e campanhas

	Compartimento 4		Compartimento 5					
	PA	FRD	Próximos da costa			Distantes da costa		
			MAR PT1	MAR PT3	MAR PT5	MAR PT2	MAR PT4	MAR PT6
C1		1,565	2,853	10,819		13,351		
C2	5,523	8,549	20,635	32,117	22,123	26,422	15,613	6,042
C3	0,675	1,739	12,887	16,084	2,053	14,211	1,677	5,159
C4	1,416	2,425	3,918	8,283	7,257	4,680	6,616	7,715

Células vermelhas correspondem aos pontos e campanhas cujas concentrações de As foram superiores aos limites legislados. Célula amarela corresponde ao ponto e campanha cuja concentração foi inferior ao limite legislado, mas, superior a 50% do mesmo. Células em branco correspondem a pontos e campanhas cujos animais não foram capturados. Os valores apresentados correspondem a média dos resultados obtidos para cada um dos pontos em cada uma das campanhas realizadas.

Com relação as concentrações das espécies metálicas (As^{3+} , As^{5+} e MeHg) determinadas no presente estudo, é de extrema importância registrar que essas apresentam elevada toxicidade e reconhecida capacidade de serem bioacumulados e biomagnificados (LANSENS; LEERMAKERS; BAEYENS, 1991; WAGEMANN et al., 1997; RAMOS, 2005; MARŠÁLEK; SVOBODOVÁ, 2006; MIRANDA

et al., 2007; JECFA FAO/WHO, 2011; WHO, 2011; EFSA, 2012; WOOD, 2012; NAVIN et al., 2013; BASTOS DA SILVA; BARRIO; MOREIRA, 2014; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2014; ALI; KHAN; 2018; IARC, 2018). As concentrações das espécies metálicas determinadas nesse trabalho foram muito similares às observada no estudo de avaliação quali e quantitativa de elementos potencialmente tóxicos (metais e semimetais) em pescado proveniente da área de proibição da pesca - região entre a Barra do Riacho, em Aracruz, e Degredo/Ipiranguinha, em Linhares, litoral do Espírito Santo (BRASIL (MPF)/LACTEC (2020f) Estudos descrevem que tanto a forma elementar quanto as espécies de As são tóxicas. Dados sobre a ocorrência de As nos alimentos demonstram que peixes e frutos do mar representam mais de 90% da exposição total a este elemento através da alimentação. Devido a isso, o As tem sido classificado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (International Agency for Research on Cancer - IARC) como pertencente ao grupo 1, grupo dos elementos carcinogênicos. No entanto, a toxicidade é dependente do seu estado de valência, ou seja, aumenta em função da valência, tal como: $As(0) < As(III) < As(V)$. Sabe-se, inclusive, que a forma inorgânica As^{3+} (arsenito) é cerca de 60 vezes mais tóxica que a forma inorgânica As^{5+} (arsenato) (IPCS, 2001; RAMOS, 2005; MUNIZ; OLIVEIRA-FILHO, 2006; DENOBILE, 2007; WHO, 2011; NAVIN et al., 2013; BASTOS DA SILVA; BARRIO; MOREIRA, 2014; CARNEIRO et al. 2018; IARC, 2018; BYRNS; PENNING, 2019).

O MeHg, por sua vez, é a forma mais tóxica do Hg, uma vez que possui alta estabilidade, solubilidade e propriedades iônicas que favorecem sua penetração nas membranas de organismos vivos sendo, inclusive, capaz de atravessar as barreiras hematoencefálica e placentária, assim como ser excretado no leite materno. Grande parte ou, até mesmo, a totalidade do Hg quantificado em músculos de pescado está sob a forma de MeHg (LANSENS; LEERMAKERS; BAEYENS, 1991; WAGEMANN et al., 1997; RAMOS, 2005; MARŠÁLEK; SVOBODOVÁ, 2006; MIRANDA et al., 2007; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2014). O pescado é, inclusive, a principal fonte de exposição alimentar ao MeHg (EFSA, 2012; US EPA, 2016). Apesar da relevância dessas espécies metálicas (As^{3+} , As^{5+} e MeHg) no que tange aos efeitos que as mesmas podem causar, não existe no Brasil legislação que estabeleça limites máximos para as mesmas, seja para a proteção da biota ou da saúde humana. Porém, como os organismos aquáticos concentram EPTs em quantidades superiores às encontradas nos demais compartimentos do ambiente (água e sedimento), os mesmos são considerados responsáveis pela dinâmica de ciclagem desses elementos nos ecossistemas, atuando na exportação entre os ambientes aquáticos e terrestres, via cadeia alimentar, ampliando o risco humano à contaminação (RAMOS, 2005; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2014). Ainda, como toda a região costeira adjacente à foz do rio Doce representa uma das principais áreas de recursos pesqueiros no estado, de onde são obtidos recursos por meio de diversas modalidades de pesca (UFES, 2013), concluiu-se que o consumo de pescado de toda a região acometida pelo desastre pode se caracterizar como uma forte de contaminação e risco para a saúde da população local, quiçá nacional, uma vez que a ingestão de alimentos contendo EPTs

é a principal forma de contaminação humana para populações expostas de forma não ocupacional (RAMOS, 2005; DENOBILE, 2007; FERNANDES et al., 2016, BRASIL (MPF)/LACTEC, 2020f).

Apesar de todas as alterações apresentadas pelos biomarcadores e ao acúmulo de elevadas concentrações de EPTs, os peixes capturados tanto no compartimento 4 quanto no compartimento 5 não apresentaram alterações em suas estruturas reprodutivas (gônadas), bem como nas células das linhagens germinativas (ovogênese e espermatogênese). Algumas espécies, inclusive, estavam em atividade reprodutiva, independentemente do compartimento avaliado. Apesar disso, como já mencionado, durante o período considerado no presente relatório somente 2,12% corresponderam a exemplares jovens. A reprodução em peixes é de fundamental importância e implica na manutenção da riqueza de espécies, nos estoques pesqueiros e no equilíbrio do referido ecossistema. As condições de saúde dos animais refletem, diretamente, sobre o sucesso na reprodução (VAZZOLER, 1996). Além disso, EPTs são reconhecidos por afetar negativamente a reprodução em peixes (SFAKIANAKIS et al., 2015; MERÇON et al., 2021). Desse modo, a ausência de alterações nas gônadas dos indivíduos capturados não indica ausência de risco de comprometimento das funções reprodutivas e, conseqüentemente, de manutenção das espécies, mas talvez, aumento no investimento reprodutivo, que é utilizado como uma tática diante de pressões ambientais, como a contaminação, por exemplo. Nestas condições, os peixes investem energia de modo a garantir o sucesso reprodutivo e, conseqüentemente, a geração da prole, a sobrevivência da espécie e equilíbrio da população (VAZZOLER, 1996).

Com base nos resultados apresentados, os danos aos peixes capturados nos compartimentos 4 e 5 foram classificados quanto:

d) Gravidade:

Todos os EPTs avaliados foram determinados nos tecidos muscular e hepático dos peixes capturados em ambos os compartimentos, alguns em concentrações bastante superiores às determinadas em estudos pré-desastre. Aliado a isso, observou-se que os peixes apresentaram diversos biomarcadores alterados, especialmente os biomarcadores relacionados aos sistemas fisiológicos de osmorregulação e equilíbrio ácido-base. Ainda, considerando a RDC nº42/2013 que trata de limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos e determina limites máximos de As, Cd, Hg e Pb em peixes (crus, congelados ou resfriados), evidencia-se que as concentrações de As total no tecido muscular estão acima do limite permitido por esta resolução, que é de 1 mg kg^{-1} . Os peixes apresentaram, inclusive, de forma bastante representativa, as espécies metálicas As^{3+} , As^{5+} e MeHg, reconhecidamente tóxicas. Não obstante, devido a ausência de diretrizes que determinem as concentrações de EPTs consideradas seguras à saúde animal e ambiental e, ao fato de que diversos

estudos, avaliando os efeitos destes contaminantes no ambiente, demonstram que concentrações por vezes na ordem de micro ou nanograma são suficientes para promover prejuízos à saúde dos organismos avaliados conclui-se que os danos observados nos peixes de ambos os compartimentos são **gravíssimos**.

e) Reversibilidade:

Os peixes capturados em ambos os compartimentos apresentaram um quadro claro de acidose metabólica, desequilíbrio que representa não somente uma grave alteração na condição de saúde, mas sim elevado risco de morte aos indivíduos afetados. Não obstante, os EPTs afetaram outros processos essenciais à sobrevivência dos organismos, como a atividade da enzima AChE, por exemplo, o que demonstra que esses animais apresentam não somente alterações na saúde, mas também, no padrão comportamental e no *fitness* o que irá, cedo ou tarde, comprometer a dinâmica de relações inter e intra-específicas, bem como a reprodução, desenvolvimento e a sobrevivência desses animais. Ainda, embora os animais não tenham apresentado alterações em suas estruturas reprodutivas, fêmeas tendem a acumular maiores concentrações de EPTs, os quais são reconhecidos como disruptores endócrinos. Assim, é inevitável supor que haverá prejuízos às populações desses indivíduos no futuro. Desse modo, os danos identificados foram considerados **irreversíveis**.

f) Tendência:

Embora as concentrações de EPTs possam variar no tempo e no espaço, a disponibilidade destes, mesmo que em menores concentrações, não vão deixar de ocorrer, especialmente, porque esses elementos continuam disponíveis no ambiente. Ainda, dada a persistência desses elementos no meio e a dependência desses organismos ao ambiente aquático a **tendência dos danos é aumentar**. Não obstante, estudos apontam que a associação entre vários elementos em misturas complexas, bem como a interação desses com fatores abióticos amplificam os efeitos sobre os peixes, sugere-se, desse modo, o monitoramento contínuo dos aspectos ecológicos e ecotoxicológicos desses organismos para melhor acompanhamento dos danos.

3.1.2.7. ANÁLISE DAS RELAÇÕES ENTRE AS MÉTRICAS ECOTOXICOLÓGICAS E A ABUNDÂNCIA E A RIQUEZA DE ESPÉCIES DE PEIXES CONTINENTAIS

Os dados aqui apresentados demonstram alterações teciduais e fisiológicas nos exemplares coletados dentro da APDL, ou seja, acometidas pelo rompimento da Barragem do Fundão (DA) e nos pontos Controle Positivo (CP). O detalhamento das respostas dos biomarcadores encontra-se nas

seções subsequentes, sendo possível também demonstrar a predição das métricas de Abundância e Riqueza de espécies de peixes a partir da resposta integrada de biomarcadores prescrita (IBR).

3.1.2.7.1. AGRUPAMENTO DE CATEGORIAS DE BIOMARCADORES

Biomarcadores fisiológicos

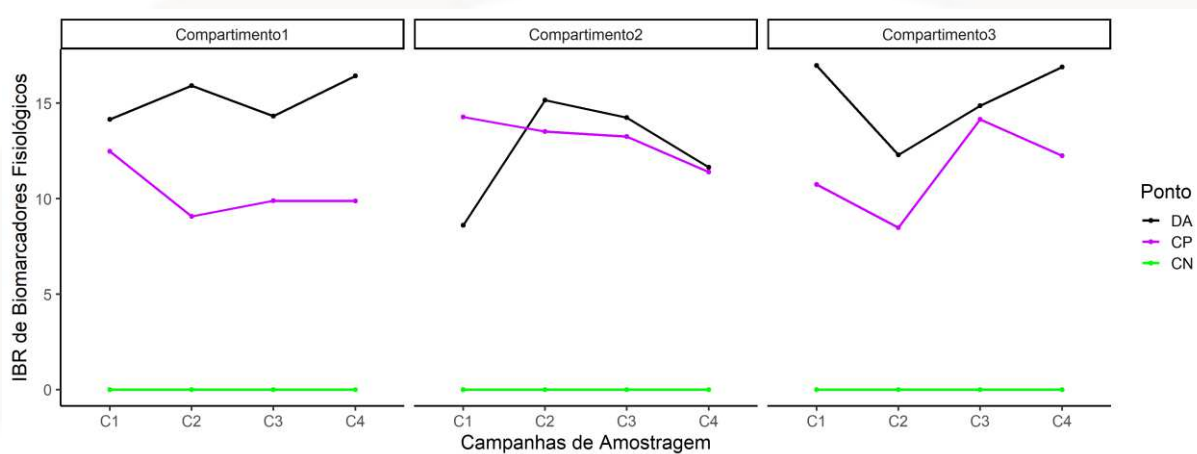
Observou-se que nos 3 Compartimentos os valores de IBR dos animais coletados em DA foram, com apenas uma exceção (Campanha 1 do Compartimento 2), mais altos do que nos peixes amostrados em CP. Tais alterações foram mais evidentes nos Compartimentos 1 e 3, sendo os valores obtidos nas Campanhas 1 e 4 (secas) do Compartimento 3, os mais altos dentre todos (Figura 192).

Os altos valores observados nos indivíduos coletados em DA do Compartimento 1 corroboram com os efeitos diretos dos danos decorrentes do rompimento da Barragem do Fundão nesta área, a qual acumulou uma elevada quantidade de rejeito na calha e margens dos rios acometidos. Os valores obtidos nos animais coletados em DA do Compartimento 2 foram mais próximos aos de CP. Contudo, mesmo havendo esta proximidade, podemos afirmar que houve uma maior alteração nas respostas dos peixes de DA em relação aos de CP, mesmo estes últimos já estando sujeitos à contaminação prévia do local. Dois fatores devem ser considerados em relação ao Compartimento 2. Um deles é a existência de vários tributários na região, e o outro é a localização do Vale do Aço neste Compartimento, região na qual está instalada o maior complexo siderúrgico da América Latina, com destaque para a Companhia Siderúrgica Belgo Mineira, a ACESITA e a USIMINAS (CONSÓRCIO ECOPLAN-LUME, 2010), sendo considerada uma região altamente antropizada e de contaminação intensa dos leitos de rios. Entretanto, a instalação das indústrias nesta região é estratégica, visto o fato de que, dentre as 3 áreas amostradas, o Compartimento 2 é a região com um maior número de tributários, o que promove a diluição dos contaminantes e o menor acúmulo de EPTs (elementos potencialmente tóxicos). Estes dois fatores podem explicar a semelhança dos valores dos animais obtidos em DA e CP, porém também confirmam a necessidade de serem realizados mais estudos para o monitoramento deste compartimento (Figura 192). No Compartimento 3 observou-se um padrão de resposta semelhante entre DA e CP, havendo um comportamento inicial de decréscimo na resposta seguida por um aumento nas Campanhas 3 e 4. Embora as respostas de CP e DA tenham sido relativamente próximas, as manifestadas pelos animais coletados em DA foram superiores às observadas nos animais de CP, indicando dano decorrente do desastre (Figura 192).

Em síntese, as respostas dos biomarcadores fisiológicos foram, em geral, mais alteradas nos animais coletados em DA em comparação aos amostrados em CP (Figura 192), e tais respostas fisiológicas evidenciaram a alteração funcional de células e tecidos de animais coletados em DA. Logo,

se existem efeitos fisiológicos, a higidez dos peixes pode ter sido afetada, prejudicando o fitness animal.

Figura 192. Resposta integrada de biomarcadores (IBR) fisiológicos dos peixes capturados em cada ponto de coleta (Compartimentos 1, 2 e 3), ao longo das Campanhas de amostragem (C1, C2, C3 e C4)



DA – Área de Passagem e Deposição da Lama - APDL; CP –Controle Positivo; CN –Controle Negativo

Biomarcadores metabólicos

No Compartimento 1, região mais próxima ao desastre, observou-se que os valores da IBR na Campanha 3 (C3) (com alta precipitação pluviométrica) foram menores quando confrontados aos de CP. O aumento das respostas nos animais de DA nas épocas de chuva reflete a ressuspensão dos EPTs e do material particulado fino depositado no leito e nas margens do rio Doce, fato este corroborado pelo alto valor de precipitação observado, principalmente, na Campanha 3 (Tabela 3; Figura 8).

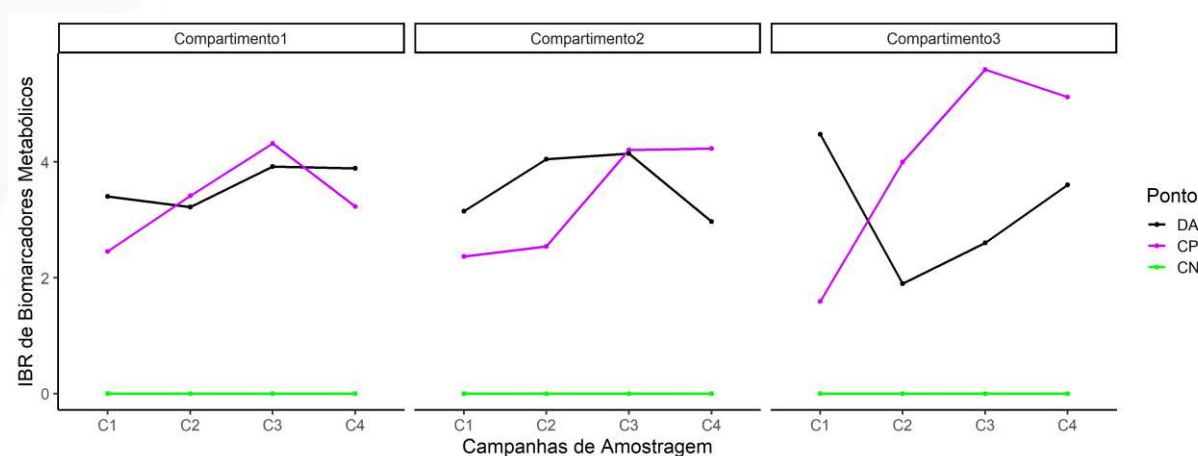
No Compartimento 2 notamos valores mais altos da IBR nos animais coletados em DA em relação aos obtidos em CP nas duas primeiras Campanhas (C1 e C2), evidenciando o efeito do desastre. Na Campanha 4, contudo, que corresponde a um período de baixa precipitação pluviométrica, o valor da IBR dos animais de DA diminuiu em relação aos observados em CP, ou seja, as respostas dos peixes de DA estiveram menos alteradas do que as dos exemplares de CP, sendo estes animais comumente expostos à antropização local existente no local (Figura 193).

No Compartimento 3, observamos um valor mais alto da IBR entre os animais coletados em DA quando comparados aos de CP apenas na Campanha 1, o que indica efeito do desastre sobre o metabolismo dos peixes. Porém, nas Campanhas subsequentes (C2, C3 e C4), os valores das respostas dos peixes em DA apresentaram-se abaixo dos animais de CP, o que pode sugerir um menor dano ao metabolismo energético destes animais, ou adaptação dos organismos frente à exposição crônica aos contaminantes. Aqui percebemos a importância de que o acompanhamento desta região seja

realizado por mais tempo, pois só então poderemos diferenciar os efeitos diretos do rompimento da Barragem do Fundão, das características prévias existentes na área (Figura 193).

Em síntese, observando-se apenas as respostas dos biomarcadores metabólicos para os peixes de DA, notou-se um aumento dos valores do IBR em DA, Campanha 3 (estação chuvosa) no Compartimento 1, e nas Campanhas 2 e 3 no Compartimento 2, sendo provavelmente uma consequência da ressuspensão, com consequente aumento da biodisponibilidade dos EPTs depositados no leito e nas margens do rio Doce (Figura 193).

Figura 193. Resposta integrada de biomarcadores (IBR) metabólicos dos peixes capturados em cada ponto de coleta (Compartimentos 1, 2 e 3), ao longo das Campanhas de amostragem (C1, C2, C3 e C4)



DA – Área de Passagem e Deposição da Lama - APDL; CP – Controle Positivo; CN – Controle Negativo

Biomarcadores do sistema antioxidante e de biotransformação em brânquias

No Compartimento 1 os peixes coletados em DA, na Campanha 1, apresentaram IBRs com valores baixos, o que pode ser uma resposta à menor biodisponibilidade de EPTs no período de menor precipitação pluviométrica (seca) (Tabela 3; Figura 8). Contudo, nas Campanhas 2 e 3 houve uma elevação dos valores da IBR nos animais de DA em relação aos de CP, evidenciando o dano causado pelo desastre em decorrência da ressuspensão do rejeito depositado no leito e nas margens do rio Doce no período de maior precipitação pluviométrica (Figura 8). A evidência de biodisponibilidade de EPTs está traduzida no somatório da concentração de EPTs bioacumulados na musculatura dos animais ao longo das Campanhas. Verificou-se a elevação abrupta de metais bioacumulados na musculatura dos animais coletados em DA do Compartimento 1, na Campanha 2, sendo que a precipitação nos meses amostrados nessa Campanha foi a maior de todo o período de duração da pesquisa (Tabela 3; Figura 8).

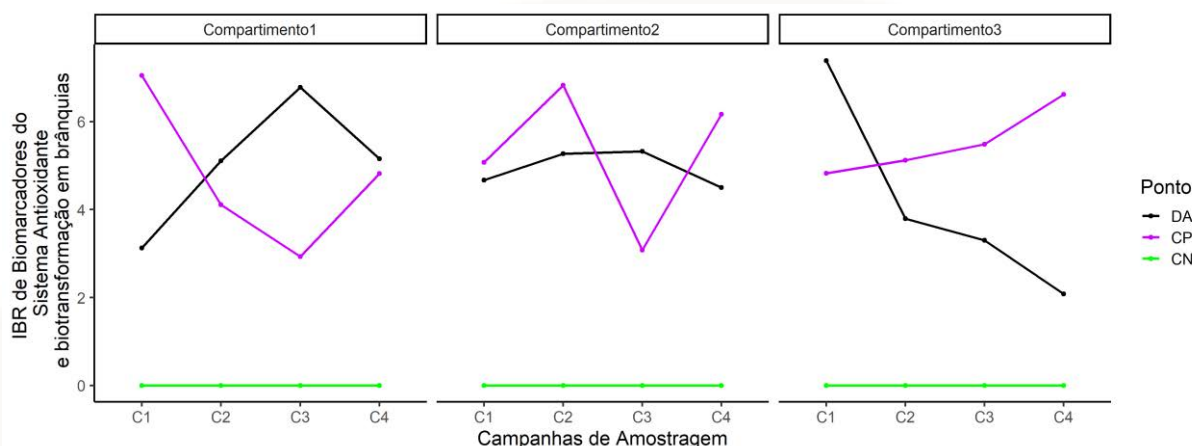
No Compartimento 2 somente os valores da IBR dos animais coletados em DA durante a Campanha 3 foram mais altos do que os obtidos em CP. A constância de valores da IBR entre os animais de DA pode refletir o maior fluxo e vazão de tributários presentes na região, contudo a confirmação

desta afirmação seria possível apenas com a realização de tais medidas, as quais não foram feitas no presente trabalho (Figura 194).

No Compartimento 3 notamos que somente a Campanha 1 exibiu valores com IBRs maiores nos peixes de DA do que nos de CP. Entretanto, ao analisarmos as respostas com o passar do tempo, notamos uma alteração no valor de IBR do sistema antioxidante e de biotransformação em brânquias. Sugere-se, portanto, a hipótese de inicial ativação dos biomarcadores SOD, GR e GST do sistema antioxidante e de biotransformação em brânquias dos peixes coletados em DA, seguida pela diminuição destas atividades com o passar do tempo (vide valores de A dos biomarcadores), sendo este comportamento de diminuição do sistema antioxidante um possível efeito do dano estabelecido pelo rompimento da Barragem do Fundão (Figura 194).

Em síntese, as respostas dos biomarcadores do sistema antioxidante e de biotransformação em brânquias obtidas no Compartimento 1 indicaram, durante a Campanha 1, um padrão de valores baixos nos animais de DA, evidenciando uma alteração da capacidade de resposta diante da menor biodisponibilidade de EPTs no período de seca. Contudo, a elevação observada nas Campanhas seguintes (2 e 3) nos espécimes de DA sugerem uma resposta direta ao aumento do dano causado pelo desastre em função da ressuspensão de EPTs depositados no leito e margens do rio Doce em períodos de maior precipitação pluviométrica. Na Campanha 2 houve um aumento abrupto de metais bioacumulados na musculatura dos animais, refletindo que a cada ressuspensão do rejeito depositado, ou maior biodisponibilização dos EPTs, haverá novos efeitos sobre as respostas de defesa dos peixes, as quais podem se manifestar por respostas dos biomarcadores (Figura 194). No Compartimento 2 observamos apenas os valores da IBR dos animais coletados em DA sendo mais altos durante a Campanha 3, do que os obtidos em CP, porém com um comportamento semelhante entre as campanhas (DA), ou seja, sem variação temporal significativa (Figura 194). Já no Compartimento 3 notamos que somente a Campanha 1 exibiu valores com IBRs maiores nos peixes de DA do que nos de CP (Figura 194).

Figura 194. Resposta integrada de biomarcadores (IBR) do sistema antioxidante e de biotransformação em brânquias dos peixes capturados em cada ponto de coleta (Compartimentos 1, 2 e 3), ao longo das Campanhas de amostragem (C1, C2, C3 e C4)



DA – Área de Passagem e Deposição da Lama - APDL; CP –Controle Positivo; CN –Controle Negativo

Biomarcadores não-enzimáticos em brânquias

No Compartimento 1 observamos os maiores valores da IBR nos peixes de DA durante o período de maior precipitação pluviométrica (C2 e C3), quando comparados aos de CP, indicando que o material tóxico resultante do desabamento da barreira foi ressuspensionado, afetando os peixes do local e elevando os valores da IBR (Figura 195). Valores mais altos foram observados também para os animais de DA em C4, sendo provavelmente decorrentes dos EPTs transportados de C3 até o local. Resultado similar foi observado para a IBR do sistema antioxidante e de biotransformação em brânquias dos peixes coletados (Figura 194).

Os valores da IBR mais altos foram observados nos exemplares do DA do Compartimento 2, principalmente nas Campanhas 1 e 3, o que nos permite inferir que houve uma resposta direta dos animais desta localidade ao desastre supracitado. Ressalta-se, ainda, que o comportamento de resposta dos animais coletados em DA é o oposto ao observado entre os obtidos em CP, fato este que sustenta o dano decorrente do desastre (Figura 194). Deve-se lembrar ainda que esta região possui alta antropização por estar localizada no Vale do Aço e, mesmo assim, os valores dos peixes de DA foram superiores aos dos animais de CP, os quais já estavam expostos à contaminação prévia.

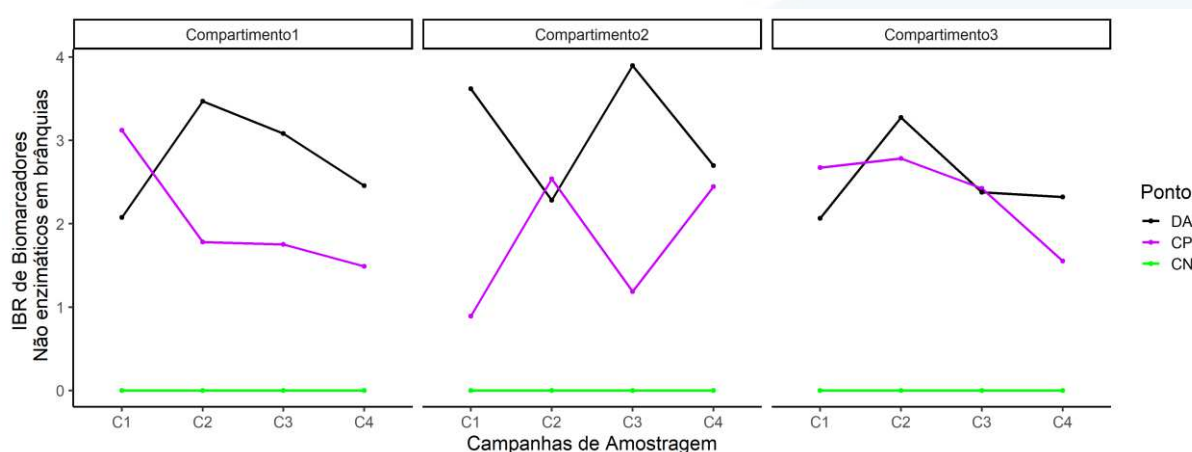
Notou-se uma similaridade no padrão de valores da IBR dos animais da área DA dos Compartimentos 1 e 3, havendo uma tendência semelhante de aumento na Campanha 2, com subsequente queda. Como descrito anteriormente, tal padrão provavelmente tenha ocorrido também devido à ressuspensão dos EPTs depositados no rio Doce (Tabela 3; Figura 8).

Um resultado interessante foi observado no Compartimento 2. Neste houve um pico no valor obtido nos animais de DA em relação aos de CP na Campanha 3 (chuvosa), fato isolado e não observado em nenhum outro IBR. Além disso, este valor apresentou-se de maneira oposta ao obtido nos animais

coletados em CP, nos permitindo sustentar a existência e a permanência de um efeito direto decorrente do desastre.

Em síntese, os Compartimentos 1 e 3 apresentaram um padrão de respostas semelhantes ao longo das Campanhas, havendo uma tendência inicial de aumento, com uma subsequente queda nos valores das IBRs. Os baixos valores observados nas Campanhas C1 e C4 destes Compartimentos podem ter ocorrido por terem sido realizadas em períodos de baixa precipitação pluviométrica (seca), nos quais os EPTs depositados no leito e nas margens do rio Doce estavam menos biodisponíveis. Iniciando-se o período de maior precipitação pluviométrica (C2 e C3), este material tóxico foi ressuspensionado, afetando os peixes do local e causando o incremento nos valores da IBR. O Compartimento 1 foi o mais afetado pelo desastre, uma vez que os valores dos peixes de DA mostraram-se superiores aos de CP em 3 das 4 coletas (Figura 195).

Figura 195. Resposta integrada de biomarcadores (IBR) não enzimáticos em brânquias dos peixes capturados em cada ponto de coleta (Compartimentos 1, 2 e 3), ao longo das Campanhas de amostragem (C1, C2, C3 e C4)



DA – Área de Passagem e Deposição da Lama - APDL; CP –Controle Positivo; CN –Controle Negativo

Biomarcadores do sistema antioxidante e de biotransformação em fígado

Observando os valores da IBR dos animais das áreas DA dos 3 Compartimentos, notamos que na maioria das Campanhas os valores foram mais elevados do que nos animais de CP, principalmente no Compartimento 1, fato que corrobora com a hipótese de efeito direto dos EPTs sobre o sistema antioxidante e de biotransformação do tecido hepático dos peixes (Figura 196). Neste Compartimento os maiores valores da IBR foram obtidos na estação chuvosa (Campanha 3), reforçando novamente os argumentos relacionados à ressuspensão do rejeito por ação das chuvas (Tabela 3; Figura 8; Figura 196).

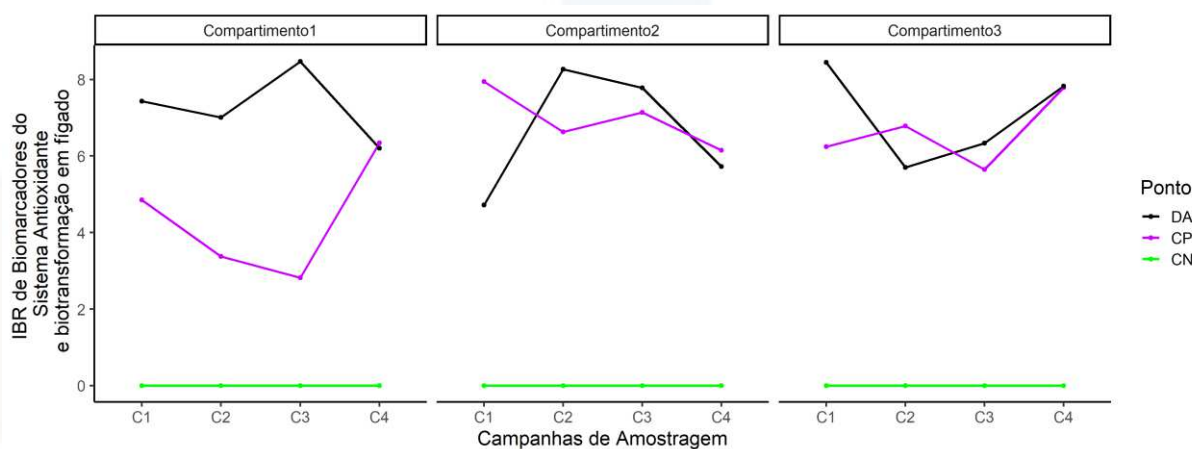
Padrão semelhante foi observado no Compartimento 2, sendo que os valores mais altos da IBR foram exibidos para os peixes durante as estações chuvosas, e os menores, nas épocas mais secas

(Figura 196). Devemos novamente salientar que os animais de DA apresentaram respostas mais elevadas do que os de CP durante as Campanhas de maior pluviosidade, mesmo considerando que esta região apresenta uma elevada antropização em função da intensa atividade siderúrgica.

Os peixes coletados em DA do Compartimento 3 não mostraram o mesmo padrão de resposta dos demais Compartimentos, sendo que os valores mais altos da IBR foram exibidos nas Campanhas com pouca chuva (1 e 4), e os mais baixos, nas mais chuvosas (2 e 3). Contudo, deve-se ater ao fato de que este local possui uma certa urbanização, o que pode influenciar as respostas obtidas. Não havendo dados pretéritos para comparação, e sim apenas os Controles Negativos e Positivos, não temos como afirmar que estes resultados são consequências do desastre, ou padrões pré-existentes do local (Figura 196).

Em síntese, nos três Compartimentos pôde-se observar valores mais altos nos peixes de DA do que que nos animais de CP, corroborando com a hipótese de ter havido efeito direto dos EPTs provenientes da lama dos rejeitos sobre o sistema antioxidante e de biotransformação do tecido hepático dos peixes. Os Compartimentos 1 e 2 apresentaram comportamentos semelhantes, sendo os menores valores obtidos nos peixes das Campanhas mais secas (1 e 4), significando provavelmente uma consequência da baixa biodisponibilidade dos EPTs depositados no leito e nas margens do rio. Os maiores valores das IBRs foram obtidos nas estações mais chuvosas (Campanhas 2 e 3), o que reforça novamente os argumentos relacionados à ressuspensão do rejeito por ação das chuvas e danos consequentes do desastre (Figura 196).

Figura 196. Resposta integrada de biomarcadores (IBR) do sistema antioxidante e de biotransformação em fígado dos peixes capturados em cada ponto de coleta (Compartimentos 1, 2 e 3), ao longo das Campanhas de amostragem (C1, C2, C3 e C4)



DA – Área de Passagem e Deposição da Lama - APDL; CP –Controle Positivo; CN –Controle Negativo

Biomarcadores não-enzimáticos em fígado

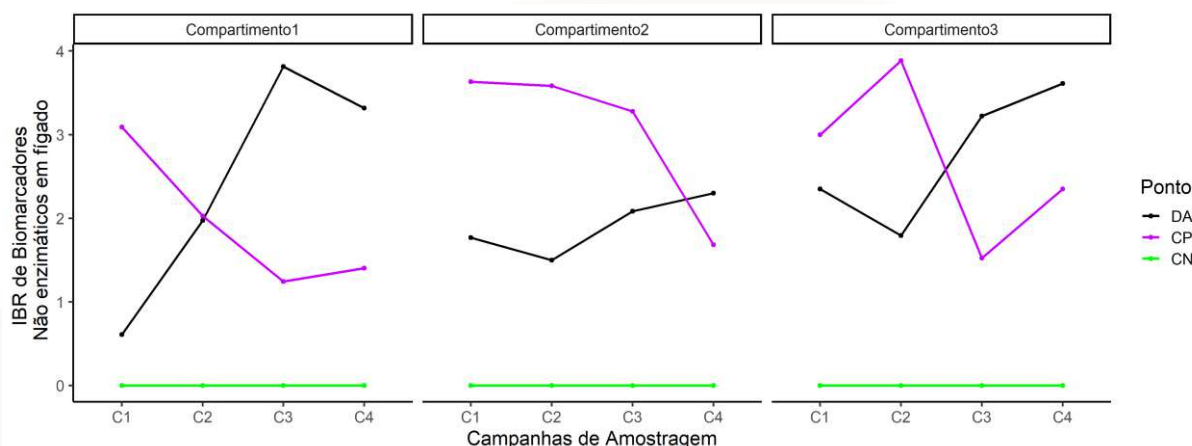
Um dado bastante conspícuo foi o valor da IBR dos animais coletados em DA durante a Campanha 1 no Compartimento 1, os quais inicialmente mostravam-se próximos a CN, porém apresentaram drástica elevação a partir de Campanha 2. A elevação da pluviosidade a partir da Campanha 2 causou um subsequente aumento nos valores das respostas dos animais, sendo esse resultado um efeito da ressuspensão de rejeitos depositados no rio Doce (Figura 197).

As respostas obtidas dos peixes amostrados em DA do Compartimento 2, ao longo das Campanhas, apresentaram valores inferiores quando comparadas aos espécimes do CP, com exceção de C4. É importante salientar que os animais que habitavam previamente esta área já estavam provavelmente em contato com tóxicos devido ao Vale do Aço (CONSÓRCIO ECOPLAN - LUME, 2010), o que pode explicar os valores obtidos para os exemplares em CP. Os animais de DA provavelmente apresentaram uma diminuição na capacidade da resposta devido à constante renovação de água existente no local, já que o Compartimento 2 possui mais tributários do que os outros, havendo um maior fluxo e vazão das águas locais (Figura 197).

No Compartimento 3 observamos uma elevação das IBRs com o passar do tempo (C2 a C4). Em C3 e C4 os valores das respostas dos animais de DA foram mais elevados do que nos peixes coletados em CP, evidenciando efeitos decorrentes do desastre. O que pode estar ocorrendo é o transporte do rejeito tóxico das outras localidades amostradas para esta, havendo o acúmulo de EPTs e a provável ressuspensão destes a partir do início das chuvas, durante a Campanha 2 (Figura 197).

Em síntese, observamos valores altos de respostas para os peixes de DA na Campanha 3 (chuvosa), sendo um provável efeito da ressuspensão de rejeitos depositados (EPTs) no rio Doce. O aumento das IBRs dos animais de DA no Compartimento 3 ao longo do tempo (C2 a C4) evidenciam efeitos resultantes do desastre, visto que foram valores mais elevados do que os encontrados entre os animais coletados em CP (Figura 197).

Figura 197. Resposta integrada de biomarcadores (IBR) não enzimáticos em fígado dos peixes capturados em cada ponto de coleta (Compartimentos 1, 2 e 3), ao longo das Campanhas de amostragem (C1, C2, C3 e C4)



DA – Área de Passagem e Deposição da Lama - APDL; CP –Controle Positivo; CN –Controle Negativo

Biomarcadores relativos à neurotoxicidade

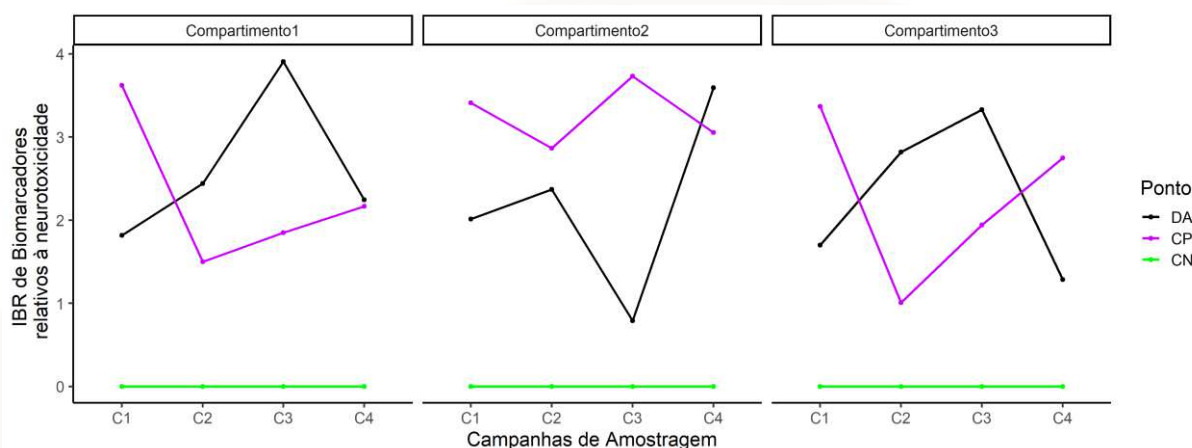
Os animais coletados em DA do Compartimento 1 apresentaram um padrão da IBR antagônico ao observado para os obtidos em CP. Ressalta-se que a elevação da resposta destes peixes em DA, assim como já observado em outros agrupamentos de biomarcadores, ocorreu nas Campanhas de amostragem com uma maior precipitação pluviométrica (C2 e C3), sugerindo, novamente, que tal efeito tenha ocorrido em função da ressuspensão dos EPTs depositados no leito e nas margens do rio Doce (Figura 198).

No Compartimento 2, apenas os dados dos peixes amostrados em DA na última Campanha foram maiores do que os observados nos animais coletados em CP (Figura 198).

Por fim, o padrão exibido no Compartimento 3 foi o mesmo já relatado para outros biomarcadores, havendo menores valores da IBR nos animais coletados nas Campanhas mais secas (1 e 4), do que nas Campanhas com maiores índices pluviométricos (2 e 3) (Tabela 3; Figura 8). Esta tendência foi acima descrita para o Compartimento 1, indicando essa maior incidência de danos neurotóxicos como um possível efeito do dano do rompimento da barragem do Fundão (Figura 198).

Em síntese, o incremento da resposta destes animais, como já discutido para outros agrupamentos de biomarcadores, ocorreu nas Campanhas de amostragem com maior precipitação pluviométrica (C2 e C3), nos Compartimentos 1 e 3, sugerindo que tal efeito tenha advindo em função da ressuspensão dos EPTs depositados no leito e nas margens do rio Doce, indicando que a incidência de danos neurotóxicos também constituiu um efeito do desastre do rompimento da barragem do Fundão (Figura 198).

Figura 198. Resposta integrada de biomarcadores (IBR) relativos à neurotoxicidade dos peixes capturados em cada ponto de coleta (Compartimentos 1, 2 e 3), ao longo das Campanhas de amostragem (C1, C2, C3 e C4)



DA – Área de Passagem e Deposição da Lama - APDL; CP –Controle Positivo; CN –Controle Negativo

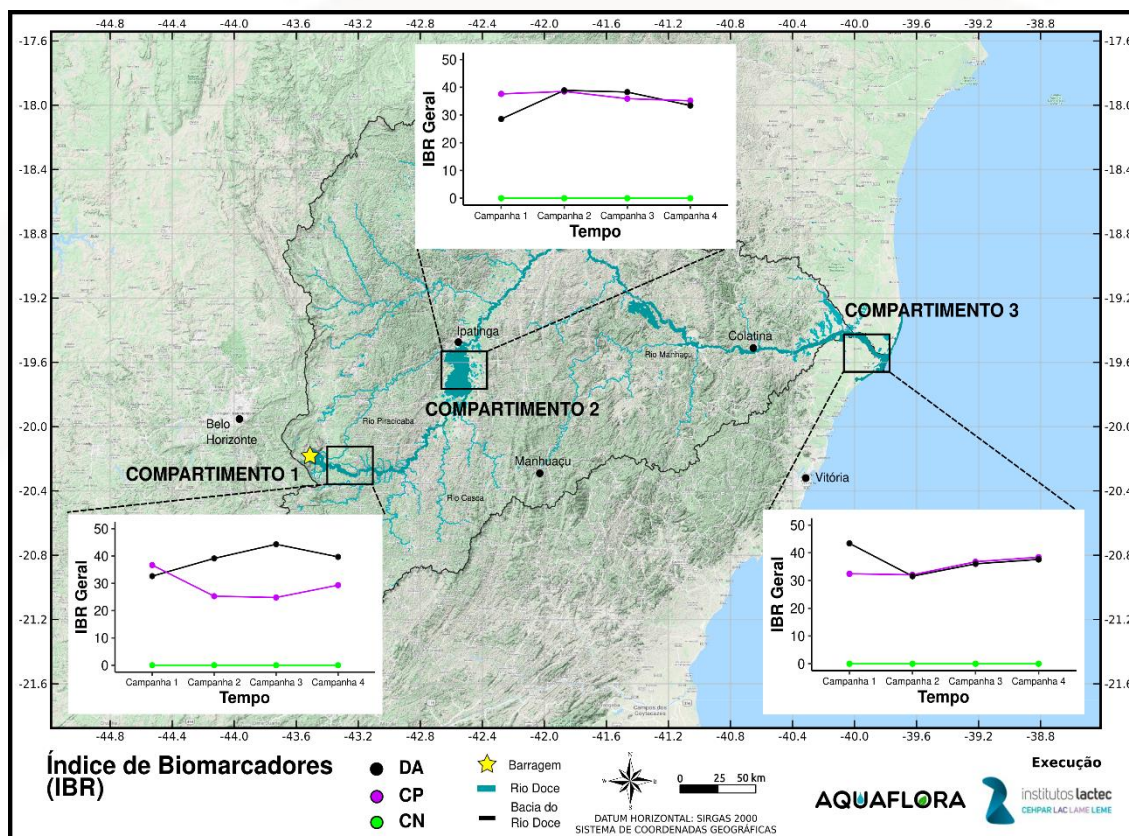
IBR Geral

As inferências discutidas acima para os biomarcadores analisados mostraram uma certa dificuldade de se chegar a relações de causa e efeito. Contudo, observamos que o desastre do rompimento da barragem do Fundão causou danos nos biomarcadores dos peixes amostrados nos três Compartimentos do rio Doce. A dificuldade de estabelecer esta relação ocorreu principalmente pelo fato de não termos dados ambientais pretéritos ao rompimento da barragem, assim como estudos ecotoxicológicos realizados antes do desastre. Contudo, tal limitação foi atenuada pelas comparações realizadas entre os animais dos Controles Negativos e Positivos (CN e CP), o que possibilitou a discussão sobre a relação de causa e efeito do rompimento da Barragem do Fundão sobre os peixes.

Visando facilitar a compreensão das respostas obtidas nestas avaliações, foram calculadas as Respostas Integradas Gerais dos Biomarcadores (IBR Geral) a fim de evidenciar os resultados do desastre (Figura 199). Com base nestas sínteses podemos afirmar que os danos ocorreram em todos os Compartimentos, porém de forma mais intensa e evidente no Compartimento 1 do rio Doce, sendo os valores da IBR Geral obtidos nos peixes de DA mais elevados do que os exibidos para os animais coletados em CP.

Observando os dados da IBR Geral para os animais coletados nos Compartimentos 2 e 3, notamos que os valores absolutos são similares entre os animais coletados em DA e CP (Figura 199). Porém, quando os agrupamentos de biomarcadores fisiológicos, metabólicos, dos sistemas antioxidante e de biotransformação em brânquias e fígado, não-enzimáticos em brânquias e fígado, e de neurotoxicidade foram analisados separadamente, foi possível verificar maiores danos nos peixes dos pontos DA em determinadas campanhas, como pode ser observado nas Figura 192 a Figura 198.

Figura 199. Respostas integradas gerais de biomarcadores (IBR Geral) dos peixes capturados em cada ponto de coleta (Compartimentos 1, 2 e 3), ao longo das Campanhas de amostragem (C1, C2, C3 e C4)

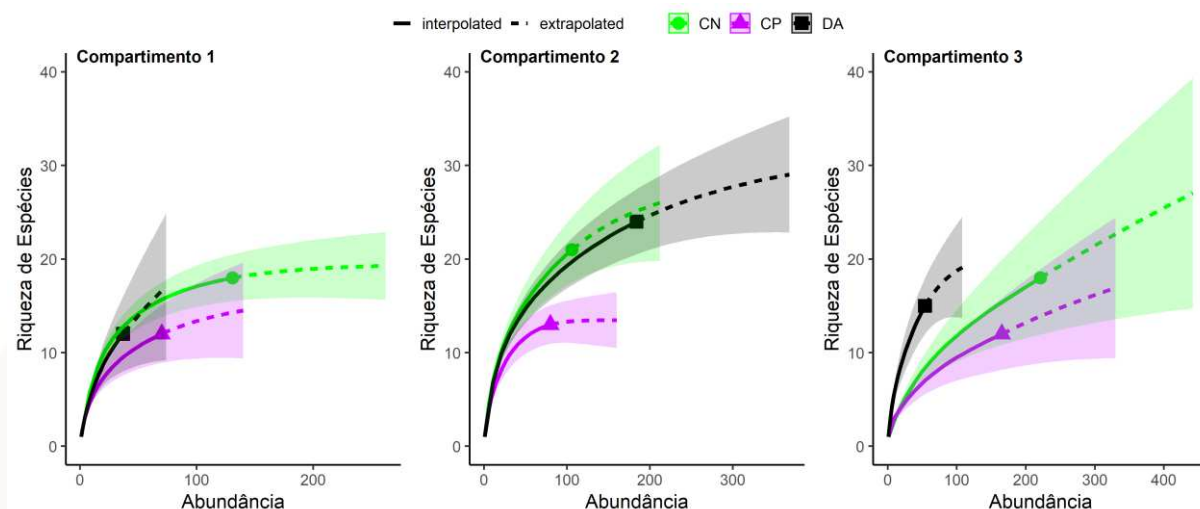


DA – Área de Passagem e Deposição da Lama - APDL; CP – Controle Positivo; CN – Controle Negativo

3.1.2.7.2. ATRIBUTOS ECOLÓGICOS

As principais métricas de análise em ecologia estão pautadas na Abundância, na Riqueza e na Composição de espécies (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2010). Diante de tal fato, e analisando brevemente os atributos ecológicos obtidos nos pontos de amostragem, foi possível notar que em alguns pontos de amostragem não se obteve a completude da comunidade a partir das amostras realizadas, como por exemplo, Ponto DA do Compartimento 1, Ponto CN do Compartimento 2 e Pontos DA e CN do Compartimento 3 (Figura 200). Tais dados evidenciam a necessidade de serem realizadas coletas futuras com diversos tipos de artefatos de pesca como forma de amostrar toda a comunidade de peixes da região e promover maior garantia da inferência dos danos à biodiversidade em função da alteração da higidez animal.

Figura 200. Curvas de rarefação (Riqueza de espécies em função de Abundância) para os pontos de amostragem (CN, CP e DA) dos Compartimentos 1,2 e 3



As espécies *Astyanax bimaculatus* (PAIVA; DERGAM; MACHADO, 2006), *Geophagus aff. brasiliensis* (FEDATTO ABELHA; GOULART, 2004), *Hoplosternum littorale* (HAHN; ALMEIDA; LUZ, 1997), *Hypostomus affinis* (DUARTE; ARAÚJO; BAZZOLI, 2011), *Knodus moenkhausii* (CENEVIVA-BASTOS; CASATTI, 2007), *Loricariichthys castaneus* (FERREIRA et al., 2013), *Megaleporinus conirostris* (RRDM, 2019), *Oligosarcus acutirostris* (RRDM, 2019), *Oligosarcus argenteus* (RRDM, 2019), *Pachyurus adpersus* (AZEVEDO et al., 2017), *Pimelodus maculatus* (LIMA-JUNIOR; GOITEIN, 2003) e *Pygocentrus nattereri* (BEHR; SIGNOR, 2008) foram classificadas como abundantes e frequentes, o que pode indicar o oportunismo da ocorrência, visto que são classificadas como espécies generalistas e/ou plásticas (Tabela 82).

Tabela 82. Composição, % numérica, classificação da % numérica, frequência de ocorrência nos pontos de amostragem, classificação de frequência de ocorrência

Composição	% Numérica	Classificação % Numérica	Frequência de ocorrência	Classificação de frequência de ocorrência
<i>Astronotus ocelatus</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Astyanax bimaculatus</i>	6.20%	abundante	15	Frequente
<i>Astyanax fasciatus</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Astyanax sp.</i>	0.38%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Centropomus parallelus</i>	0.86%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Cichla kelberi</i>	1.43%	não abundante	4	Ocasionais
<i>Clarias gariepinus</i>	0.48%	não abundante	5	Frequente
<i>Coptodon rendalli</i>	0.19%	não abundante	2	Ocasionais
<i>Crenicichla lacustris</i>	0.76%	não abundante	4	Ocasionais
<i>Delturus carinotus</i>	0.48%	não abundante	2	Ocasionais
<i>Geophagus aff. brasiliensis</i>	7.92%	abundante	12	Frequente
<i>Gymnotus carapo</i>	0.86%	não abundante	3	Ocasionais
<i>Harttia sp.</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Hoplias aff. malabaricus</i>	1.81%	não abundante	12	Frequente
<i>Hoplias brasiliensis</i>	0.95%	não abundante	7	Frequente
<i>Hoplias intermedius</i>	0.57%	não abundante	5	Frequente
<i>Hoplosternum littorale</i>	15.46%	abundante	10	Frequente
<i>Hypostomus affinis</i>	2.48%	abundante	10	Frequente
<i>Hypostomus luetkeni</i>	1.53%	não abundante	7	Frequente
<i>Hypostomus sp.</i>	0.57%	não abundante	3	Ocasionais
<i>Knodus moenkhausii</i>	21.18%	abundante	5	Frequente
<i>Leporinus copelandii</i>	0.29%	não abundante	2	Ocasionais
<i>Lophiosilurus alexandri</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Loricariichthys castaneus</i>	6.49%	abundante	13	Frequente
<i>Megaleporinus conirostris</i>	2.86%	abundante	7	Frequente
<i>Megaleporinus obtusidens</i>	0.19%	não abundante	2	Ocasionais
<i>Megaleporinus reinhardti</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Metynnis lippincottianus</i>	0.19%	não abundante	2	Ocasionais
<i>Metynnis sp.</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Mugil curema</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Mugil liza</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Oligosarcus acutirostris</i>	2.58%	abundante	7	Frequente
<i>Oligosarcus argenteus</i>	6.01%	abundante	7	Frequente
<i>Oreochromis niloticus</i>	2.19%	abundante	4	Ocasionais
<i>Pachyrurus adpersus</i>	3.34%	abundante	9	Frequente
<i>Piaractus sp.</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Pimelodella sp.</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Pimelodus cf. pohli</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Pimelodus maculatus</i>	2.58%	abundante	7	Frequente
<i>Poecilia vivipara</i>	0.19%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Pogonopoma weithermerii</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Prochilodus lineatus</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Prochilodus vimboides</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Pseudauchenipterus affinis</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Pterygoplichthys ambrosettii</i>	0.48%	não abundante	2	Ocasionais
<i>Pygocentrus nattereri</i>	4.39%	abundante	5	Frequente
<i>Pygocentrus piraya</i>	0.48%	não abundante	2	Ocasionais
<i>Rhamdia quelen</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Rineloricaria sp.</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Serrasalmus marginatus</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Steindachnerina elegans</i>	0.10%	não abundante	1	Ocasionais
<i>Trachelyopterus striatulus</i>	1.81%	não abundante	5	Frequente

3.1.2.7.3. RELAÇÃO ENTRE A SAÚDE ANIMAL E A ABUNDÂNCIA E RIQUEZA DE PEIXES

O objetivo desta etapa foi identificar quais das variáveis relativas à saúde dos animais (analisada pelos agrupamentos de biomarcadores fisiológicos, metabólicos, sistema antioxidante e biotransformação em brânquias e fígado, não enzimáticos de brânquias e fígado, e neurotoxicidade) podem ter contribuído para a variação da Abundância e da Riqueza da comunidade ictiíca dos Compartimentos da bacia do rio Doce. Cada Campanha, por ponto de amostragem, foi considerada como réplica no intuito de compreender a variação da Abundância e da Riqueza da comunidade de peixes.

Nesta etapa do trabalho utilizamos apenas dados obtidos dos peixes capturados para a avaliação ecotoxicológica cujas Campanhas de amostragem foram coincidentes às Campanhas de coleta de peixes utilizados para avaliações ecológicas populacionais e de comunidade. Desta forma, foram utilizadas as Campanhas: 1 (período seco), 3 (período chuvoso) e 4 (período seco) das amostragens, sendo estas relacionadas, respectivamente, com as Campanhas 1, 4 e 6 de amostragem de peixes para avaliações ecológicas. Para maiores detalhes técnicos sobre a construção dos Modelos de Abundância e Riqueza, vide APÊNDICE B.

Saúde animal x Abundância

Em geral, os valores de Abundância de peixes das áreas DA apresentaram-se abaixo, ou muito próximos, aos obtidos para as áreas CP (APÊNDICE B), o que indica efeito do desastre do rompimento da barragem sobre a biota de peixes do local. Tal resposta é coerente quando observamos os valores do Compartimento 1, local mais próximo ao desastre, no qual a Campanha 3 exibiu valores reduzidos de Abundância em DA (ressaltando que não houve coleta de peixes em DA durante a C4, no Compartimento 1, como já citado). Além disso, esta resposta obtida no Compartimento 1 está associada indiretamente aos biomarcadores fisiológicos e não enzimáticos de brânquias, ou seja, ao maior comprometimento deste tecido e destes sistemas. Assim, depreende-se que quanto maiores os valores da IBR destes, menores os valores de Abundância, que pode ser um indicativo de aumento de mortalidade, conforme demonstrado por FEIST et al. (2011). Os dados técnicos referentes à construção dos modelos encontram-se em material suplementar.

As respostas fisiológicas e os biomarcadores não-enzimáticos dos tecidos branquiais afetaram a Abundância de espécimes de peixes coletados principalmente nos Compartimentos 1 e 3. Este resultado, em adição às evidências de maior biodisponibilidade aos EPTs em suspensão na água do rio Doce, principalmente nos períodos de maior precipitação, parece estar associado à alteração da atividade da anidrase carbônica (AC), da $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ (NAK) e da $\text{H}^+\text{-ATPase}$ nos biomarcadores fisiológicos, e ao aumento da concentração da GSH (glutathiona reduzida) entre os biomarcadores não-enzimáticos das brânquias dos animais coletados em DA do Compartimento 1 (Vide valores de A no

item 3.1.2.7.1). Este grupo de biomarcadores apresenta grande influência sobre a homeostasia básica e respostas de osmorregulação, mecanismos diretamente relacionados à defesa do organismo.

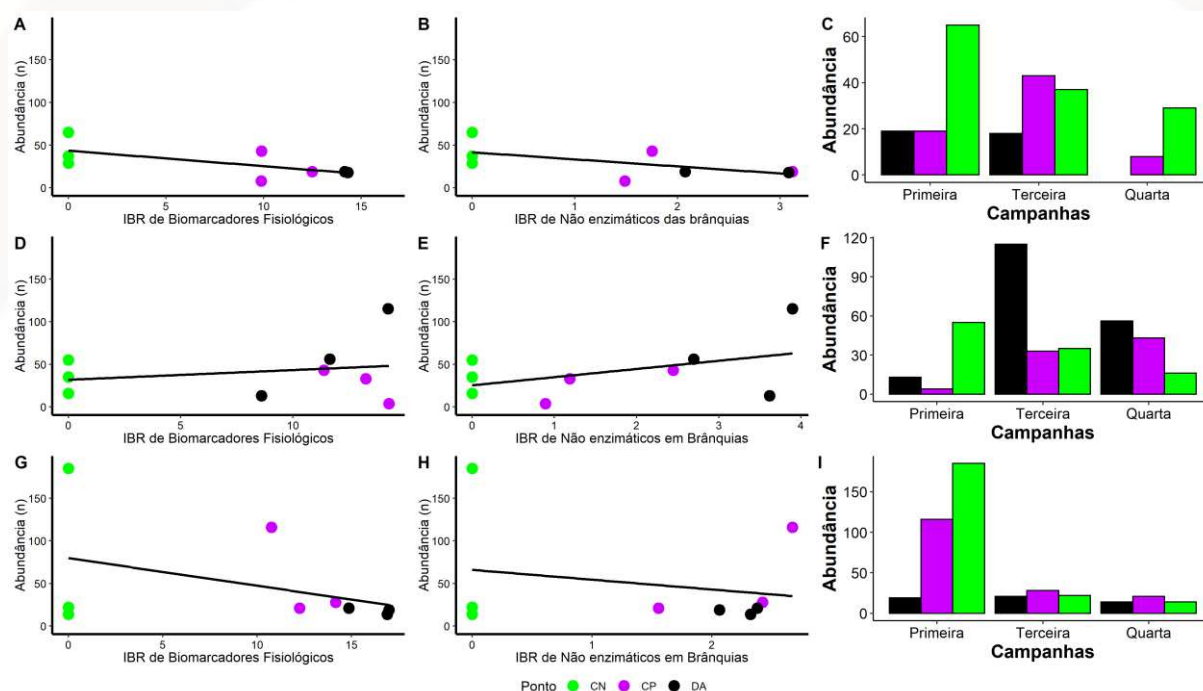
No Compartimento 2, as variáveis preditoras selecionadas pareceram não afetar diretamente a Abundância da comunidade ictíica local, sendo tal fato possivelmente relacionado com a intercomunicação com diferentes afluentes, havendo desta forma uma maior movimentação dos animais em busca de condições mais adequadas para a sobrevivência. Quanto aos animais coletados no Compartimento 3, observou-se uma redução da Abundância induzida pelo aumento da atividade da enzima Anidrase Carbônica (AC) no tecido branquial, uma elevação do íon magnésio no plasma e um aumento de glutathione reduzida (GSH) e da metalotioneína nas brânquias dos peixes amostrados em DA.

Considerando que: i) a anidrase carbônica (AC) é uma enzima cujo papel interfere no transporte do CO₂ e no controle do pH sanguíneo; ii) a bomba sódio potássio (NAK) é uma proteína transmembrana cuja atividade enzimática tem o papel de transportar íons de potássio e sódio contra os respectivos gradientes de concentração; e iii) a bomba H⁺-ATPase consiste também em uma proteína transmembrana cuja função é efetuar o transporte ativo de prótons através das membrana biológicas contra o gradiente de concentração, pode-se inferir que a ativação destes biomarcadores nos peixes reflete a necessidade fisiológica de garantir que não haja uma perda ainda maior de íons por difusão, considerando que naturalmente já ocorre esta tendência. Tal alteração fisiológica pode estar associada à maior exposição aos EPTs ressuspensos do rejeito depositado no leito e nas margens do rio Doce, visto que entre os animais coletados nos pontos DA dos Compartimentos 1 e 3 observou-se o aumento da concentração das glutathiones reduzidas (GSH), cuja função está associada à proteção de todos os tipos celulares contra os efeitos deletérios de xenobióticos e estresse oxidativo. Além disso, especialmente nos animais coletados em DA do Compartimento 3, observou-se uma elevação na atividade das metalotioneínas, proteínas cuja função está associada ao transporte, à armazenagem e à detoxificação de metais, ao metabolismo de metais essenciais e à proteção contra metais tóxicos e radicais livres (LINDE-ARIAS et al., 2008).

Uma questão deve ainda ser levantada. No Compartimento 2 não foi detectada relação inversa entre a Abundância e as IBRs, como observada nos demais Compartimentos. Além disso, os valores das Abundâncias dos animais de DA neste Compartimento foram maiores do que os dos exemplares de CP, sendo difícil estabelecer uma relação direta entre o desastre e os danos na comunidade ictíica. Contudo, devemos reforçar que este local é o mais antropizado e poluído dentre os amostrados, e apresenta o maior número de afluentes. Podemos propor a hipótese de que os peixes coletados nessa área sejam mais resistentes à poluição, pois já habitavam uma região altamente impactada e com várias áreas de fuga, visto que há um maior número de afluentes na região. Como já citado, ao se

analisar a relação entre os valores de Abundância e as variáveis preditoras dos animais coletados no Compartimento 2, não foi possível detectar respostas diretas relacionadas ao desastre (Figura 201).

Figura 201. Diagramas de dispersão entre a variável resposta Abundância (eixo y) e as variáveis fisiológicas preditoras (eixo x). Compartimento 1 - A) IBR de Biomarcadores Fisiológicos x Abundância; B) IBR de Não-enzimáticos das Brânquias x Abundância; C) Campanhas x Abundância. Compartimento 2 - D) IBR de Biomarcadores Fisiológicos x Abundância; E) IBR de Não-enzimáticos das Brânquias x Abundância; F) Campanhas x Abundância. Compartimento 3 - G) IBR de Biomarcadores Fisiológicos x Abundância; H) IBR de Não-enzimáticos das Brânquias x Abundância; I) Campanhas x Abundância



Círculos ou colunas verdes correspondem às condições controle negativo (CN) de cada Compartimento; violeta às condições controle positivo (CP) e, preto às condições acometidas pela passagem da onda de lama (DA).

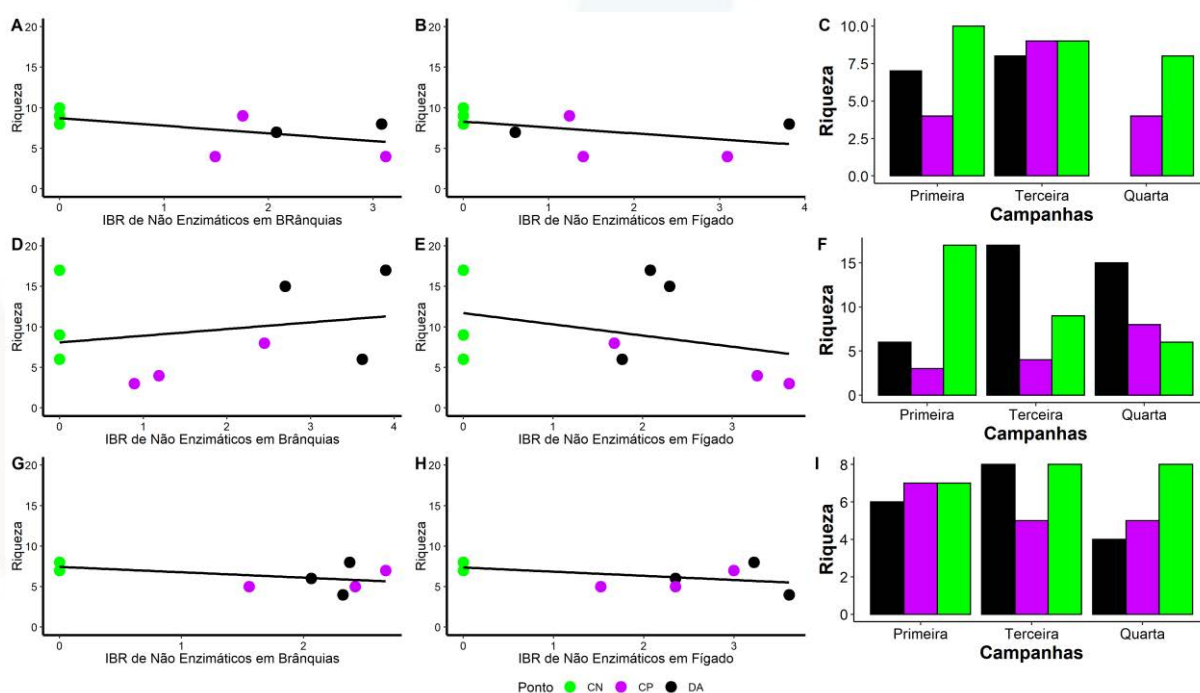
Saúde animal x Riqueza

No Compartimento 1, apenas as coletas da Campanha 4 indicaram um menor número de espécies na área DA quando comparada à CP (Figura 202), causando uma consequente alteração da Riqueza. Este dado foi corroborado com os valores exibidos nos gráficos de dispersão da Riqueza (A e B), nos quais se observaram que quanto maior o aumento das IBRs dos biomarcadores não-enzimáticos de brânquias e de fígado, menores os valores de Riqueza, indicando uma associação indireta entre eles. As respostas destes agrupamentos de biomarcadores parecem promover efeitos sobre a Riqueza das espécies de peixes, principalmente na Campanha 4 (Compartimentos 1 e 3). Para os peixes de DA do Compartimento 1 coletados na Campanha 4, foi observada uma redução drástica da Riqueza, sendo observado o aumento da concentração de GSH nas brânquias dos animais ali coletados, bem como da metalotioneína no fígado (Vide valores de A em item 3.1.2.7.1). Resultado similar foi observado no

ponto DA do Compartimento 3, na mesma Campanha de amostragem (4), sendo também observado como respostas o aumento de glutathiona reduzida (GSH) e da metalotioneína nas brânquias (não enzimáticos), havendo ainda uma drástica redução na concentração de glutathionas (GSH) no fígado (Vide valores de A em item 3.1.2.7.1).

Estas evidências, em adição às relações descritas no modelo de Abundância, indicam que a redução do número de indivíduos (Abundância) e do número de espécies (Riqueza) está associada especialmente à instalação de danos teciduais (resposta de biomarcadores não enzimáticos de brânquias). De acordo com HAMILTON et al. (2016), muitas populações de peixes estão expostas a níveis prejudiciais de poluição química, sendo que as pressões de seleção associadas a essas exposições levaram à evolução da tolerância. A base fisiológica para essas adaptações, de acordo com os autores, ainda é limitada, mas é provável que incluam processos envolvidos com a absorção, distribuição, metabolismo e/ou excreção do produto químico alvo. Outros mecanismos adaptativos potenciais incluem melhorias nas respostas antioxidantes, aumentos na capacidade de reparo do DNA e/ou tecido e alterações no ciclo de vida dos peixes, que permitem a reprodução mais precoce.

Figura 202. Diagramas de dispersão entre a variável resposta Riqueza (eixo y) e variáveis fisiológicas preditoras (eixo x). Compartimento 1 - A) IBR de Biomarcadores Não-enzimáticos de Brânquias x Riqueza; B) IBR de Biomarcadores Não-enzimáticos do Fígado x Riqueza; C) Campanhas x Riqueza. Compartimento 2 - A) IBR de Biomarcadores Não-enzimáticos de Brânquias x Riqueza; B) IBR de Biomarcadores Não-enzimáticos do Fígado x Riqueza; C) Campanhas x Riqueza. Compartimento 3 - A) IBR de Biomarcadores Não-enzimáticos de Brânquias x Riqueza; B) IBR de Biomarcadores Não-enzimáticos do Fígado x Riqueza; C) Campanhas x Riqueza



Círculos ou colunas verdes correspondem às condições controle negativo (CN) de cada Compartimento; violeta às condições controle positivo (CP) e, preto às condições acometidas pela passagem da onda de lama (DA).

Pode-se ainda levantar a hipótese de que a perda gradativa da capacidade de desintoxicação, bem como a alteração da osmorregulação, além de ativar os sistemas de defesa e biotransformação nas brânquias e no fígado, pode também ter promovido uma menor higidez nos animais, fazendo com que os indivíduos que apresentem tal condição tenham uma maior vulnerabilidade à predação e/ou uma menor capacidade reprodutiva, o que, a longo prazo, promove a redução da Abundância e da Riqueza da comunidade ictiíca.

Essa condição poderá causar uma drástica redução das populações locais de diferentes espécies de peixes, bem como acarretar a extinção destas, em especial daquelas que possuem um contato mais direto e intenso com o sedimento (local de maior deposição e concentração de EPTs), assim como previsto anteriormente em modelagens matemáticas (Vide valores no Relatório de Acompanhamento dos Danos – TOMO II – item 2.5). Em síntese, a perda da saúde animal ao longo do tempo tem refletido negativamente sobre as categorias ecológicas hierárquicas de populações (representadas pelo número de indivíduos - Abundância) e comunidades (Riqueza) dos peixes das áreas DA, sendo este resultado mais evidente nos Compartimentos 1 e 3. Consideramos que a resposta observada no Compartimento 1 possa estar diretamente associada ao efeito do dano do rompimento da Barragem do Fundão.

Vale ainda ressaltar a possibilidade de que nem todas as espécies de peixes tenham sido amostradas, uma vez que os artefatos de pesca são específicos para tamanhos e comportamentos dos animais (principalmente peixes nectônicos de coluna d'água), havendo a redução de probabilidade de coleta de peixes bentônicos, por exemplo. Isso pode ter ocorrido para todas os Compartimentos, contudo parece ter sido mais eminente no Compartimento 2, no qual, de acordo com os gráficos de rarefação (Figura 200), as Riquezas pareceram não atingir a assíntota, indicando que o esforço amostral realizado não foi suficiente para coletar todas as espécies de peixes da região. Resumindo, nesses locais não se obteve a completude da comunidade a partir das amostras realizadas. Tais dados evidenciam a necessidade de serem realizadas coletas futuras com diversos tipos de artefatos de pesca como forma de amostrar toda a comunidade de peixes da região, promover maior garantia da inferência dos danos à biodiversidade em função da alteração da higidez animal.

Nos pontos de amostragem CN e CP do Compartimento 1, DA e CP do Compartimento 2 e CP do Compartimento 3 o esforço de amostragem, analisado pela Abundância, foi suficiente para atingir a assíntota de Riqueza de espécies. Diante deste fato seria possível extrapolar a interpretação realizada nos modelos obtidos para Abundância, também para Riqueza, considerando as mesmas variáveis preditoras como explicativas da variação do número de espécies. Contudo, os pontos de amostragem de DA no Compartimento 1, CN do Compartimento 2 e CN e DA no Compartimento 3 não atingiram a

estabilidade nas curvas de rarefação, sendo, portanto, necessária a realização de modelos independentes para Riqueza.

No presente estudo, utilizando as respostas integradas dos biomarcadores (IBRs), foi possível responder à pergunta sobre qual foi a magnitude do dano decorrente do rompimento da barragem do Fundão sobre o potencial de ocorrência das espécies de peixes.

O Compartimento 1 foi o mais afetado pelo rompimento, sendo o local mais próximo ao desastre e o que apresentou as IBRs mais alteradas entre os peixes coletados em DA. O Compartimento 2, considerado o mais antropizado e poluído (CONSÓRCIO ECOPLAN-LUME, 2010), apresentou a fauna ictiíca local provavelmente com maior resistência, o que contribuiu negativamente para que fosse realizada a diferenciação das respostas pré-existentes, das geradas pelo desastre. O Compartimento 3 apresentou, para alguns biomarcadores, resultados semelhantes aos obtidos no Compartimento 1, nos peixes coletados em DA, indicando efeito direto do rompimento da Barragem do Fundão.

Em relação às diferentes Campanhas de amostragem, as que mais indicaram alterações nas respostas nos animais coletados foram as Campanhas 2 e 3, realizadas em épocas de alta pluviosidade. Nestas, o material tóxico acumulado nos leitos e nas margens do rio Doce foi ressuspensionado por ação das chuvas, tornando-se mais biodisponível, justificando o aumento dos danos aos animais.

Em relação às métricas ecológicas, as respostas destes agrupamentos de biomarcadores promoveram efeitos sobre a Abundância e a Riqueza das espécies de peixes, principalmente na Campanha 4 dos Compartimentos 1 e 3, sendo mais evidentes no 1. Quanto maiores os valores das IBRs preditoras, menores os valores de Abundância e de Riqueza, sendo tal relação um reflexo do dano fisiológico nos tecidos branquial e hepático dos peixes. Dentre estes, as brânquias apresentaram mais danos, resposta já esperada, uma vez que constituem o principal tecido de interface com o meio contaminado.

Com base nos resultados deste trabalho, em síntese, é possível afirmar que a alteração da saúde animal já está afetando a Abundância e, consequentemente, a Riqueza das espécies da comunidade ictiíca. Sendo assim, sugere-se a manutenção do monitoramento e das avaliações ecotoxicológicas a médio e longo prazo, utilizando-se diversas estratégias de amostragem.

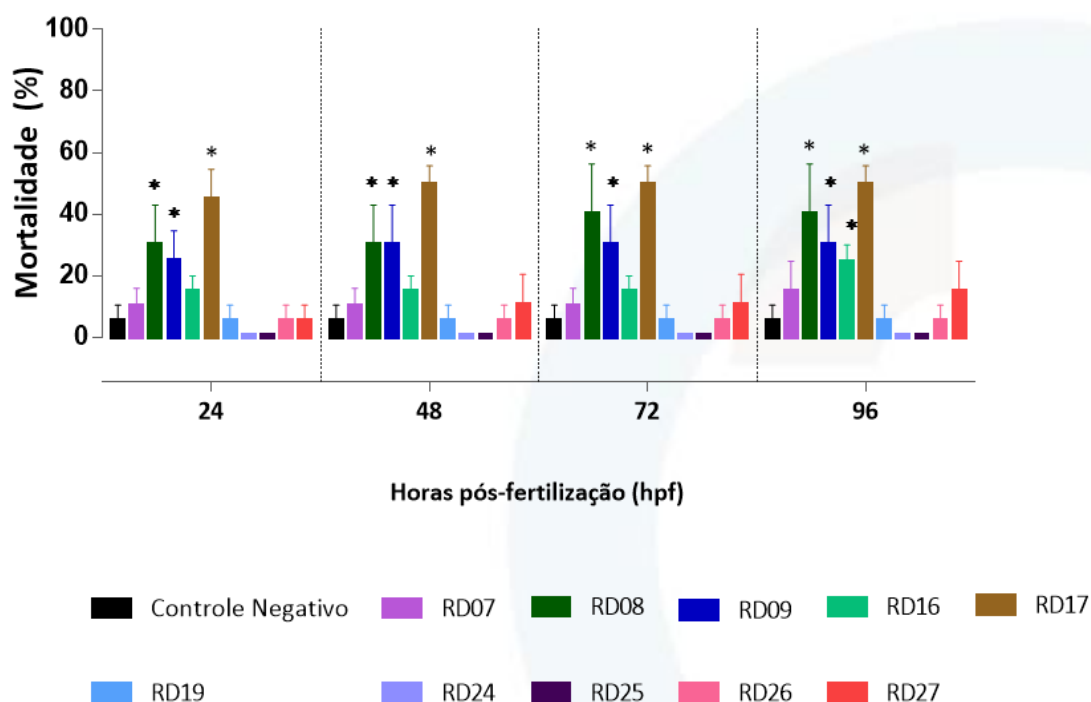
3.1.2.7.4. ANÁLISE DE TOXICIDADE COM AMOSTRAS DE ÁGUAS E SEDIMENTOS DA PORÇÃO CONTINENTAL EM EMBRIÕES DE DANIO RERIO (ZEBRAFISH)

Exposição à água da porção continental

Após a exposição, a água coletada na porção continental, pelo período de 96 após a fertilização (hpf) foi possível identificar que quando expostos as amostras RD08 (Rio Doce/Colatina – DA), RD09 (rio Pancas – CN), RD16 (rio Corrente Grande – CN) e RD17 (rio Doce/Gov. Valadares – DA) os embriões

de zebrafish apresentaram elevada mortalidade em comparação aos animais expostos ao meio controle negativo (E2). As amostras RD08 e RD09 causaram mortalidade no período de 24 hpf, entre 30 a 40%. Especificamente a amostra RD08 causou mortalidade de cerca de 30% no período de 24h, que se manteve até 48h e aumentou para 40% após 72h, mantendo constante em 40% até o final do experimento. A mortalidade induzida pela amostra RD16 foi significativa apenas no período de 96 hpf. A amostra que mais causou mortalidade foi a RD17, acima de 40% em 24h, chegando a 50% em 48h, ficando nesse patamar até 96 h (Figura 203).

Figura 203. Mortalidade induzida por amostras de águas em embriões e larvas de *Danio rerio*. Os embriões 0 hpf (n=5/poço/duplicata) foram tratados pela exposição ao meio E2 (controle negativo) ou 100 µL das amostras (RD07, RD08, RD09, RD16, RD17, RD19, RD24, RD25, RD26 e RD27). Os indivíduos foram analisados diariamente por um período de 4 dias (24, 48, 72 e 96 hpf - horas pós fertilização) para contagem de embriões ou larvas mortas. Não houve troca do meio

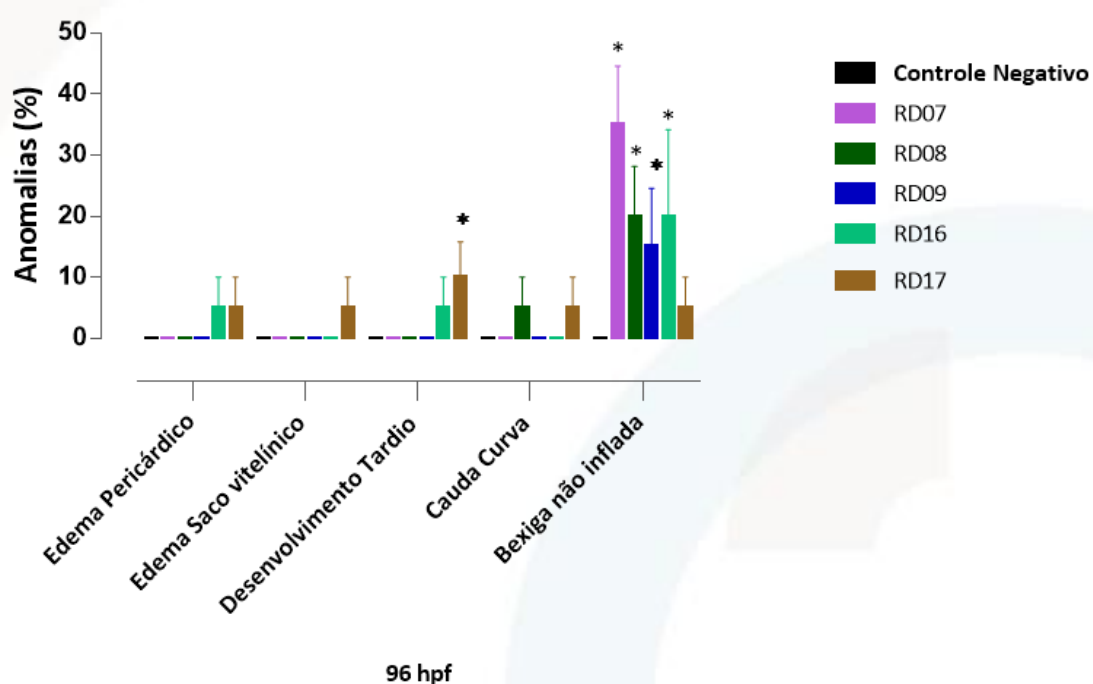


Barras representam a média da porcentagem de mortalidade para cada amostra avaliada + erro padrão da média (SEM). $p \leq 0,05$.

Quando avaliados quanto a presença de anomalias diante da exposição as águas da porção continental, verificou-se que apenas as amostras RD07 (rio Pequeno – CP), RD08 (rio Doce/Colatina – DA), RD09 (rio Pancas – CN), RD16 (rio Corrente Grande – CN) e RD17 (rio Doce/Gov. Valadares – DA) causaram efeitos, tais como: edema pericárdico, edema do saco vitelínico, desenvolvimento tardio, cauda curva e bexiga não inflada (Figura 204). As amostras RD07, RD08, RD09 e RD16 que induziram a

anomalia da bexiga não inflada (Figura 204; Figura 205). A amostra RD17, por sua vez, induziu ao desenvolvimento tardio (Figura 206). Ressalta-se que a amostra RD07 foi a que causou maior porcentagem de anomalias, conforme pode ser evidenciado na Figura 204.

Figura 204. Análise de malformações observadas em embriões e larvas de *Danio rerio* expostos a amostras de águas. Os embriões 0 hpf (n=5/poço/duplicata) foram tratados pela exposição ao meio E2 (controle negativo) ou 100 µL das amostras (RD07, RD08, RD09, RD16, RD17, RD19, RD24, RD25, RD26 e RD27). Os indivíduos foram analisados 96 hpf (horas pós fertilização), buscou-se anomalias quanto à morfologia das larvas e os defeitos foram elencados assim como a porcentagem dos indivíduos portadores das mesmas



Barras representam a média da porcentagem de anomalias para cada amostra de água avaliada + erro padrão da média (SEM). $p \leq 0,05$

Figura 205. Fotografias de larvas de *Danio rerio* em 96 hpf de exposição a: (A) controle negativo (meio E2) e (B-E) amostras de água. Setas vermelhas indicam a bexiga natatória, de aspecto normal e inflada em (A) e com anomalias, não inflada em (B – E).

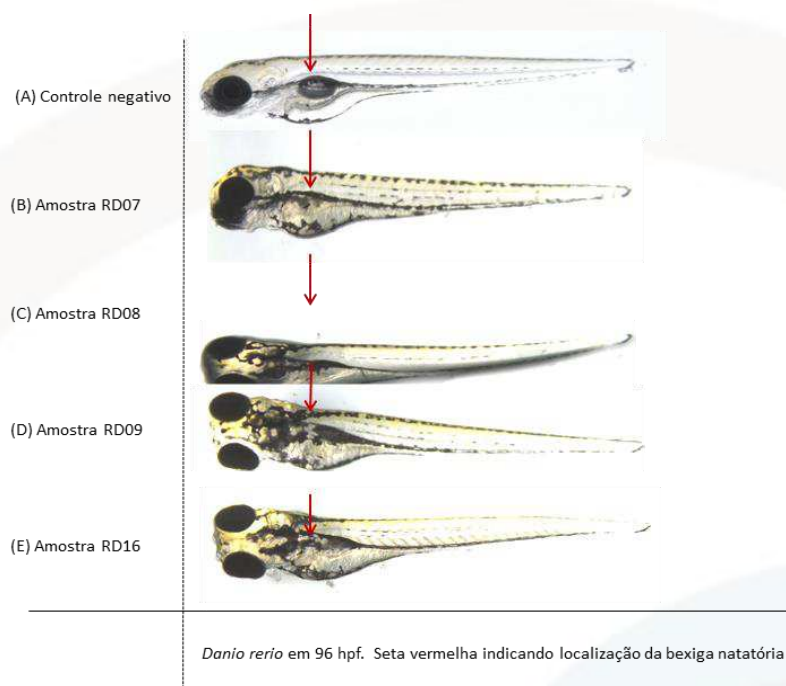
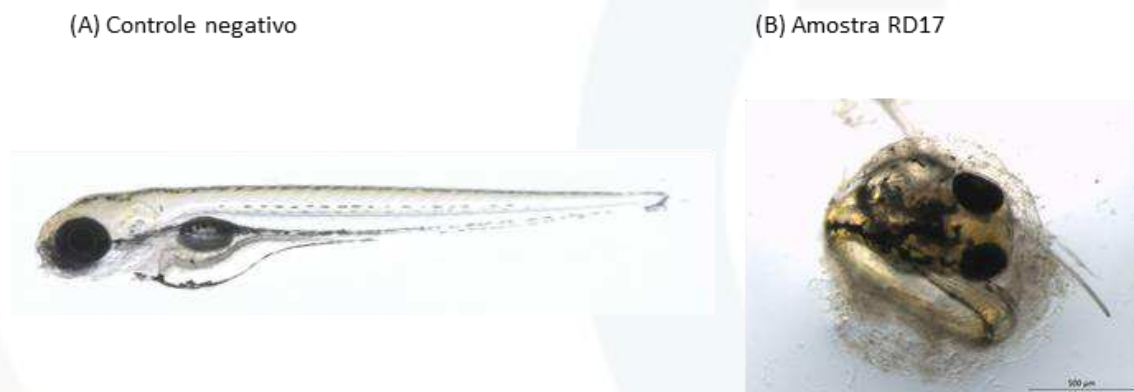


Figura 206. Fotografias de larvas de *Danio rerio* em 96 hpf de exposição a: (A) controle negativo (meio E2) e (B) amostra RD17 (rio Doce em Gov. Valadares – DA), que provocou desenvolvimento tardio

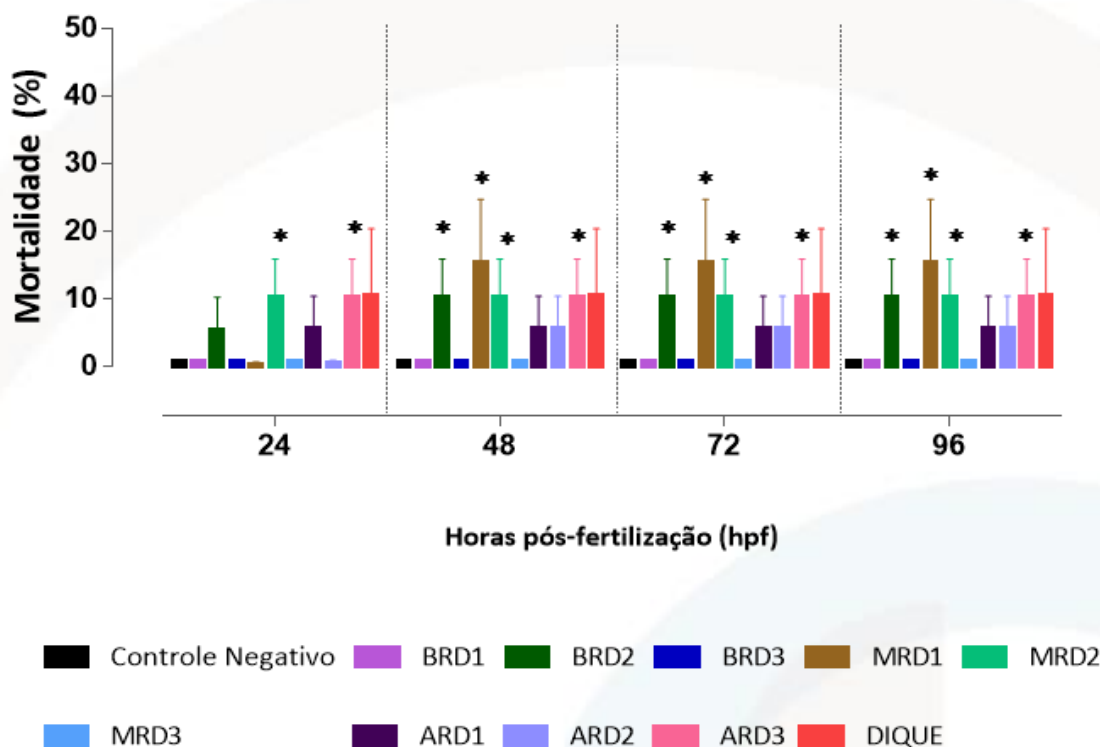


Exposição ao sedimento da porção continental

Após a exposição, ao sedimento coletado na porção continental, pelo período de 96 após a fertilização (hpf) foi possível identificar que logo na primeira hora de análise as amostras MRD2 (rio Doce/Gov. Valadares) e ARD3 (rio do Carmo – CP) causaram mortalidade, embora com uma baixa porcentagem, cerca de 10%, mas, de forma significativa quando comparado com o controle. Com 48 hpf além dessas, as amostras BRD2 (rio Doce/Colatina) e MRD1 (rio Corrente Grande – CN) também causaram mortalidade (em torno de 25%). O resultado permaneceu o mesmo até 96 hpf (Figura 207).

Figura 207. Mortalidade induzida por amostras de sedimentos em embriões e larvas de *Danio rerio*.

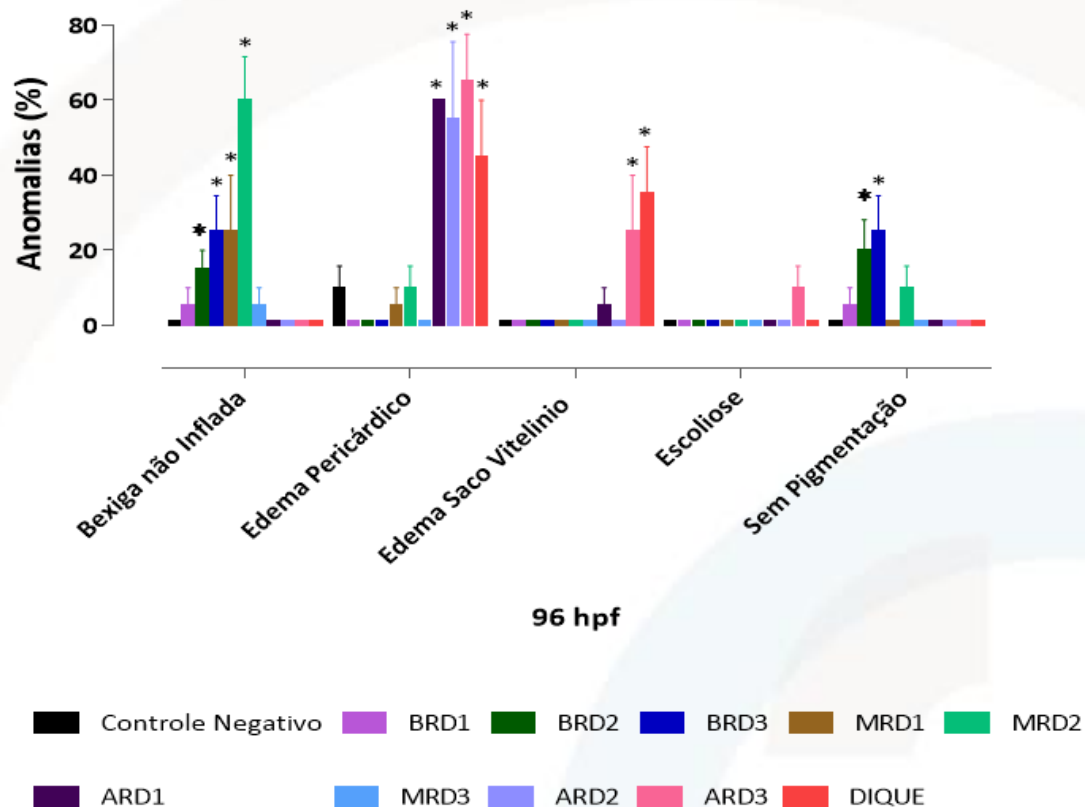
Os embriões 0 hpf (n=5/poço/duplicata) foram tratados pela exposição ao meio E2 (controle negativo) ou 100 µL das amostras (BRD1, BRD2, BRD3, MRD1, MRD2, MRD3, ARD1, ARD2, ARD3, DIQUE). Os indivíduos foram analisados diariamente por um período de 4 dias (24, 48, 72 e 96 hpf - horas pós fertilização) para contagem de embriões ou larvas mortas. Não houve troca do meio



Barras representam a média da porcentagem de mortalidade para cada amostra de sedimento avaliada + erro padrão da média (SEM). $p \leq 0,05$

Quando avaliados quanto a presença de anomalias diante da exposição ao sedimento da porção continental, verificou-se que as amostras ARD1 (rio Gualaxo – DA), ARD3 (rio do Carmo – CP), DIQUE (Dique S4 – DA); MRD1 (rio Corrente Grande – CN), MRD2 (rio Doce/Gov. Valadares – DA), MRD3 (rio Piracicaba – CP); BRD2 (rio Doce/Colatina – DA) e BRD3 (rio Pancas – CN) causaram efeitos tais como: bexiga não inflada, edema pericárdico, edema no saco vitelínico, escoliose e ausência de pigmentação (Figura 208). A amostra MRD2 foi que mais causou a anomalia da bexiga não inflada, cerca de 6%. As amostras ARD1, ARD3, DIQUE e MRD3 foram as que mais induziram a anomalia de edema pericárdico. As amostras ARD3 e DIQUE induziram a formação de edema do saco vitelínico e, as amostras BRD2 e BRD3 a ausência de pigmentação. Os organismos expostos as amostras ARD1 e DIQUE apresentaram hemorragia cardíaca (Figura 209; Figura 210).

Figura 208. Análise de malformações observadas em embriões e larvas de *Danio rerio* expostos a amostras de sedimentos. Os embriões 0 hpf (n=5/poço/duplicata) foram tratados pela exposição ao meio E2 (controle negativo) ou 100 μ L das amostras (BRD1, BRD2, BRD3, MRD1, MRD2, MRD3, ARD1, ARD2, ARD3, DIQUE). Os indivíduos foram analisados 96 hpf (horas pós fertilização), buscou-se anomalias quanto à morfologia das larvas e os defeitos foram elencados assim como a porcentagem dos indivíduos portadores dessas.



Barras representam a média da porcentagem de anomalias para cada amostra de sedimento avaliada + erro padrão da média (SEM). $p \leq 0,05$

Figura 209. Fotografias das anomalias detectadas em larvas de Danio rerio no período de 96 hpf após a exposição a: (A) contorle negativo (meio E2) e (B-F) amostras de sedimento. (A) indivíduo normal, (B) bexiga natatória não inflada, (C) edema pericárdico, (D) edema no saco vitelínico, (E) escoliose e (F) ausência de pigmentação. As setas indicam as anomalias.

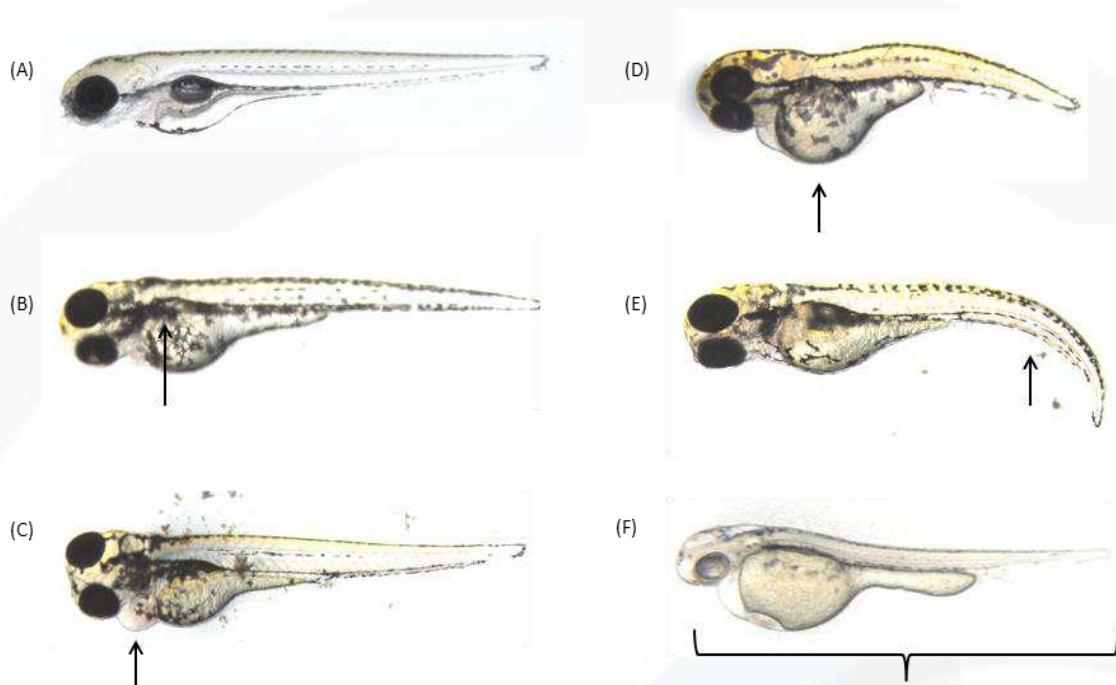


Figura 210. Fotografias das hemorragias detectadas em larvas de Danio rerio no período de 96 hpf pelas amostras ARD1 e DIQUE. A seta indica a hemorragia.



De maneira geral as amostras de água causaram maior percentual de mortalidade, enquanto as amostras de sedimentos causaram maior número e proporção de anomalias.

Discussão

Popularmente conhecido como zebrafish, peixe-zebra ou paulistinha, o *Danio rerio* é um peixe teleosteo, tropical, da família Cyprinidae, que mede de 3 a 4 centímetros. Trata-se de um modelo bastante robusto utilizado em diferentes áreas da pesquisa por possuir diversas vantagens de uso, tais como: baixo custo, fácil manejo, curto período de desenvolvimento, pequeno tamanho, alta sensibilidade, fácil tratabilidade experimental (REDELSTEIN et al., 2015; BAMBINO; CHU, 2017; BÖHME et al., 2017; MAZIERO, 2019; CAMPOS JUNIOR et al., 2020; GOMES et al., 2020; GOUVA et al., 2020; PEREIRA et al., 2020; RANJITHA; SHARATH CHANDRA, 2020; ALMEIDA et al., 2021). No entanto, a crescente utilização do zebrafish como modelo está, especialmente, na sua semelhança biológica quando comparado com outros organismos evolutivamente mais complexos (DAVIS et al., 2014; BAMBINO; CHU, 2017; MAZIERO, 2019; RANJITHA; SHARATH CHANDRA, 2020). O genoma do *D. rerio* já foi completamente sequenciado e sabe-se que 70% de seus genes são homólogos aos de humanos, assim como mais de 80% dos genes associados a doenças humanas podem ser relacionados no modelo (HOWE et al., 2013; BAMBINO; CHU, 2017; BITTENCOURT et al., 2018; MAZIERO, 2019; RANJITHA; SHARATH CHANDRA, 2020).

As fêmeas podem colocar cerca de trezentos ovos por acasalamento, atribuindo alta fecundidade à espécie, característica que também desperta interesse pela utilização do peixe como modelo experimental. A embriogênese ocorre *ex vivo* e está completa após 3 dias da fertilização (dias pós fertilização - dpf) (MURAYAMA et al., 2006; MAZIERO, 2019; CAMPOS JUNIOR et al., 2020; GOUVA et al., 2020; RANJITHA; SHARATH CHANDRA, 2020). Os ovos e as larvas são transparentes o que permite que através da microscopia simples seja possível realizar diferentes análises. Devido a isso, os embriões e as larvas representam modelos atrativos para a avaliação de possíveis agentes químicos, uma vez que oferecem a possibilidade de realizar análises em pequena ou alta escala. Ainda, constituem-se excelentes modelos não apenas para teste de toxicidade aguda, mas também, para compreensão de mecanismos tóxicos específicos (LAMMER et al., 2009; BAMBINO; CHU, 2017; BÖHME et al., 2017; MAZIERO, 2019; RANJITHA; SHARATH CHANDRA, 2020).

Os embriões se desenvolvem em larvas em até 7 dias após a fertilização e a maioria dos órgãos e tecidos (cérebro, olho, intestino, coração e ouvido) já estão formados em 5 dias tornando viável o estudo dos diferentes estágios do desenvolvimento (PARICHY et al., 2009; HE et al., 2014). Malformações quimicamente induzidas no cérebro, mandíbula, olho, coração, saco vitelino, notocorda, tronco e cauda podem ser diretamente analisados sob um microscópio de dissecação. O modelo de toxicidade aguda em embrião de zebrafish (OECD nº 236, 2013) é aceito, reconhecido e validado internacionalmente (REDELSTEIN et al., 2015; SONNACK et al., 2015; BAMBINO; CHU, 2017; BÖHME et al., 2017; BITTENCOURT et al., 2018; GOMES et al., 2020; RANJITHA; SHARATH CHANDRA, 2020; ALMEIDA et al., 2021) e, atualmente também está sendo explorado como uma possível

substituição para órgãos reguladores *in vivo* (BUSQUET et al., 2013; BAMBINO; CHU, 2017; CASSAR et al., 2019; GOMES et al., 2020).

O uso de peixes como indicador na avaliação da qualidade da água e dos sedimentos apresenta vantagens específicas uma vez que esses organismos são especialmente sensíveis aos impactos no meio aquático. O conhecimento dos danos causados às fases iniciais de desenvolvimento é importante para complementação da estimativa dos perigos associados à exposição de peixes a metais em diferentes cenários e condições, de agudas a crônicas. Além disso, muitas das respostas destes organismos aos agentes tóxicos são muito semelhantes as apresentadas por outros vertebrados, incluindo mamíferos, permitindo assim uma avaliação de potenciais agentes teratogênicos, mutagênicos e carcinogênicos não só peixes, mas também para os seres humanos (SONNACK et al., 2015; BITTENCOURT et al., 2018; MAZIERO, 2019; GOMES et al., 2020; GOUVA et al., 2020). Devido a isso, os testes de toxicidade aguda com peixes desempenham importante papel na avaliação dos riscos ambientais e na classificação dos perigos, tanto é que esses testes são requeridos por diversos instrumentos legais voltados à proteção da biota em corpos hídricos brasileiros (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013; ZAGATO; BERTOLETTI, 2014; GONÇALVES, 2016; MAZIERO, 2019; GOMES et al., 2020).

Diferentes elementos e substâncias tóxicas podem afetar a saúde e o desenvolvimento de organismos aquáticos (SFAKIANAKIS et al., 2015; SONNACK et al., 2015; BAMBINO; CHU, 2017; GOMES et al., 2020; PEREIRA et al., 2020; MERÇON et al., 2021). Rejeitos de mineração, por exemplo, é uma enorme preocupação ambiental, por conta da grande quantidade gerada durante o processo, e, especialmente, pela grande ameaça para a qualidade da água e dos sedimentos e para a vida de organismos aquáticos e pessoas que vivem a jusante, devido a presença de elementos potencialmente tóxicos em sua composição (HORA et al., 2012; POEMAS, 2015; FERNANDES et al., 2016; GONÇALVES, 2016; LOTTERMOSER, 2010 *apud* GUERRA et al., 2017; HATJE et al., 2017; MACÊDO et al., 2020; ALMEIDA et al., 2021; MERÇON et al., 2021). Contaminantes químicos associados aos resíduos podem ser acumular nos sedimentos e tornarem-se fontes recorrentes de contaminação ao longo do tempo (IBAMA, 2015; POEMAS, 2015; REDELSTEIN et al., 2015; GONÇALVES, 2016; HATJE et al., 2017; GOMES et al., 2020; MACÊDO et al., 2020; MERÇON et al., 2021). Além disso, uma vez disponíveis no ambiente esses elementos podem ser absorvidos pelos organismos e, ao interagir com as moléculas orgânicas, causar efeitos tóxicos que prejudicam o metabolismo, a reprodução, o crescimento e, até mesmo, a sobrevivência dos animais (ANDRADE, 2003; JOYEUX; CAMPANHA FILHO; JESUS, 2004; QUEIROZ, 2006; MORAIS, 2009; REDELSTEIN et al., 2015; FAURG, 2016a; GONÇALVES, 2016; ICMBio, 2016d; GOMES et al., 2020; MACÊDO et al., 2020; PEREIRA et al., 2020; ALMEIDA et al., 2021; MERÇON et al., 2021).

Corroborando essas informações, as análises realizadas com *D. rerio* no presente estudo confirmaram o que é descrito pela literatura e, também, o que havia sido demonstrado através dos resultados das análise dos diferentes biomarcadores em diversas espécies de peixes capturados ao

longo da bacia do rio Doce (item 3.1.2.7.1 do presente relatório), ou seja, tanto a água quanto o sedimento dos locais acometidos pela passagem da onda de lama apresentaram elevadas concentrações de EPTs (CPRM, 2015; ORGANON, 2015; DEAMB/SEMAD/SISEMA, 2016; GIAIA, 2016; GONÇALVES, 2016; ICMBio, 2016d; SAMARCO, 2016; SEGURA et al., 2016; GUERRA et al., 2017; MAIA, 2017; MACÊDO et al., 2020; MERÇON et al., 2021) e toxicidade para a biota (GONÇALVES, 2016; MACÊDO et al., 2020; ALMEIDA et al., 2021; MERÇON et al., 2021). Os ovos, embriões e larvas do zebrafish expostos a água e/ou sedimentos dos pontos afetados pela passagem da onda de lama (DA) foram os que apresentaram o maior percentual de mortalidade (de até 50%), bem como uma série de anomalias capazes de inviabilizar o desenvolvimento e a sobrevivência dos mesmos, dentre as quais destacam-se edema no saco vitelínico, bexiga natatória não inflada e hemorragia cardíaca. Apesar disso, é importante mencionar que algumas das amostras de água e sedimentos que apresentaram toxicidade sobre os embriões de *D. rerio* correspondem a amostras dos pontos CP e CN, sendo as amostras coletas nos pontos CN provenientes dos compartimentos 2 e 3, os quais não foram os mais afetados pela passagem da onda de lama, mas, possuem histórico de contaminação pela atividade de mineração (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2017b; 2018a), além de serem regiões que, devido ao aporte de água, apresentam frequentes eventos de ressuspensão que pode tornar elementos, anteriormente sedimentados, disponíveis novamente na coluna d'água (MERÇON et al., 2021).

As diferentes respostas apresentadas pelos embriões de zebrafish no presente estudo retratam a baixa qualidade dos corpos de água avaliados, bem como a disponibilidade de uma mistura complexa de contaminantes, cujos impactos ainda são pouco compreendidos e, geralmente, subestimados (SONNACK et al., 2015; MACÊDO et al., 2020; PEREIRA et al., 2020). De modo geral, a exposição a combinação de EPTs, mesmo que em baixas concentrações, leva a um efeito toxicológico combinado cujas respostas manifestadas pelos organismos podem ser altamente variáveis, visto que poluentes com modos de ação semelhante ou diferente podem influenciar a toxicidade dos demais, resultando em um número quase que ilimitado de adições, combinações sinérgicas e antagônicas possíveis (SFAKIANAKIS et al., 2015; GONÇALVES, 2016; MACÊDO et al., 2020; PEREIRA et al., 2020; ALMEIDA et al., 2021). Tal fato explicaria a ocorrência de mortalidade e de variadas malformações nos embriões expostos as matrizes testadas.

A mortalidade apresentada pelos organismos expostos à amostras de água podem indicar alterações instantâneas e, portanto, representa os efeitos tóxicos imediatos, agudos a estes animais os quais, provavelmente, sejam decorrentes da elevada disponibilidade dos elementos em um momento bastante crítico de desenvolvimento dos mesmos e cuja resposta do organismo tende a ser rápida e bastante severa (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013; GOUVA et al., 2020). Essa condição está de acordo com achados anteriores que relataram que EPTs causam, de imediato, mortalidade, bem como inibem a pré-eclosão do embrião (SFAKIANAKIS et al., 2015; GOMES et al., 2020; GOUVA et al., 2020).

A ocorrência de grande quantidade de anomalias nos animais expostos aos sedimentos fornece informações integradoras e dependentes do tempo de exposição aos elementos, portanto, representa efeitos subagudos a crônicos, cujos efeitos podem ser observados ao longo ou, até mesmo, após o término da exposição, podendo incluir mutagênese, carcinogênese, teratogênese (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013). Efeitos teratogênicos como, por exemplo, as anomalias observadas nos embriões analisados no presente estudo são bastante frequentes em exposições a EPTs dentro das primeiras fases de vida (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013; GOUVA et al., 2020).

Ressalta-se que o maior percentual de mortalidade, bem como maior variedade e proporção das anomalias foram identificadas nos animais expostos as matrizes provenientes dos pontos DA (independentemente do compartimento). Hemorragia cardíaca, por exemplo, foi identificada apenas em larvas expostas as matrizes provenientes dos pontos ARD01 (rio Gualaxo – DA) e DIQUE (Dique S4 – DA), ambos do compartimento 1, porção mais acometida pelo desastre (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2018b; 2019d; e; 2020d; VIEIRA et al., 2020). Alterações cardíacas em embriões são totalmente dependentes das concentrações dos contaminantes aos quais os mesmos são expostos (GOUVA et al., 2020), assim, os resultados apresentados pelos embriões expostos as matrizes do compartimento 1 reforçam a ocorrência de maiores danos à biota neste compartimento, independentemente do grupo de fauna avaliado, assim como corrobora a influência do desastre, sobre os demais compartimentos, embora para alguns táxons, com efeitos de menor magnitude (Itens correspondentes aos peixes e fauna, 3.1 e 3.2 respectivamente). Esses resultados são muito similares aos apresentados por Thompson et al. (2020) em embriões de zebrafish expostos a água do rio Paraopeba (MG), após o rompimento da barragem de minério de ferro do Córrego do Feijão; ao estudo realizado por Macêdo et al. (2020), os quais identificaram alterações morfofisiológicas em brânquias e fígado de *Astyanax lacustris* expostos a água de quatro pontos do rio Doce acometidos pela passagem da onda de lama; ao estudo de Almeida et al. (2021) que identificaram efeitos do rejeito de mineiro de ferro proveniente da barragem de Fundão sobre embriões de zebrafish, incluindo adesão de micro e nanopartículas de óxido de ferro no córion desses animais e, ao estudo de Merçon et al. (2021) que identificaram alterações histopatológicas e acúmulo de EPTs em gônadas de espécimes de *A. lacustris* capturados no baixo rio Doce.

O acúmulo de micro e nanopartículas de de óxido de ferro, conforme relatado por Almeida et al. (2021) pode ser um dos fatores responsáveis pela geração de malformações, como as encontradas no presente estudo, ao longo do tempo de exposição, uma vez que embora seja considerado um “sistema embrionário fechado”, que contém todos os recursos necessários ao desenvolvimento do animal até a fase larval, os embriões de zebrafish trocam elementos constantemente com o meio e, portanto, são influenciados pelo mesmo (RIGGIO et al., 2003; SFAKIANAKIS et al., 2015; BÖHME et al., 2017). Diante dessa condição, os organismos passam a apresentar efeitos adversos como retardo de

desenvolvimento, alterações morfológicas e deformidades funcionais ou, ainda, morte dos indivíduos mais sensíveis (SFAKIANAKIS et al., 2015; GOUVA et al., 2020). De fato, uma série de danos vêm sendo relatadas em embriões de *D. rerio* expostos a EPTs, tais como: acentuado aumento na concentração de EPTs no estágio inicial de blástula (RIGGIO et al., 2003), grande número de ovos coagulados e elevada mortalidade em embriões expostos ao Cd (SONNACK et al., 2015), acúmulo de EPTs em diferentes compartimentos do embrião (BÖHME et al., 2017), edemas pericárdicos e no saco vitelínico, deformações na coluna e cauda, alteração da frequência cardíaca e mortalidade em embriões expostos ao V (BITTENCOURT et al., 2018), elevada transparência e ausência de nadadeira e olhos em larvas expostas ao Fe e Al, respectivamente, ovos coagulados, elevada mortalidade em embriões, edemas pericárdicos e no saco vitelínico, deformações na coluna e cauda e redução do tamanho da cabeça de larvas expostas a nanopartículas de Ag (MAZIERO, 2019), elevada mortalidade em animais expostos ao Cu (GOUVA et al., 2020) e, atraso no desenvolvimento, malformações e mortalidade quando expostos a 10 mg.L⁻¹ de nanopartículas de óxido de ferro (RANJITHA; SHARATH CHANDRA, 2020).

É importante mencionar que as condições de qualidade da água do rio Doce e de seus principais afluentes não estavam ideais anteriormente à passagem da onda de rejeitos, em novembro de 2015. Muitos desses rios já recebiam considerável carga de poluentes das mais diferentes naturezas, tais como de atividades minerárias, industriais e descargas *in natura* de esgotos domésticos (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2017b; 2018a), portanto, não causa estranheza o fato de que os animais expostos as matrizes dos pontos CN e CP também tenham apresentado mortalidade e malformações. Reforça-se, ainda, que a atividade de mineração é reconhecida por afetar a entrada e, conseqüentemente, a disponibilidade de EPTs em sistemas aquáticos por constituir uma grande fonte de suspensão de partículas (SEGURA et al., 2016; UFES, 2016a; b; HATJE et al., 2017; JUNCÁ et al., 2017; UFES, 2017; GOUVA et al., 2020; ALMEIDA et al., 2021), portanto, mesmo em um cenário sem rompimento de barragem, organismos aquáticos capturados em locais próximos a atividades minerárias ou expostos a águas e sedimentos de locais próximos a estas, apresentarão diversas alterações comportamentais e de saúde (GOUVA et al., 2020; PEREIRA et al., 2020; ALMEIDA et al., 2021), muitas das quais sem quaisquer deformações morfológicas óbvias (PEREIRA et al., 2020). Além disso, a magnitude dos efeitos dos EPTs em um ecossistema varia de acordo com a influência dos parâmetros bióticos e abióticos (ANDRADE, 2003; GUILHERME et al., 2005; RAMOS, 2005; QUEIROZ, 2006; VAREJÃO, 2008; MORAIS, 2009; RHODES, 2010; PEREIRA et al., 2010; SFAKIANAKIS et al., 2015; SOUZA et al., 2015; FAURG, 2016a; ICMBio, 2016d; GOUVA et al., 2020). No entanto, reconhecendo a sensibilidade dos ovos e larvas aos EPTs e, a capacidade desses resultados indicar danos ao desenvolvimento e antecipar problemas de saúde aos peixes em estágios posteriores (SFAKIANAKIS et al., 2015; GOUVA et al., 2020), sugere-se o monitoramento da qualidade da água e dos aspectos de

saúde dos peixes, não somente nos locais acometidos pela passagem da onda de lama, como também dos demais corpos de água próximos as regiões afetadas ou de locais de exploração mineral.

EPTs, são reconhecidos por afetar negativamente a reprodução em peixes (SFAKIANAKIS et al., 2015; MERÇON et al., 2021). Assim, a ocorrência de letalidade, bem como a apresentação de teratogênese na fase embriolarval de *D. rerio* indicam comprometimento da comunidade destes organismos diante da exposição a ambientes desafiadores (BITTENCOURT et al., 2018; PEREIRA ET AL., 2020) e podem refletir na redução, em curto a médio prazo, na riqueza e abundância dos organismos da biota de um determinado ecossistema (e.g., SFAKIANAKIS et al., 2015; PEREIRA et al., 2020). Malformações apresentam efeitos drásticos, uma vez que afetam a sobrevivência, a taxa de crescimento, o bem-estar e expectativa de vida dos organismos. Essas anomalias podem prejudicar, dentre outros fatores, a capacidade de natação dos animais, impedindo ações vitais aos peixes, como obtenção de presas, fuga de predadores, deslocamentos, comportamento de corte, etc. (SFAKIANAKIS et al., 2015). Se o animal, apesar das deformidades, alcançar a idade adulta em um ambiente contaminado por EPTs, os mesmos podem apresentar, alterações endócrinas, contaminação de óvulos e espermatozoides, redução na fertilidade, acúmulo de EPTs e alterações histopatológicas nas gônadas, etc., o que irá causar danos profundos não somente a vida do peixe, mas, de toda a população e comunidade (SFAKIANAKIS et al., 2015; PEREIRA et al., 2020; MERÇON et al., 2021). Nesse sentido, é importante mencionar que Merçon et al. (2021) identificaram latência do desenvolvimento e atresia nas gônadas de fêmeas de *A. lacustris*, bem como elevada concentração de Al e Fe e de células imaturas nas gônadas dos machos capturados no baixo rio Doce após a ocorrência do rompimento da barragem de Fundão e, associaram essa condição a uma interrupção na biologia reprodutiva da população de *A. lacustris* do baixo rio Doce.

Esse prejuízo à saúde e, especialmente, a capacidade reprodutiva dos organismos, associada a desconfiguração da paisagem, supressão da vegetação ou impedimento de sua regeneração, redução ou destruição de habitat, afugentamento de espécimes, sedimentação nos sistemas fluviais, podem causar extinção de espécies, interrupção de corredores de fluxos gênicos e de movimentação da biota (SFAKIANAKIS et al., 2015; GOMES et al., 2020). Desse modo, uma vez que os poluentes continuam nos ambientes cujas matrizes foram coletadas, não há como negar os riscos aos quais o ecossistema está sujeito. Reforça-se que, mesmo após o término dos eventos de descarte do resíduo no ambiente (GOMES et al., 2020), medidas de recuperação ou ainda inativação das minas de exploração mineral (SÁNCHEZ-CHARDI et al. 2007b; SÁNCHEZ-CHARDI et al. 2008; SÁNCHEZ-CHARDI; OLIVEIRA RIBEIRO; NADAL, 2009; GREEFF, 2018), a desestruturação ambiental, contaminação e os danos por esses causados perduram por longos períodos, podendo levar de décadas a milênios para se recuperar (PEREIRA et al., 2006; POEMAS, 2015; SFAKIANAKIS et al., 2015; FELIPPE et al., 2016; FERNANDES et al., 2016; POWELL, 2017; GREEFF, 2018).

3.2. FAUNA SILVESTRE

Este relatório corresponde a apresentação dos resultados obtidos ao longo de um ano de diagnóstico ecotoxicológico. Para o diagnóstico foram realizadas quatro fases de campo, de periodicidade trimestral, entre os anos de 2018-2019, contemplando duas campanhas na estação seca (junho/julho de 2018 e julho/agosto de 2019) e duas campanhas na estação chuvosa (outubro/novembro de 2018 e fevereiro/março de 2019). Ao longo de todas as amostragens foram obtidos um total de 1.328 espécimes dos diferentes táxons, ao longo dos compartimentos 1, 2 e 3.

3.2.1. HERPETOFAUNA

Foram amostrados um total de 60 exemplares de herpetofauna ao longo de toda a extensão acometida pelo desastre ao longo das quatro campanhas consideradas no presente relatório. Do total, 86,7% correspondem a anfíbios e 13,3% a répteis. Dentre os anfíbios, foram amostradas 11 espécies, divididas em 5 famílias e 1 hábito alimentar (Tabela 83). Destes, o gênero *Rhinella* foi o mais representativo (63,3%) e a espécie *Rhinella schneideri* a mais amostrada entre as campanhas (35%) (Figura 211). Para répteis, foram amostradas 7 espécies, divididas em 5 famílias e 3 hábitos alimentares. O gênero mais representativo foi *Hydromedusa* e a espécie *Hydromedusa tectifera* a com maior número de indivíduos amostrados (n=3) (Tabela 83).

A análise dos resultados foi realizada para os anfíbios e répteis separadamente devido as diferenças fisiológicas e ecológicas existentes entre os grupos. Porém, o número de exemplares de répteis foi muito pequeno, o que fez com que estes animais não fossem considerados nas avaliações ecotoxicológicas. Dentre os anfíbios, devido ao reduzido número de espécimes de uma mesma espécie em cada um dos pontos (C ou DA) de um mesmo compartimento, optou-se pela junção dos dados em dois grupos: a) todos os organismos amostrados em um mesmo ponto (C ou DA) em cada um dos compartimentos (1, 2 e 3); b) todos os organismos pertencentes a uma mesma família, capturados em um mesmo ponto de cada um dos compartimentos. Essa junção permitiu que tivéssemos um número amostral estatisticamente representativo em cada um dos pontos amostrais de cada compartimento e campanha. Ressalta-se, no entanto, que não foram capturados anfíbios no compartimento 2, independentemente da campanha, exceto na campanha 1 onde foi capturado apenas um indivíduo.

A apresentação dos resultados para o agrupamento por família foi realizada apenas para a Bufonidae, em decorrência das demais não possuírem número amostral significativo em todos os pontos, compartimentos e campanhas. A análise dos resultados através do agrupamento por hábito

alimentar não foi realizada neste grupo, uma vez que os resultados seriam os mesmos que os obtidos para todos os organismos capturados em um mesmo ponto, pois, todos os anfíbios são insetívoros. Assim, os resultados que serão apresentados correspondem à presença/ausência de diferenças nos biomarcadores avaliados em anfíbios capturados no ponto controle (C) em relação aos capturados no ponto adjacente a APDL (DA), para cada um dos agrupamentos supracitados, em cada um dos compartimentos da bacia hidrográfica do rio Doce, ao longo das quatro campanhas realizadas e apresentadas no presente relatório.

Tabela 83. Descritivo dos exemplares herpetofauna coletados para avaliação ecotoxicológica ao longo de toda a extensão acometida pelo desastre

CAMPANHA	COMPARTIMENTO	U.A.	PONTO	Táxon	nº de indivíduos	ESPÉCIE	FAMÍLIA	HÁBITO ALIMENTAR
Campanha 1 (seca)	1	UA 2	DA	ANFIBIO	4	<i>Rhinella pombalii</i>	Bufonidae	insetívoro
	1	UA 2	DA	ANFIBIO	1	<i>Rhinella crucifer</i>	Bufonidae	insetívoro
	2	UA 4	DA	ANFIBIO	1	<i>Hypsiboas sp</i>	Hylidae	insetívoro
	3	UA 5	DA	ANFIBIO	8	<i>Rhinella schneideri</i>	Bufonidae	insetívoro
	2	UA 4	C	REPTIL	1	<i>Hemidactylus mabuia</i>	Gekkonidae	insetívoro
Campanha 2 (chuvosa)	1	UA 2	C	ANFIBIO	1	<i>Leptodactylus labyrinthicus</i>	Leptodactylidae	insetívoro
	1	UA 2	C	ANFIBIO	1	<i>Rhinella crucifer</i>	Bufonidae	insetívoro
	1	UA 2	C	ANFIBIO	1	<i>Hypsiboas faber</i>	Hylidae	insetívoro
	1	UA 2	C	REPTIL	1	<i>Chironius foveatus</i>	Colubridae	carnívoro
	1	UA 1	DA	ANFIBIO	1	<i>Thoropa miliaris</i>	Cycloramphidae	insetívoro
	1	UA 1	DA	ANFIBIO	1	<i>Odontophrynus cultripes</i>	Odontophrynidae	insetívoro
	1	UA 1	DA	ANFIBIO	2	<i>Rhinella sp</i>	Bufonidae	insetívoro
	1	UA 2	DA	ANFIBIO	1	<i>Proceratophrys sp.</i>	Odontophrynidae	insetívoro
	1	UA 1	DA	REPTIL	1	<i>Salvator meriae</i>	Teiidae	onívoro
	1	UA 1	DA	REPTIL	1	<i>Hydromedusa sp</i>	Chelidae	carnívoro
	1	UA 2	DA	REPTIL	1	<i>Salvator meriae</i>	Teiidae	onívoro
	3	UA 5	C	REPTIL	1	<i>Chelonoides denticulata</i>	Testudinidae	onívoro
	3	UA 6	C	ANFIBIO	2	<i>Rhinella schneideri</i>	Bufonidae	insetívoro
	3	UA 6	DA	ANFIBIO	1	<i>Leptodactylus latrans</i>	Leptodactylidae	insetívoro
	3	UA 6	DA	ANFIBIO	3	<i>Rhinella crucifer</i>	Bufonidae	insetívoro
	3	UA 6	DA	ANFIBIO	2	<i>Rhinella schneideri</i>	Bufonidae	insetívoro
Campanha 3 (chuvosa)	1	UA 1	C	ANFIBIO	1	<i>Rhinella crucifer</i>	Bufonidae	insetívoro
	1	UA 1	C	REPTIL	2	<i>Hydromedusa tectifera</i>	Chelidae	carnívoro
	1	UA 2	DA	ANFIBIO	7	<i>Hypsiboas faber</i>	Hylidae	insetívoro
	1	UA 2	DA	REPTIL	2	<i>Hydromedusa tectifera</i>	Chelidae	carnívoro
	3	UA 6	DA	ANFIBIO	3	<i>Rhinella schneideri</i>	Bufonidae	insetívoro
	3	UA 6	DA	ANFIBIO	4	<i>Rhinella crucifer</i>	Bufonidae	insetívoro
Campanha 4 (seca)	1	UA 2	DA	ANFIBIO	2	<i>Hypsiboas faber</i>	Hylidae	insetívoro
	1	UA 2	DA	ANFIBIO	2	<i>Rhinella crucifer</i>	Bufonidae	insetívoro
	1	UA 2	DA	REPTIL	1	<i>Ameiva ameiva</i>	Teiidae	insetívoro
	3	UA 6	C	ANFIBIO	7	<i>Rhinella schneideri</i>	Bufonidae	insetívoro
	3	UA 6	DA	ANFIBIO	1	<i>Rhinella crucifer</i>	Bufonidae	insetívoro

Células marcadas em cinza correspondem aos exemplares de répteis capturados em cada um dos pontos e compartimentos de coleta. Estes não foram considerados no agrupamento de dados para análises ecotoxicológicas.

Figura 211. Imagens de *Rhinella schneideri* (sapo cururu) espécie mais representativa da herpetofauna capturada ao longo de toda a extensão acometida pelo desastre



Fonte: LACTEC

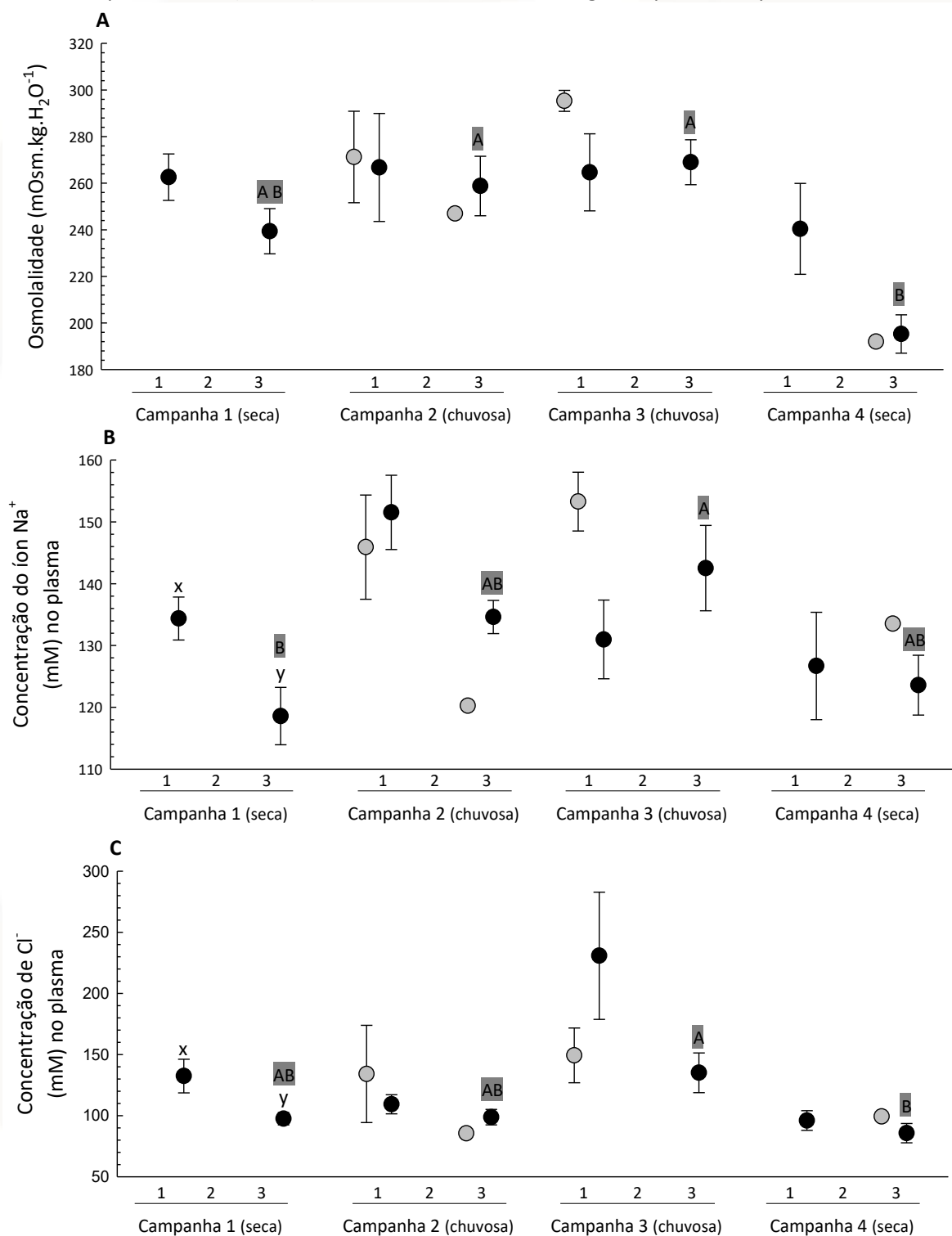
3.2.1.1. ALTERAÇÕES NAS CONDIÇÕES CORPORAIS E/OU NA SAÚDE

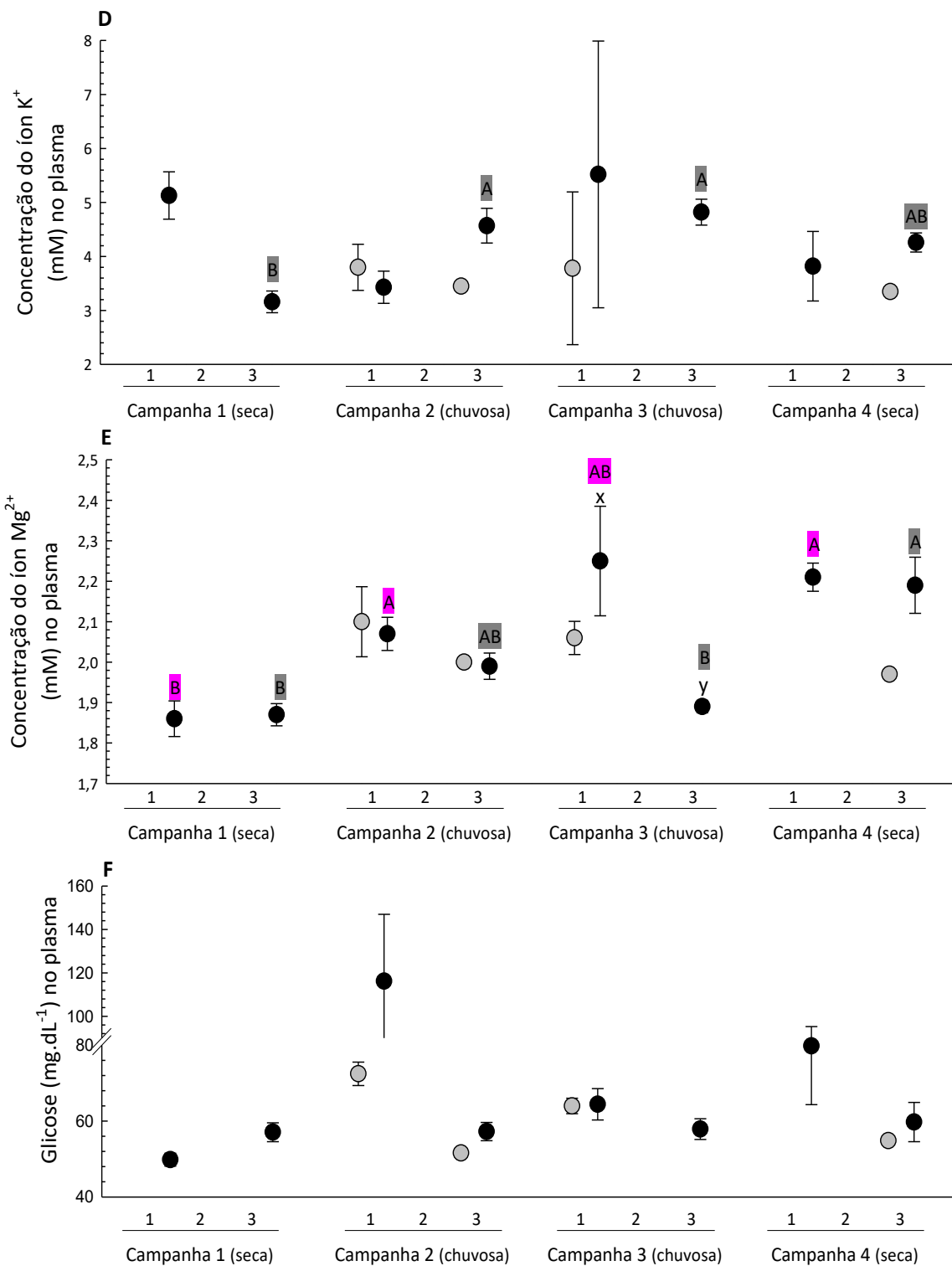
Alterações fisiológicas (osmorregulação e metabolismo) – biomarcadores: osm, íons, glicose, lactato, proteína plasmática

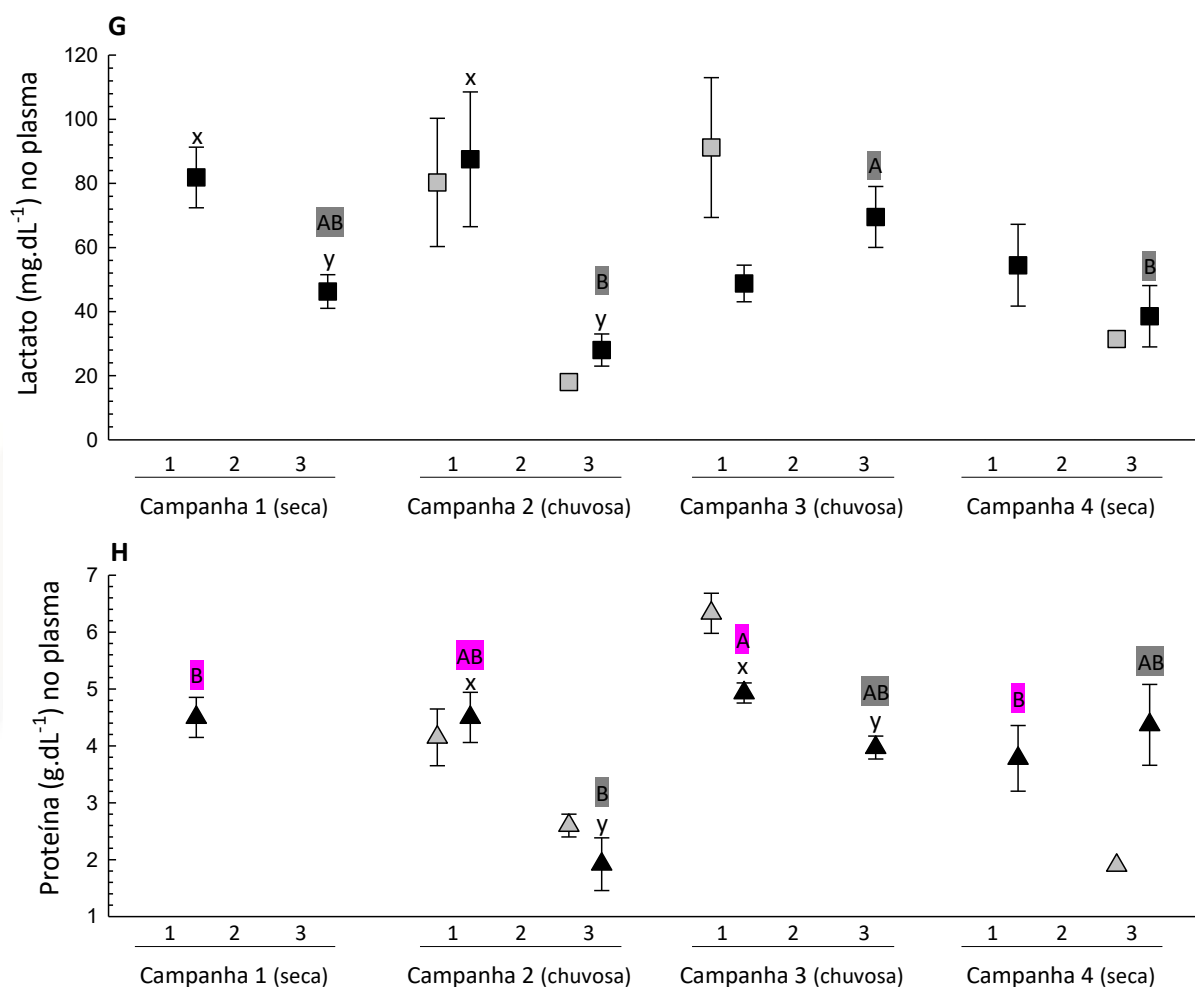
Não houve diferença nas respostas dos biomarcadores de osmorregulação (osmolalidade e íons) e metabolismo (glicose, lactato e proteína plasmática) se considerada a comparação entre os anfíbios capturados nos pontos C e DA independentemente do compartimento ou campanha avaliada (Figura 212). Apesar disso, foi possível verificar, através da comparação entre os compartimentos de uma mesma campanha, que os anfíbios capturados nos pontos DA do compartimento 1 apresentaram maiores concentrações dos parâmetros plasmáticos que os capturados no compartimento 3, ou seja: maiores concentrações dos íons Na^+ e Cl^- e, de lactato na campanha 1; maiores concentrações de lactato e proteína plasmática na campanha 2 e maiores concentrações de Mg^{2+} e proteína plasmática na campanha 3 (Figura 212 B, C, E, G e H). Do mesmo modo, apenas os anfíbios capturados nos pontos DA dos compartimentos 1 e 3 apresentaram alterações nos parâmetros fisiológicos entre as campanhas. Para o compartimento 1, a concentração plasmática de Mg^{2+} foi superior nos anfíbios capturados nas campanhas 2 e 4 em relação a campanha 1 e, a concentração de proteína plasmática maior na campanha 3 em relação as campanhas 1 e 4. Para o compartimento 3 a osmolalidade plasmática foi superior nas campanhas 2 e 3 em relação a 4; a concentração de Na^+ foi superior na campanha 3 que na 1; a concentração de Cl^- foi superior na 3 que na 4; a concentração de K^+ foi superior nas campanhas 2 e 3 que na 1; a concentração de Mg^{2+} foi superior na campanha 4 em relação às campanhas 1 e 3 e, a concentração de lactato superior na campanha 3 em comparação com as

campanhas 2 e 4 (Figura 212 B, C, D e E). A glicose foi o único parâmetro plasmático que não apresentou alteração independentemente da comparação realizada (Figura 212 F).

Figura 212. Biomarcadores fisiológicos determinados em plasma de exemplares da herpetofauna (anfíbios) capturados nos pontos C (círculos cinzas) e DA (círculos pretos) em cada um dos compartimentos (1, 2 e 3) da bacia do rio Doce ao longo de quatro campanhas amostrais



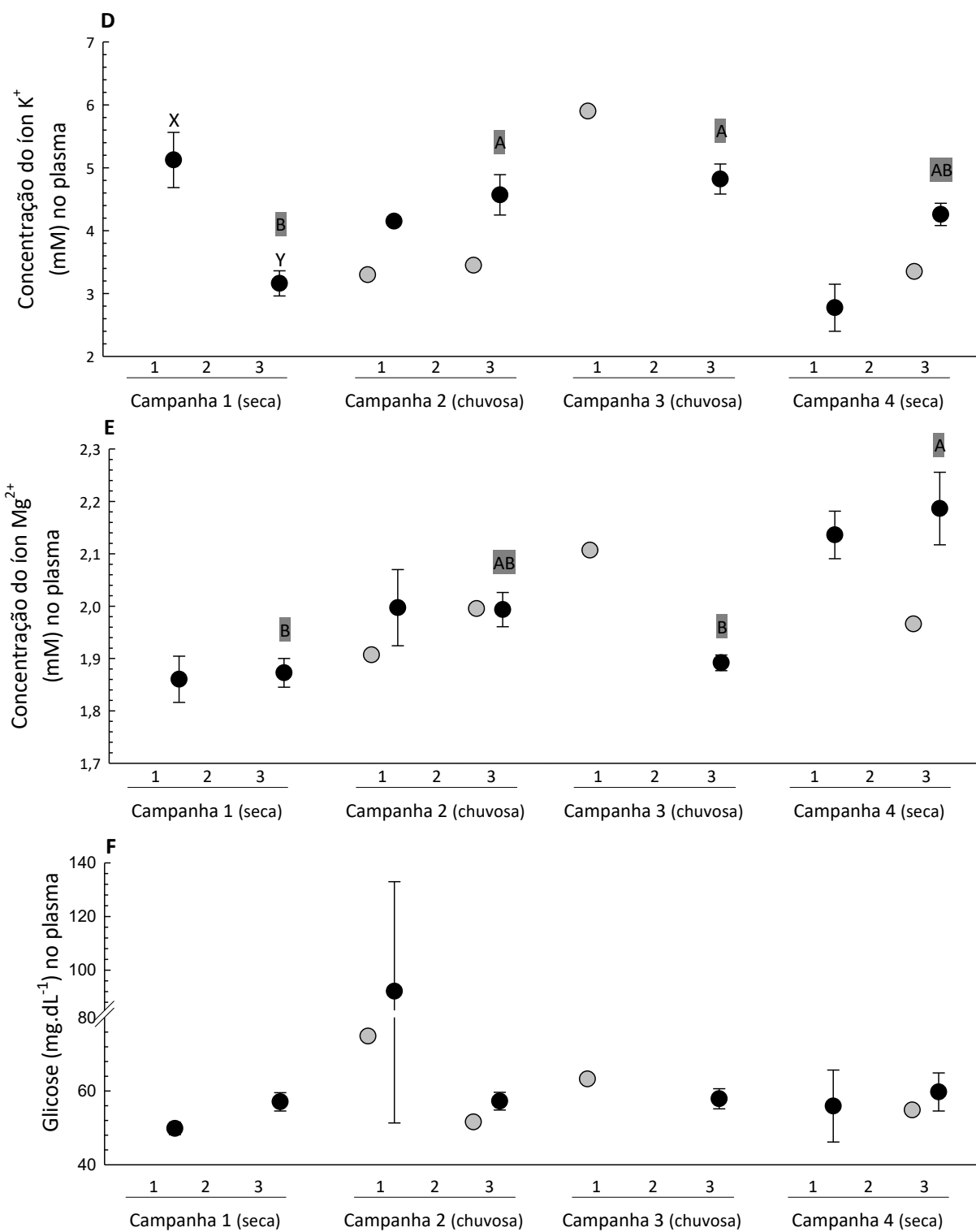


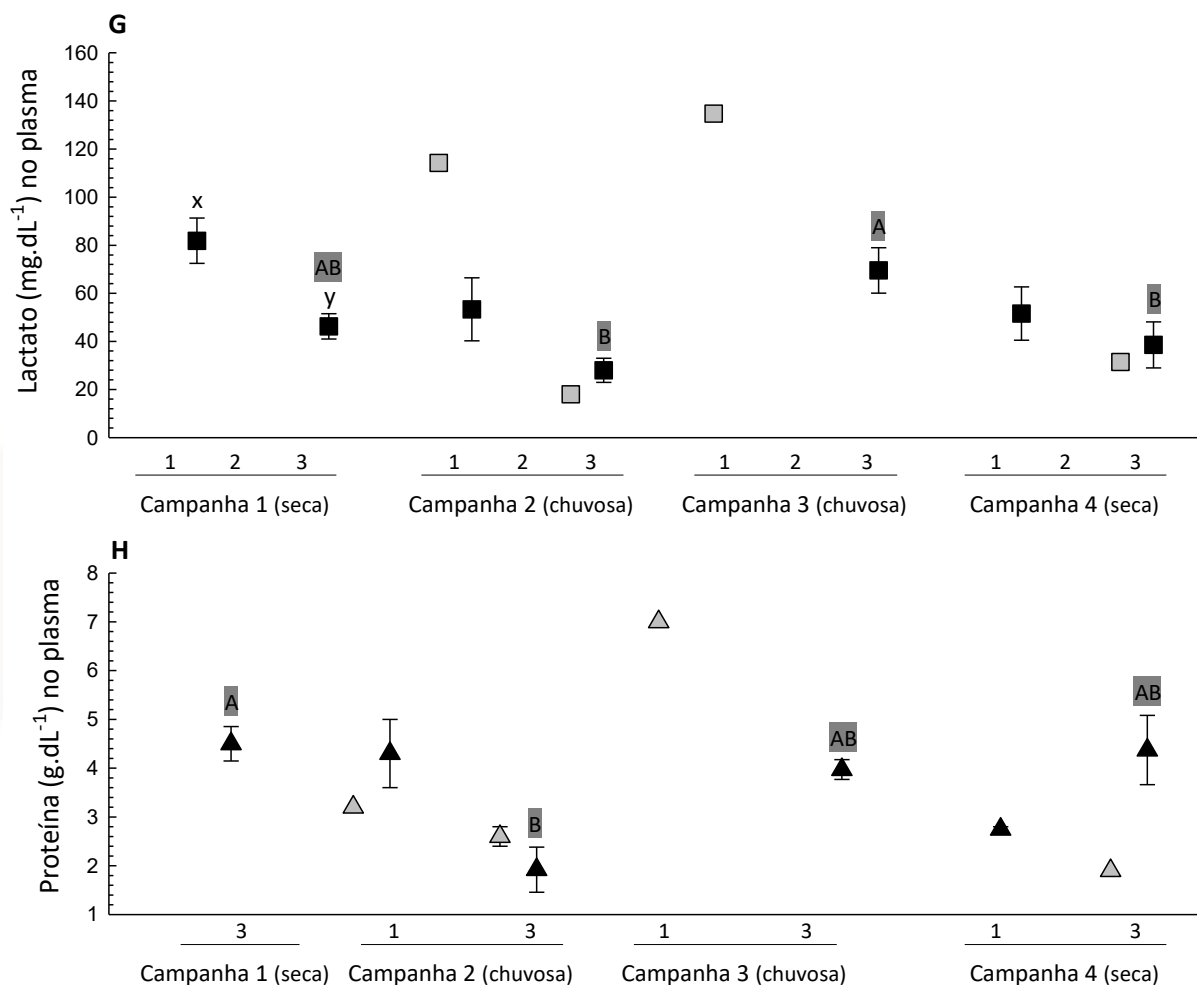


Asterísco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

A comparação das respostas fisiológicas dos anfíbios quando agrupados na família Bufonidae também demonstrou ausência de diferença nas respostas dos biomarcadores de osmorregulação (osmolalidade e íons) e metabolismo (glicose, lactato e proteína plasmática) se considerada a comparação entre os anfíbios capturados nos pontos C e DA independentemente do compartimento ou campanha avaliada (Figura 213). A comparação entre os pontos de uma mesma campanha demonstrou que, apenas na campanha 1, os animais do ponto DA apresentaram maiores concentrações plasmáticas de Na^+ , Cl^- , K^+ e lactato no compartimento 1 em comparação ao compartimento 3 (Figura 213 B, C, D e G).

A comparação de um mesmo ponto entre as campanhas demonstrou que para os anfíbios capturados no ponto DA do compartimento 1 apenas a concentração de proteína plasmática apresentou alteração, sendo superior nos animais capturados na campanha 1 que nos animais capturados na campanha 2 (Figura 213 H). Nos demais parâmetros todas as diferenças foram identificadas para os anfíbios capturados no ponto DA do compartimento 3. Neste compartimento a osmolalidade determinada nos anfíbios capturados nas campanhas 2 e 3 foram superiores a determinada nos animais capturados na campanha 4 (Figura 213 A). As concentrações plasmáticas de Na^+ e Cl^- foram superiores nos anfíbios capturados durante a campanha 3 em relação aos capturados na campanha 1 (Figura 213 B e C). A concentração plasmática de K^+ foi superior nos anfíbios capturados durante as campanhas 2 e 3 em comparação à concentração determinada nos animais capturados na campanha 1 (Figura 213 D). A concentração plasmática de Mg^{2+} foi superior nos animais capturados na campanha 4 quando comparada as concentrações determinadas nos animais das campanhas 1 e 3 (Figura 213 E). Por fim, a concentração plasmática de lactato foi superior nos anfíbios capturados na campanha 3 que naqueles capturados nas campanhas 2 e 4 (Figura 213). A glicose foi o único parâmetro plasmático que não apresentou alteração independentemente da comparação realizada (Figura 213 F).



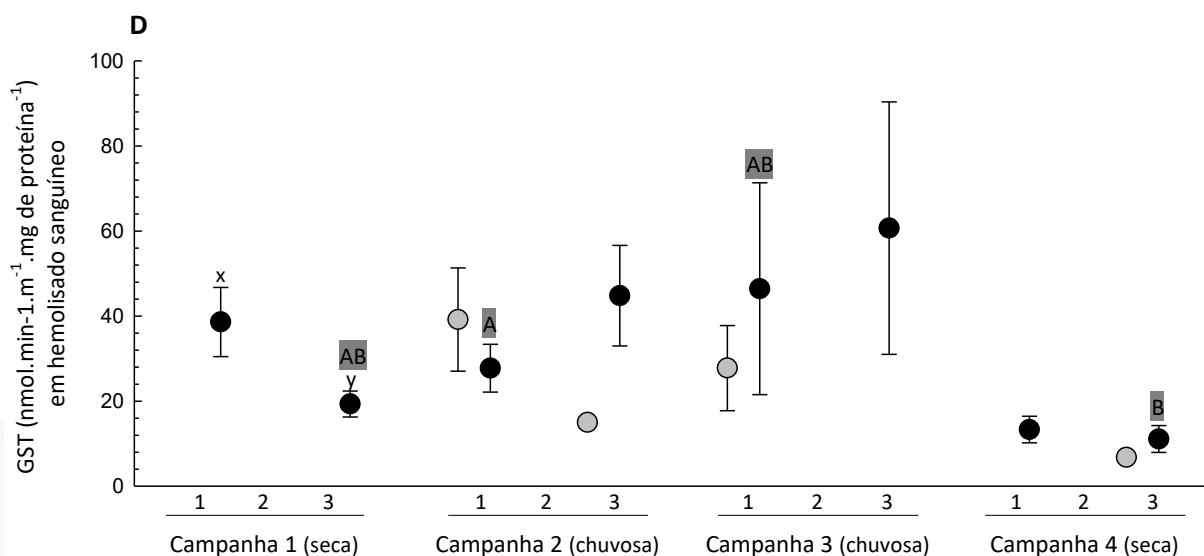


Asterísco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

Alterações no sistema antioxidante e de biotransformação – biomarcadores: SOD, CAT, GPx, GST

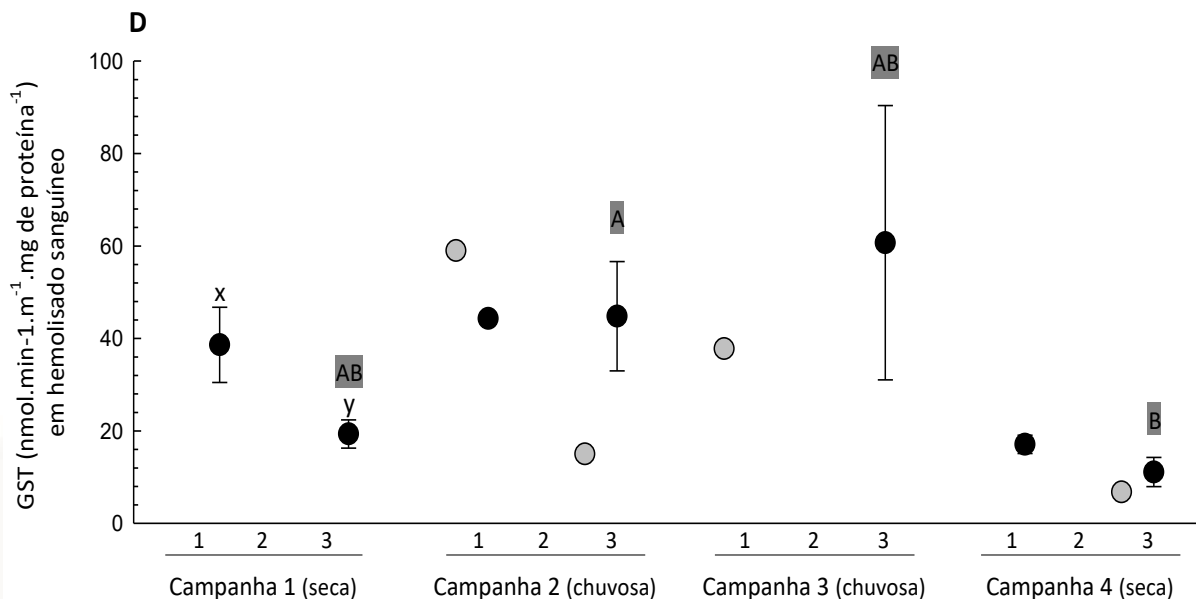
Não houve alteração nas respostas dos biomarcadores dos sistemas antioxidante e de biotransformação se considerada a comparação entre os anfíbios capturados nos pontos C e DA, independentemente do compartimento ou campanha avaliada (Figura 214). Mas, os anfíbios capturados nos pontos DA apresentaram alterações quando as comparações das respostas dos biomarcadores foram realizadas entre os compartimentos de uma mesma campanha e entre as campanhas. Na comparação entre os compartimentos, durante a campanha 1, identificou-se que os

anfíbios capturados no compartimento 1 apresentaram maior atividade de GST e menor atividade de GPx que os anfíbios capturados no compartimento 3 (Figura 214 D e C, respectivamente). A atividade da SOD também foi maior no compartimento 3 em relação ao 1, porém, durante a campanha 2 (Figura 214 B). Na comparação entre as campanhas as alterações foram bastante distintas entre os biomarcadores, porém, sempre ocorreram no compartimento 3, a saber: CAT maior atividade na campanha 1 em relação a campanha 4; SOD maior atividade nas campanhas 2 e 3 em relação a campanha 1; GPx maior atividade na campanha 3 em relação as demais campanhas e, GST maior atividade na campanha 2 em relação a campanha 4 (Figura 214 A, B, C e D, respectivamente).



Asterísco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

As respostas dos anfíbios quando agrupados na família Bufonidae também demonstrou ausência de diferença nas respostas dos biomarcadores dos sistemas antioxidantes e de biotransformação se considerada a comparação entre os anfíbios capturados nos pontos C e DA independentemente do compartimento ou campanha avaliada (Figura 215). Na comparação entre os compartimentos, durante a campanha 1, foi possível identificar que a GPx apresentou maior atividade nos anfíbios capturados no compartimento 3 que aqueles capturados no compartimento 1, enquanto a GST apresentou comportamento inverso, ou seja, foi superior nos anfíbios capturados no compartimento 1 em relação aos capturados no compartimento 3 (Figura 215 C e D, respectivamente). A comparação entre um mesmo ponto e compartimento nas diferentes campanhas corroborou que as maiores alterações ocorreram nos anfíbios capturados no compartimento 3. Essas variaram entre os biomarcadores e campanhas, a saber: CAT apresentou maior atividade nos anfíbios capturados na campanha 1 em comparação aos capturados na campanha 4; SOD apresentou maior atividade nos anfíbios capturados nas campanhas 2 e 3 em relação aos capturados na campanha 1; GPx apresentou maior atividade nos animais na campanha 3 em comparação às demais campanhas e, GST apresentou maior atividade nos anfíbios capturados na campanha 2 em relação aos capturados na campanha 4 (Figura 215 A, B, C e D).



Asterisco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma campanha. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

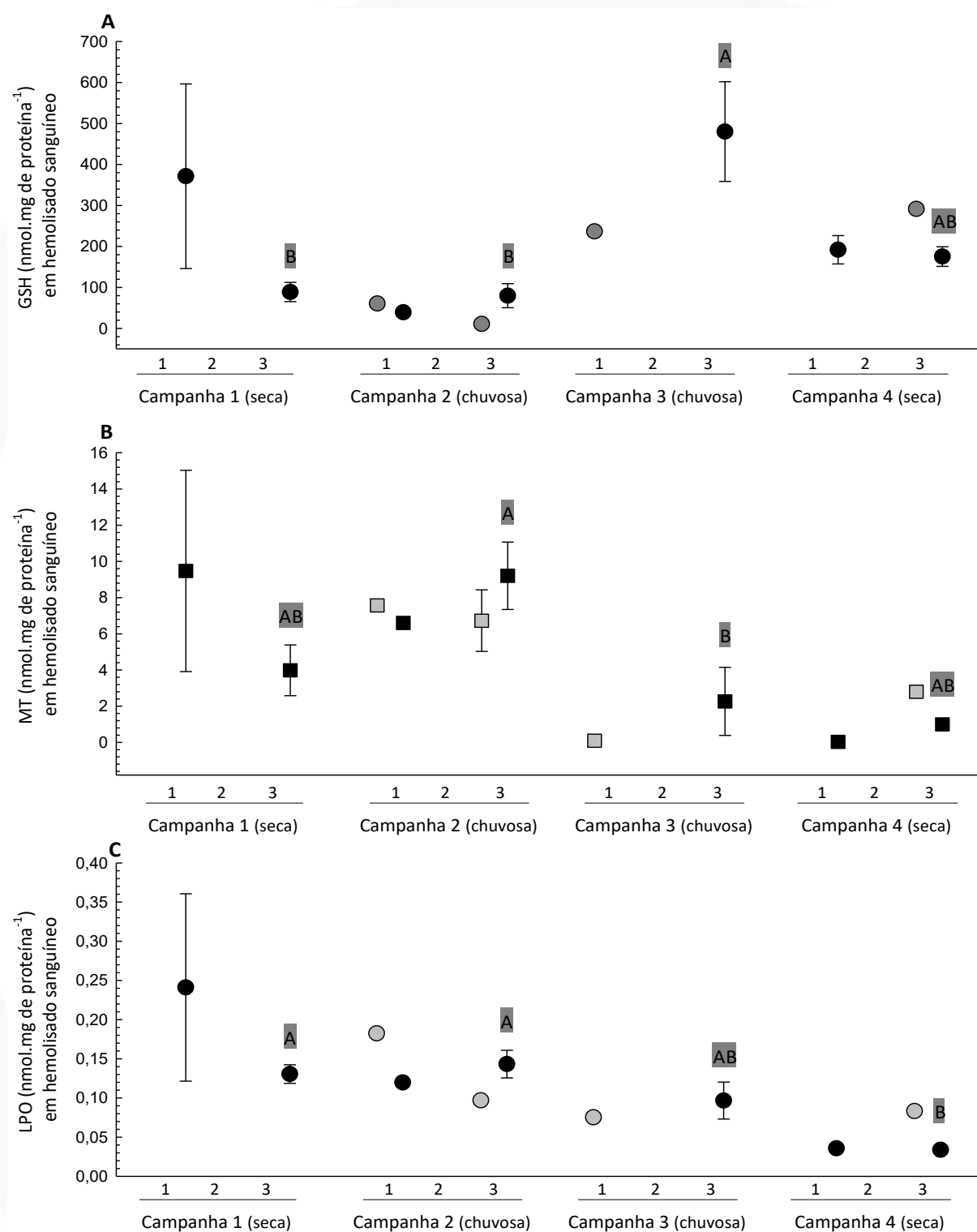
Alterações nos sistemas não enzimáticos - GSH, MT, LPO

Não houve alteração nas respostas dos biomarcadores dos sistemas não enzimáticos se considerada a comparação entre os anfíbios capturados nos pontos C e DA, independentemente do compartimento ou campanha avaliada (Figura 216). Mas, novamente, os anfíbios capturados nos pontos DA foram os únicos que apresentaram alteração nestes parâmetros se consideradas as comparações entre os compartimentos de uma mesma campanha e de um mesmo compartimento entre as campanhas. Na comparação entre os compartimentos foi possível identificar que tanto para GSH quanto para MT os anfíbios capturados no compartimento 3 foram os que apresentaram maiores alterações que os capturados no compartimento 1 durante as campanhas 3 e 4, respectivamente (Figura 216 A e B). Na comparação entre as campanhas, a GSH apresentou maior alteração na campanha 3 em comparação às campanhas 1 e 2, se considerado o compartimento 3. A MT apresentou maior alteração na campanha 2 em relação a campanha 4, se considerado o compartimento 1 e, na campanha 2 em relação a 3, se considerado o compartimento 3. A maior peroxidação lipídica (LPO) foi verificada nos anfíbios capturados nas campanhas 2 e 4, tanto para o compartimento 1 quanto para o compartimento 3 (Figura 216 A, B e C, respectivamente).

Asterisco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

A comparação entre os resultados dos sistemas não enzimáticos apresentados pelos anfíbios pertencentes a família Bufonidae corroborou a ausência de alteração quando se compara os animais capturados nos pontos C em relação àqueles capturados nos pontos DA, independentemente do compartimento ou campanha avaliada (). Apesar disso, mantiveram-se as diferenças entre os anfíbios capturados no compartimento 3 ao longo das quatro campanhas avaliadas, sendo: GSH maior nos anfíbios capturados na campanha 3 em relação aos capturados nas campanhas 1 e 2 (A); MT maior nos animais capturados na campanha 2 em relação aos capturados na campanha 3 (B) e, LPO (peroxidação lipídica) superior nos anfíbios capturados nas campanhas 1 e 2 em relação aos capturados na campanha 4 (C).

Figura 217. Biomarcadores não enzimáticos determinados em hemolisado sanguíneo de exemplares da herpetofauna (anfíbios) pertencentes a família Bufonidae que foram capturados nos pontos C (círculos cinzas) e DA (círculos pretos) de cada um dos compartimentos (1, 2 e 3) da bacia do rio Doce ao longo de quatro campanhas amostrais

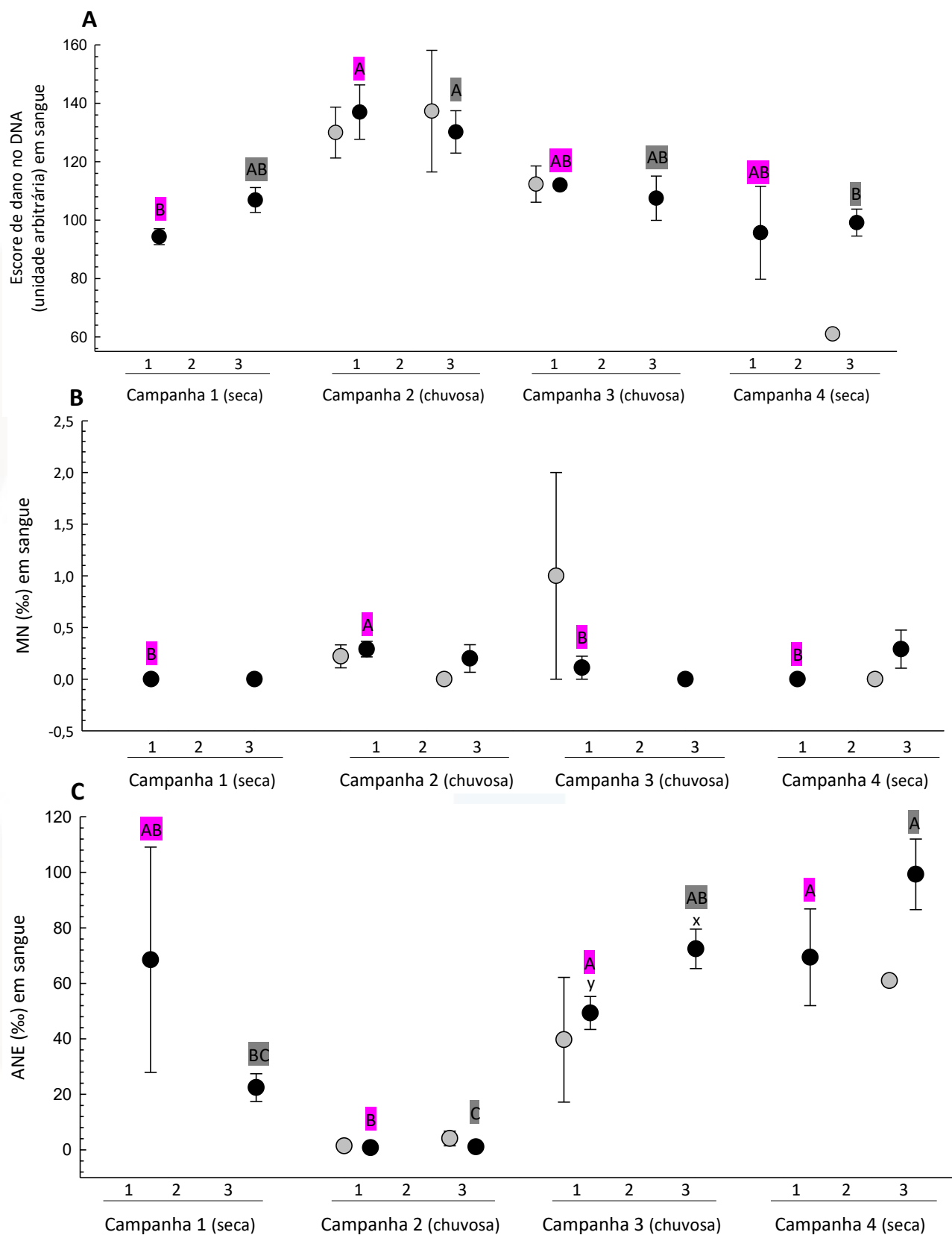


Asterísco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

Genotoxicidade e Mutagenicidade – cometa, micronúcleo, ANEs

Não houve alteração nas respostas dos biomarcadores de genotoxicidade e mutagenicidade se considerada a comparação entre os anfíbios capturados nos pontos C e DA, independentemente do compartimento ou campanha avaliada. Também não houve diferença entre as respostas apresentadas por um mesmo ponto (C ou DA) entre os compartimentos de uma mesma campanha (Figura 218). Porém, entre as campanhas identificou-se que os anfíbios capturados nos pontos DA tiveram danos ao DNA tanto no compartimento 1 quanto no compartimento 3. No compartimento 1, o MN foi maior nos anfíbios capturados na campanha 2 que na campanha 4. O COM (escore de dano ao DNA) foi superior no compartimento 1 da campanha 2 em relação a campanha 1 e, também, para o compartimento 3 da campanha 2 em relação a campanha 4. As ANEs, por sua vez, foram superiores na campanha 4 em relação a campanha 2 em ambos os compartimentos (1 e 3) (Figura 218 A, B e C).

Figura 218. Biomarcadores de genotoxicidade e mutagenicidade determinados em sangue de exemplares da herpetofauna (anfíbios) capturados nos pontos C (círculos cinzas) e DA (círculos pretos) em cada um dos compartimentos (1, 2 e 3) da bacia do rio Doce ao longo de quatro campanhas amostrais



Asterísco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

A comparação dos resultados de mutagenicidade e genotoxicidade determinados no sangue dos anfíbios da família Bufonidae demonstraram não haver alteração entre os animais capturados nos pontos C e DA, independentemente do compartimento ou campanha avaliada, bem como não houve alteração entre aqueles capturados em um mesmo ponto (C ou DA) nos diferentes compartimentos de uma mesma campanha (I). Porém, permitiu identificar que para os anfíbios capturados nos pontos DA do compartimento 3, o escore de dano ao DNA foi superior nos animais capturados durante a campanha 2 que nos capturados na campanha 4, enquanto, as ANEs determinadas nos anfíbios capturados durante a campanha 4 foram superiores que as determinadas nos animais capturados na campanha 2 (a e C, respectivamente). No entanto, nenhuma alteração foi identificada na determinação de MN dos anfíbios da família Bufonidae, independentemente do compartimento e campanha (B).

Asterísco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

3.2.1.2. ALTERAÇÕES NAS CONCENTRAÇÕES DE EPTS

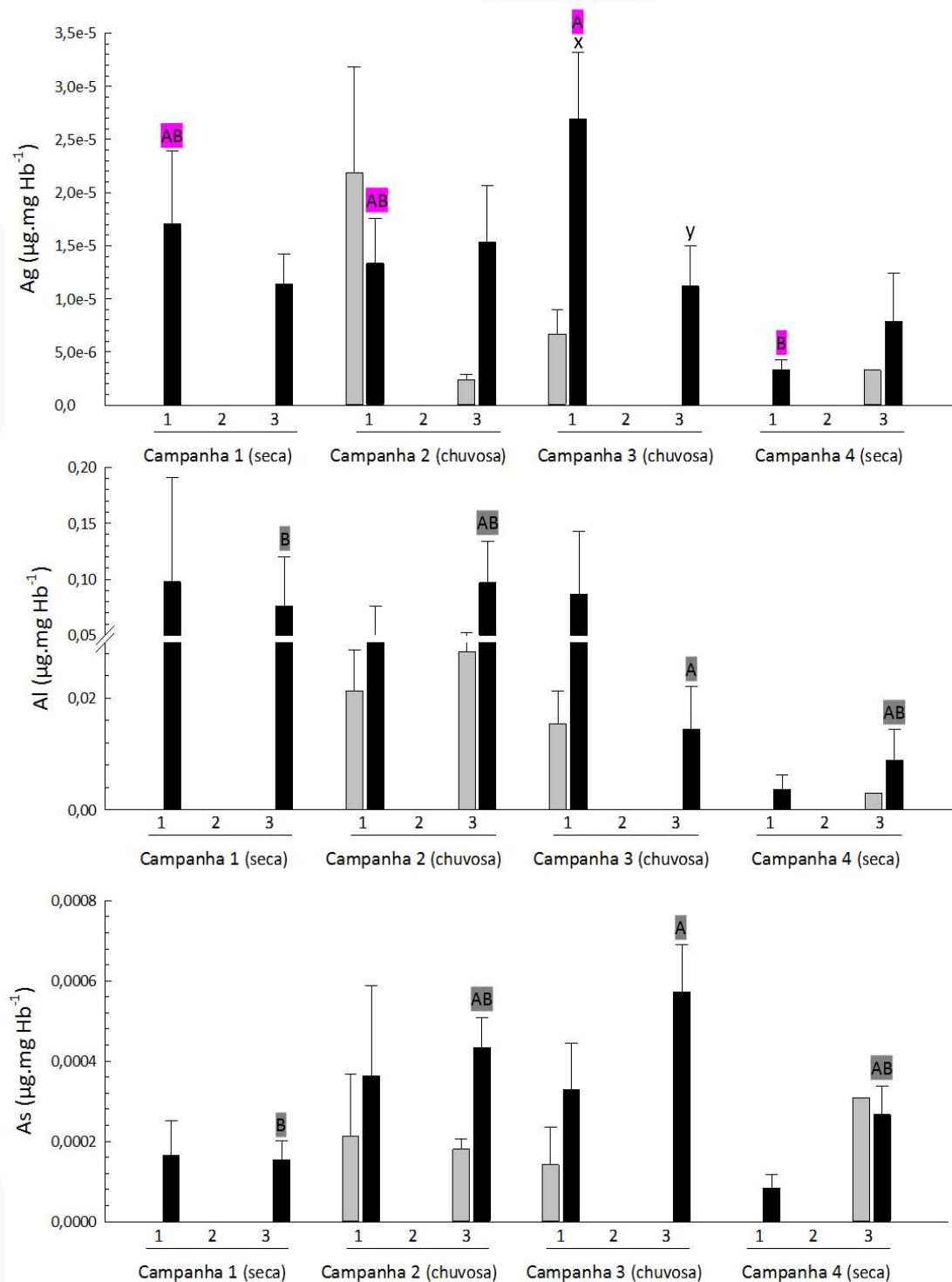
Todos os EPTs foram detectados nas amostras de hemolisado sanguíneo dos anfíbios capturados ao longo das quatro campanhas apresentadas neste relatório, exceto no compartimento 2 onde não foram amostrados indivíduos deste grupo faunístico em nenhuma das campanhas e no ponto C dos compartimentos 3 (campanha 1), 2 e 3 (campanha 2), 1 e 2 (campanha 3) e 2 (campanha 4) onde anfíbios não foram amostrados para este ponto (Figura 220). De todos os elementos avaliados apenas o Cd apresentou-se em maior concentração nos anfíbios capturados no ponto DA em relação aos capturados no ponto C e, somente durante a campanha 2 (Figura 220).

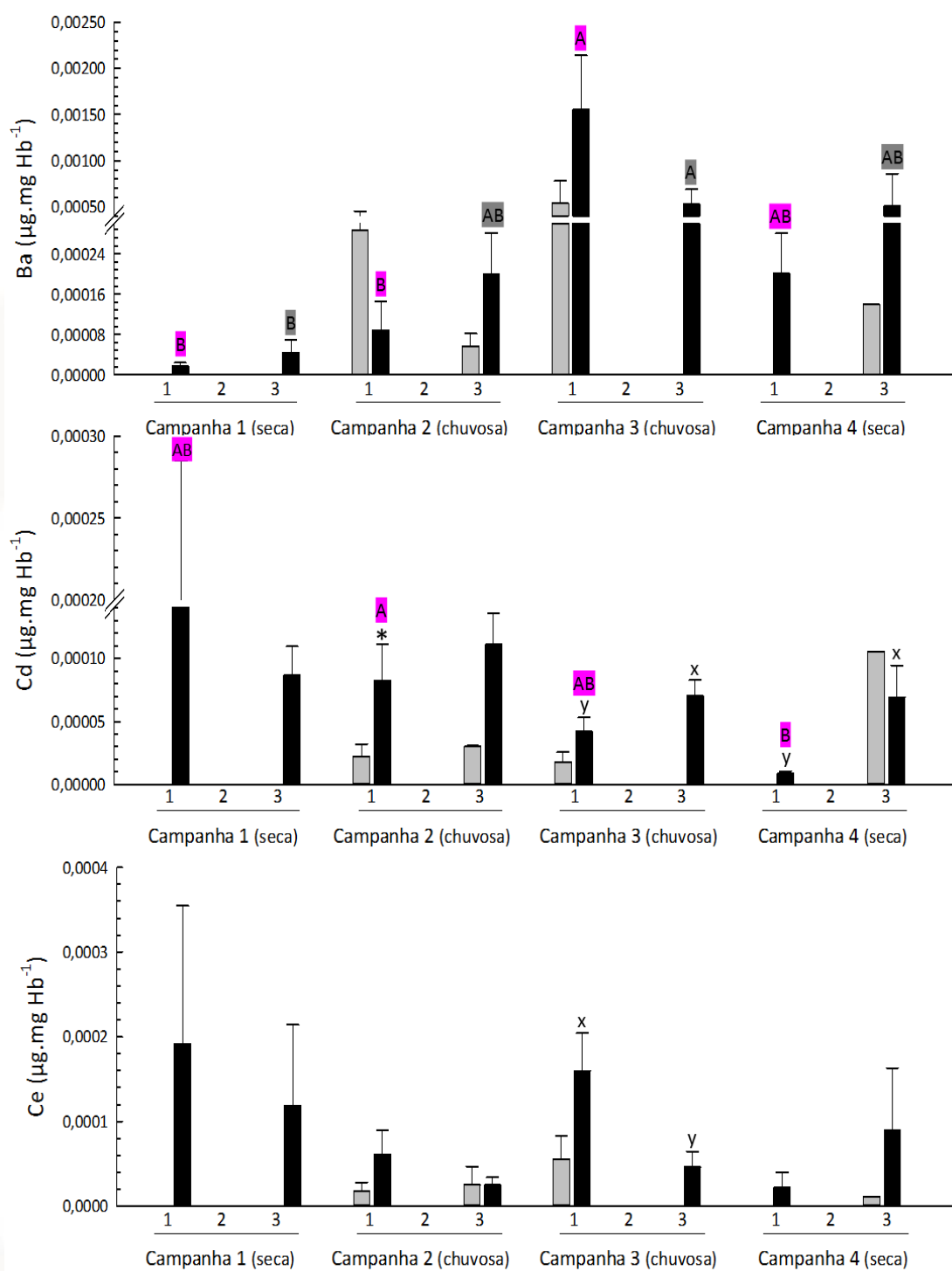
Além disso, apenas anfíbios capturados no ponto DA apresentaram alterações nas concentrações de EPTs nas comparações entre os compartimentos de uma mesma campanha e entre as campanhas para um mesmo compartimento. Na comparação entre os compartimentos, os elementos Ag e Ce foram os únicos cujas concentrações foram superiores no compartimento 1 em relação ao compartimento 3 e, apenas durante a campanha 3. O elemento Cu apresentou maior concentração no compartimento 3 em relação ao compartimento 1 durante a campanha 2, enquanto os elementos Cd e Hg apresentaram maiores concentrações no compartimento 3 em relação ao compartimento 1 tanto na campanha 3 quanto na campanha 4 (Figura 220).

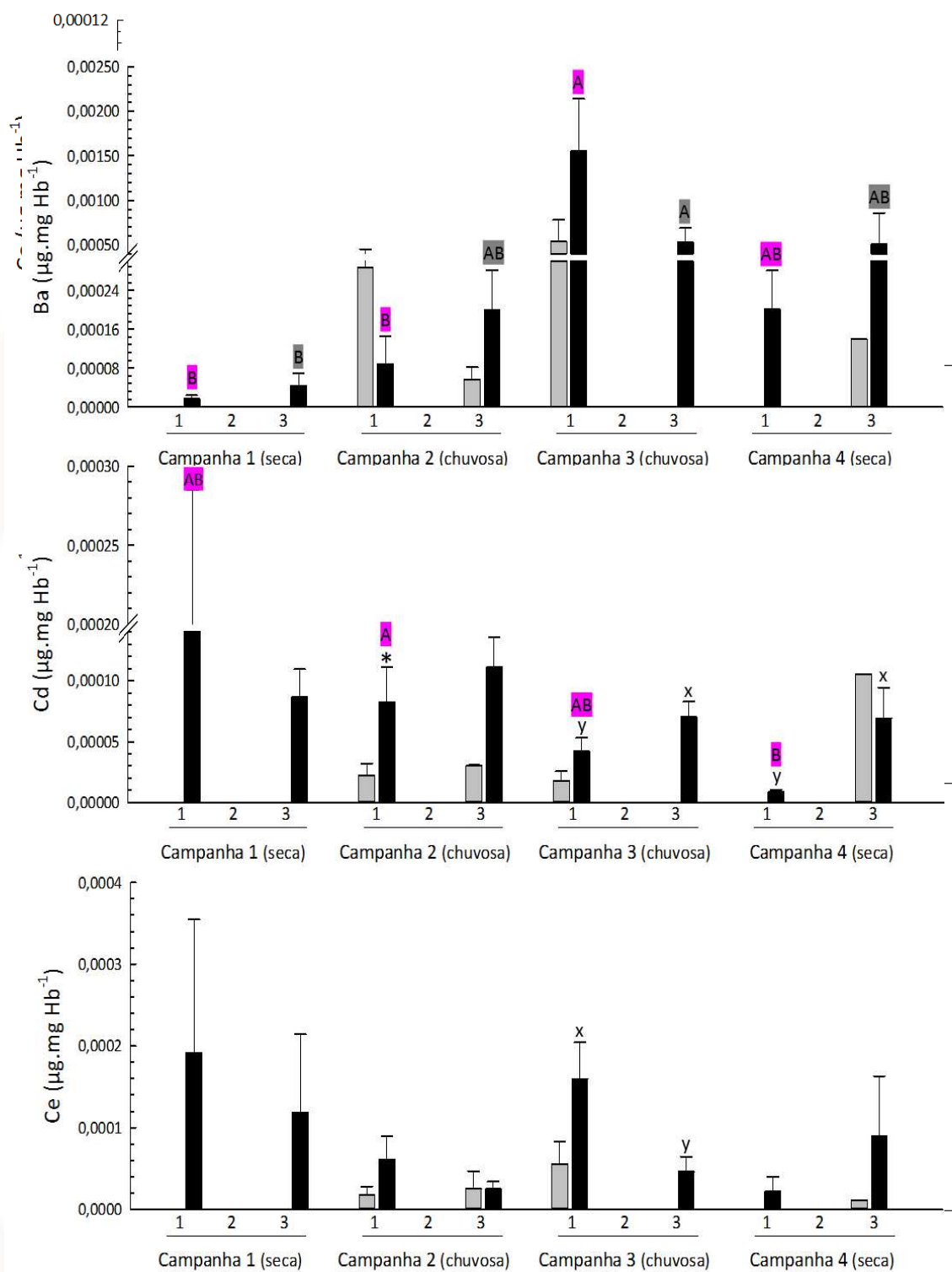
Em relação às diferenças entre as campanhas, as maiores alterações nas concentrações foram observadas no compartimento 3. No entanto, quando observadas as comparações para o ponto DA no compartimento 1, identifica-se que os elementos Ag e La tiveram concentrações superiores na campanha 3 em relação a campanha 4; o elemento Ba teve concentração superior na campanha 3 e relação as campanhas 1 e 2; os elementos Cd e Sb tiveram concentrações superiores na campanha 2 em relação a campanha 4 e, o elemento Hg teve concentração superior na campanha 2 em relação a 3. Quando observadas as comparações para o ponto DA no compartimento 3, identifica-se que o elemento Al apresentou maior concentração na campanha 1 em relação a campanha 3; os elementos As, Ba e Pb apresentaram maiores concentrações na campanha 3 em relação a campanha 1; o elemento Cr apresentou maior concentração na campanha 4 em relação as campanhas 1 e 3; os elementos Cu e Fe apresentaram maiores concentrações na campanha 3 em relação as campanhas 1

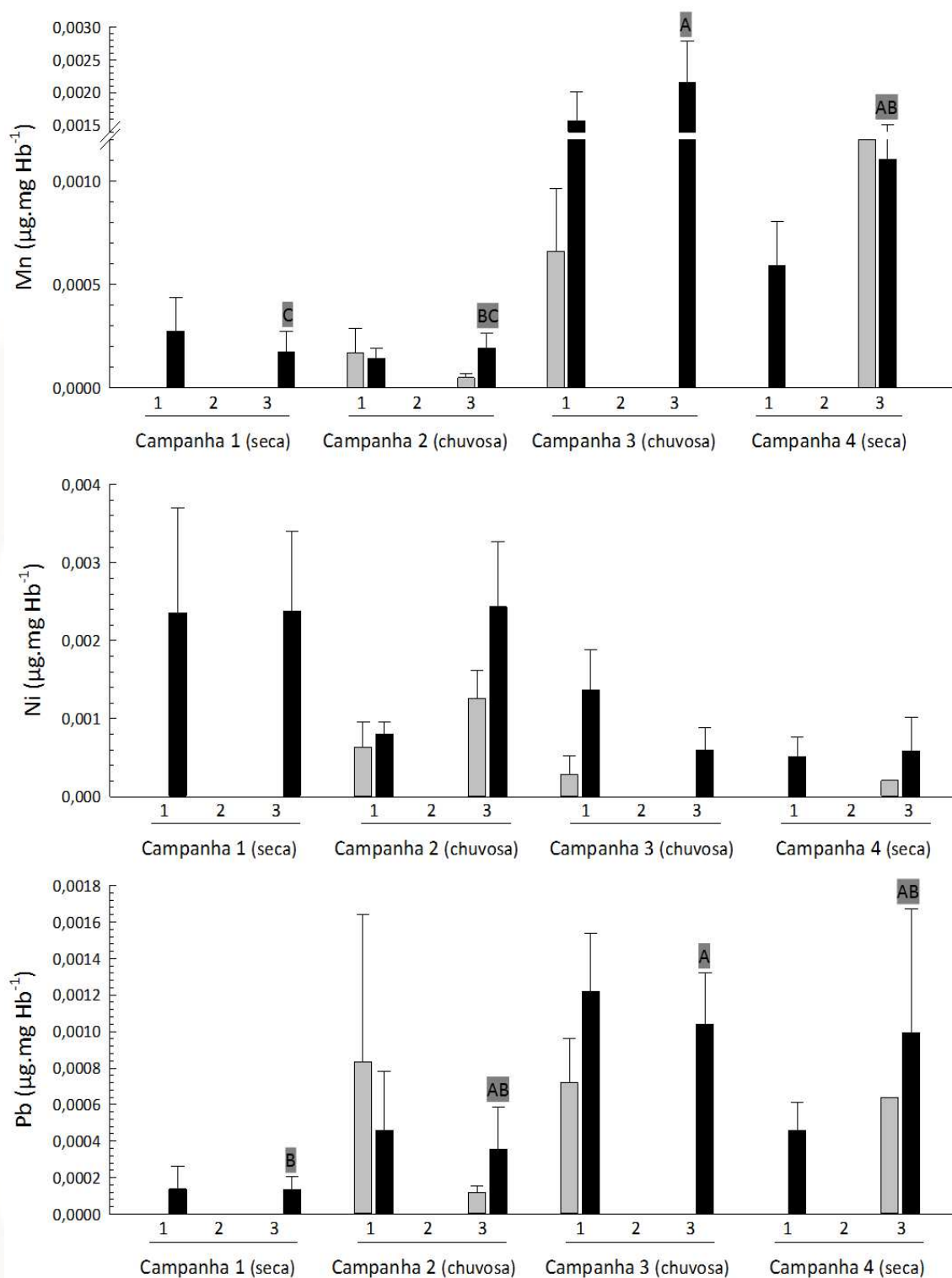
e 4; o elemento La apresentou maior concentração nas campanhas 2 e 3 em relação a campanha 1; os elementos Mn e Se apresentaram maiores concentrações na campanha 3 em relação as campanhas 1 e 2; o elemento Mn apresentou, ainda, maior concentração na campanha 4 em relação a campanha 1; o elemento Sb apresentou maior concentração na campanha 2 em relação as campanhas 3 e 4 e, por fim, o elemento Sn apresentou maior concentração nas campanhas 3 e 4 em relação a campanha 1 (Figura 220).

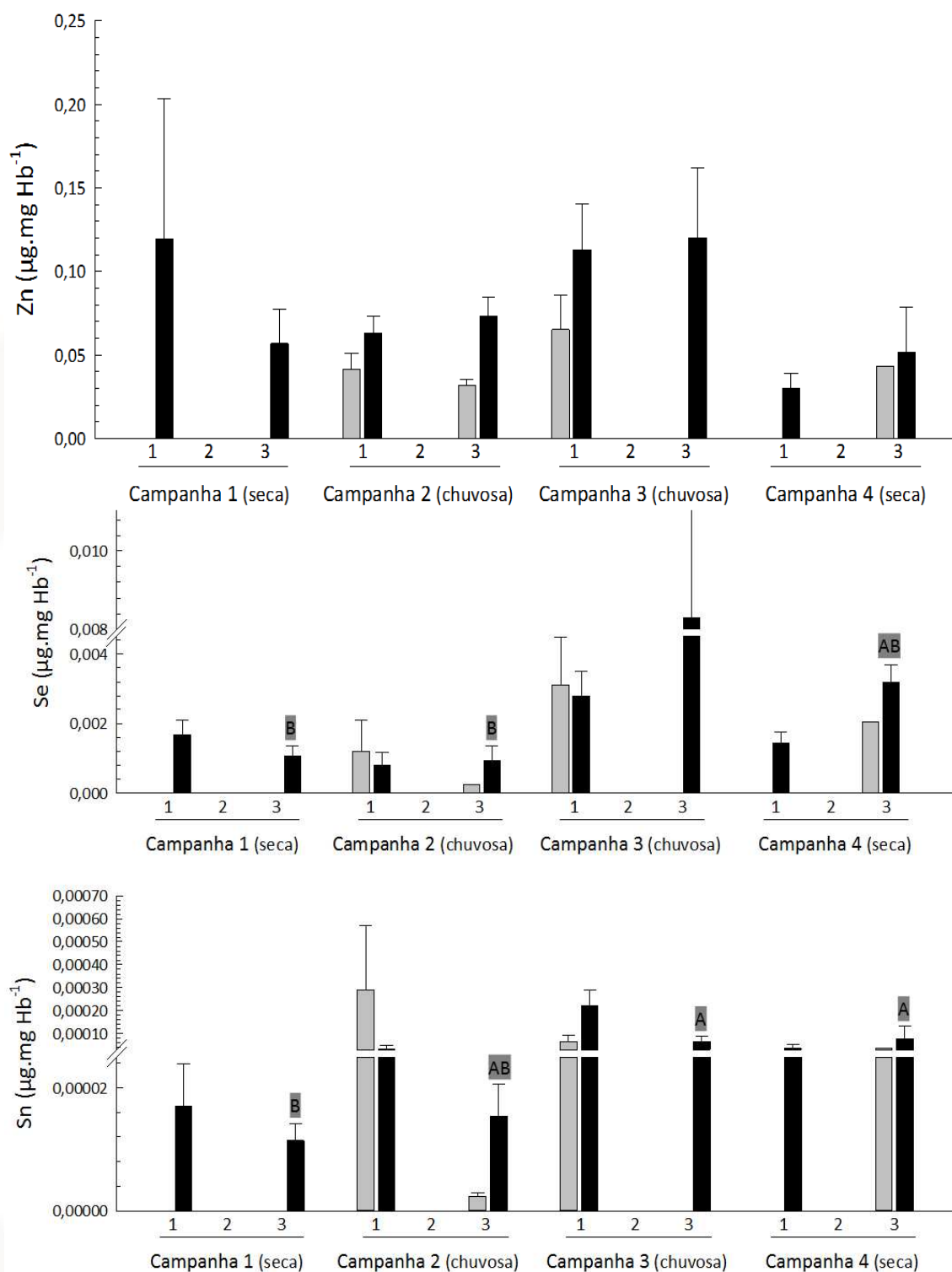
Figura 220. Concentrações de EPTs determinados em hemolisado sanguíneo ($\mu\text{g}\cdot\text{mg Hb}^{-1}$) da herpetofauna (anfíbios) capturados nos pontos C (colunas cinzas) e DA (colunas pretas) em cada um dos compartimentos (1, 2 e 3) da bacia do rio Doce ao longo de quatro campanhas amostrais









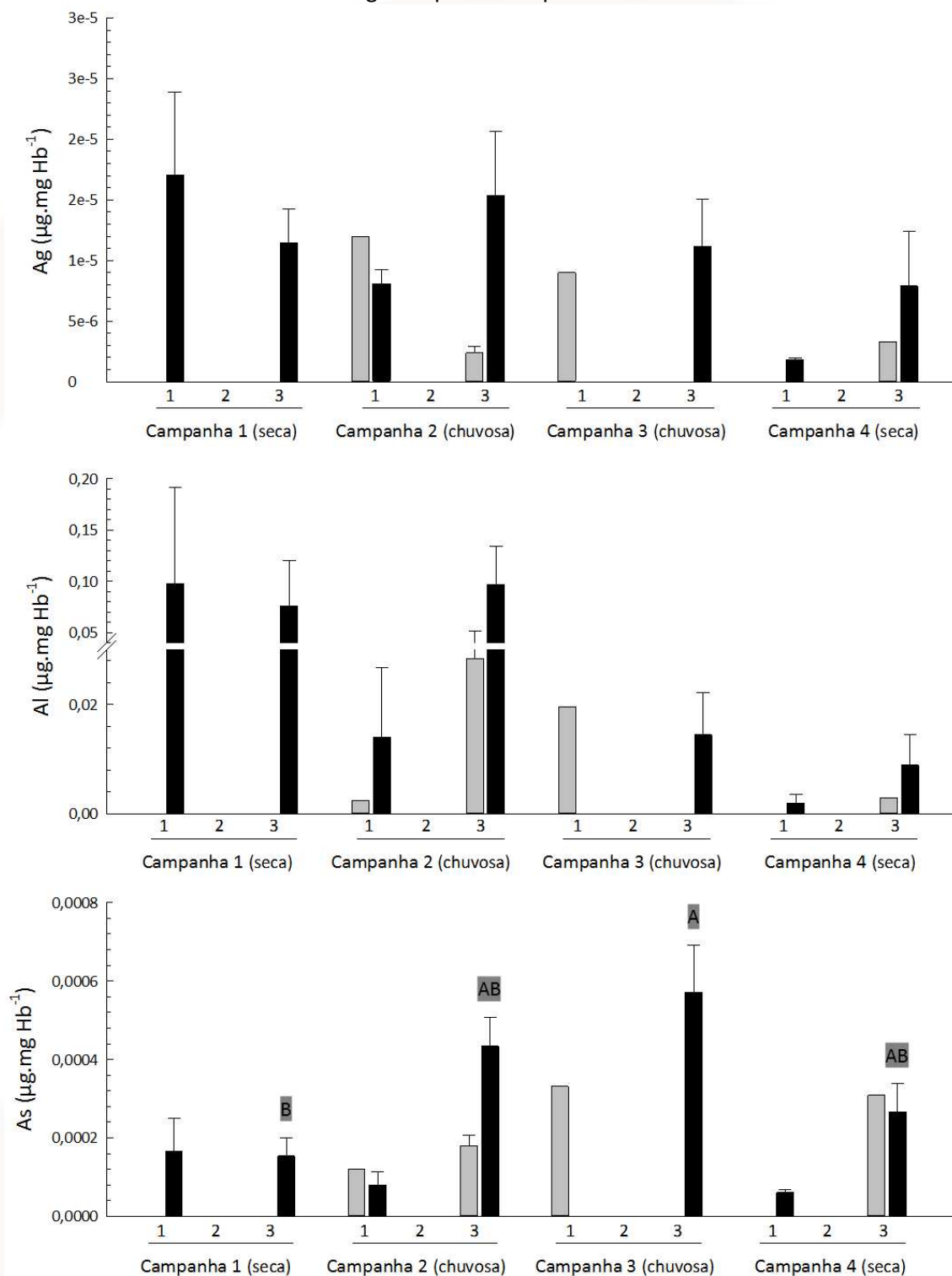


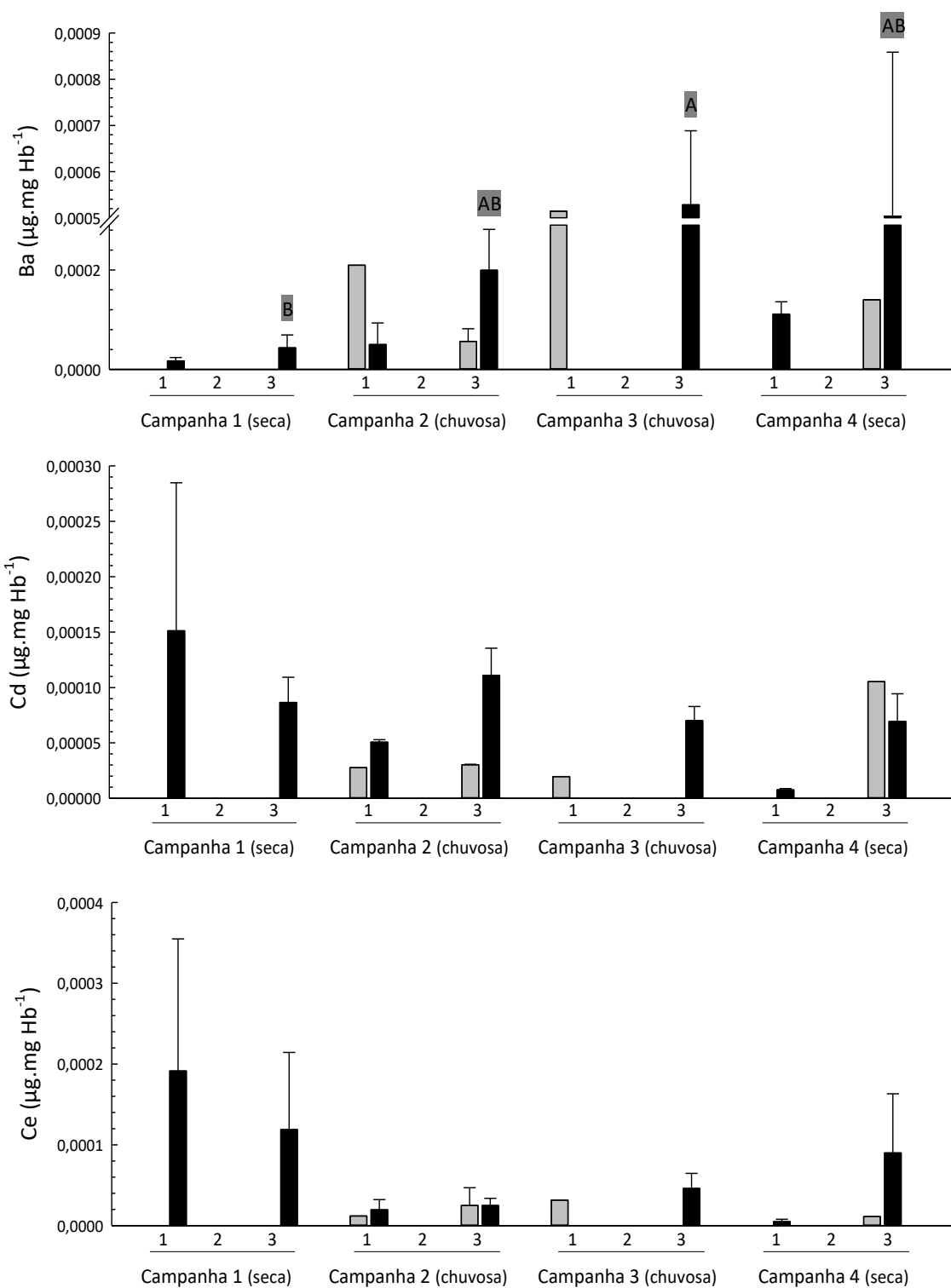
Asterisco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma campanha. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no

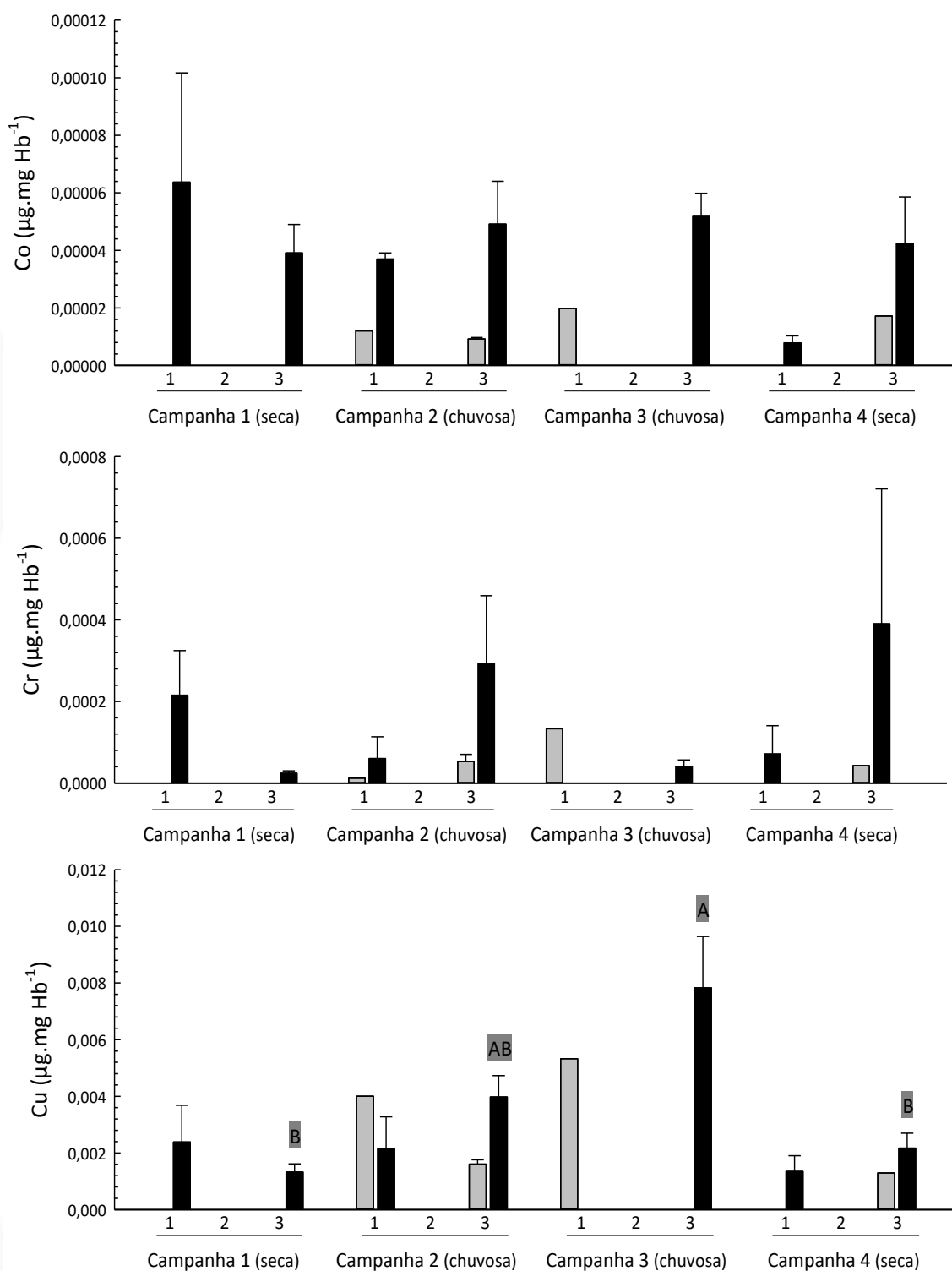
ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

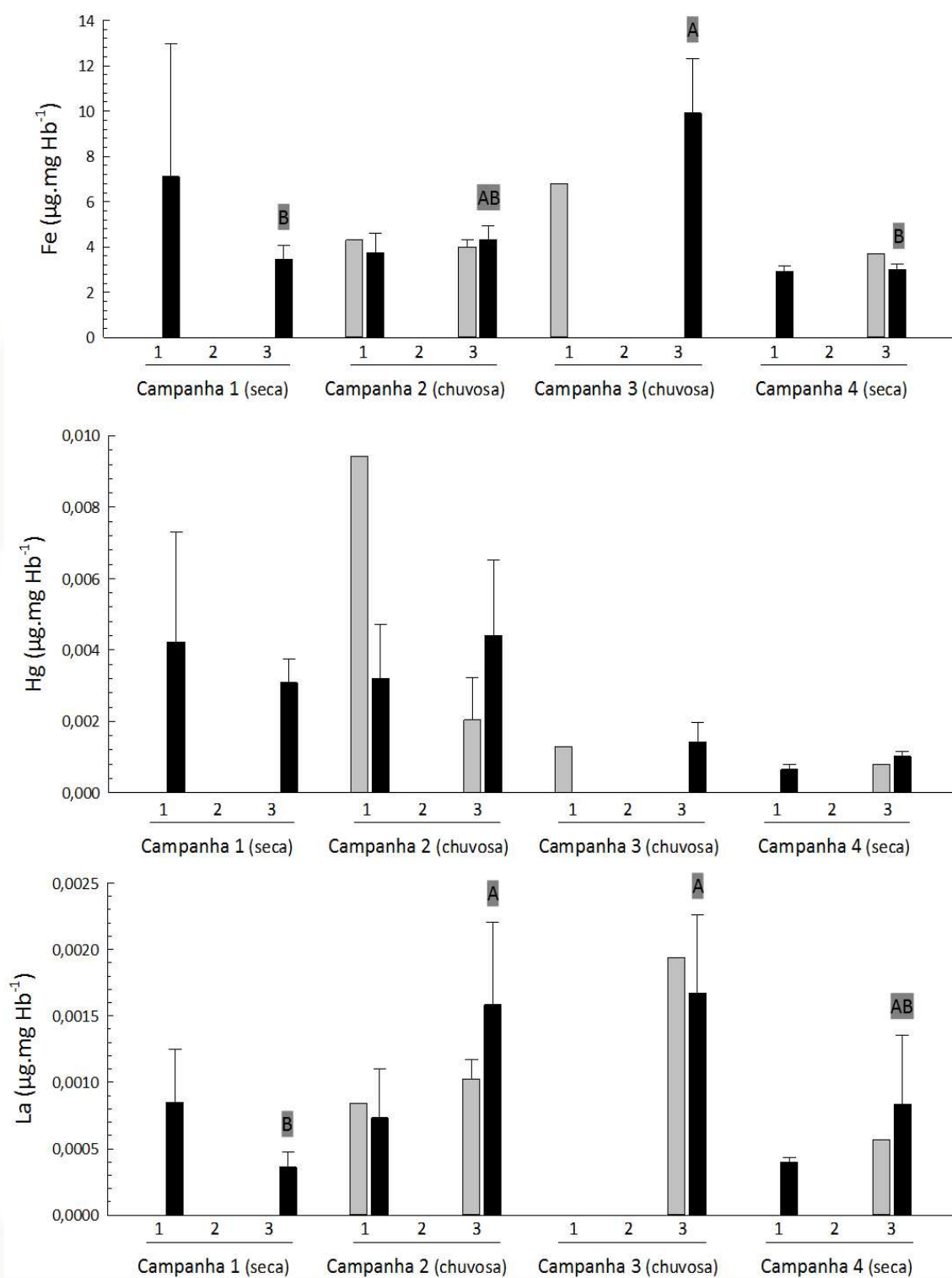
Quando os anfíbios foram agrupados na família Bufonidae não foi identificada diferença entre os pontos C e DA, embora tenha existido uma tendência de maiores concentrações de EPTs nos animais capturados no ponto DA, especialmente no compartimento 3 das campanhas 2 e 4 (Figura 221). Também não houve diferença entre os compartimentos de uma mesma campanha, independentemente do ponto avaliado (C ou DA). No entanto, a comparação entre as concentrações de EPTs ao longo das campanhas permitiu identificar que durante a campanha 3, nove (As, Ba, Cu, Fe, La, Mn, Pb, Se e Sn) dos 19 EPTs avaliados apresentaram maiores concentrações nos animais capturados no ponto DA do compartimento 3 em relação aos capturados neste mesmo compartimento durante a campanha 1. Os animais capturados no compartimento 3 da campanha 3 tiveram, ainda, concentrações de Fe superiores as determinadas nos animais capturados na campanha 4 e, de Mn e Se superiores que as determinadas nos animais capturados na campanha 2. Os animais capturados na campanha 2 apresentaram concentrações de La superiores as determinadas nos animais capturados durante a campanha 1 e, Sb em concentrações superiores que as determinadas nos animais capturados nas campanhas 3 e 4. Apenas o elemento Sn apresentou concentrações superiores nos animais capturados na campanha 2 quando comparados aos animais capturados na campanha 1 (Figura 221).

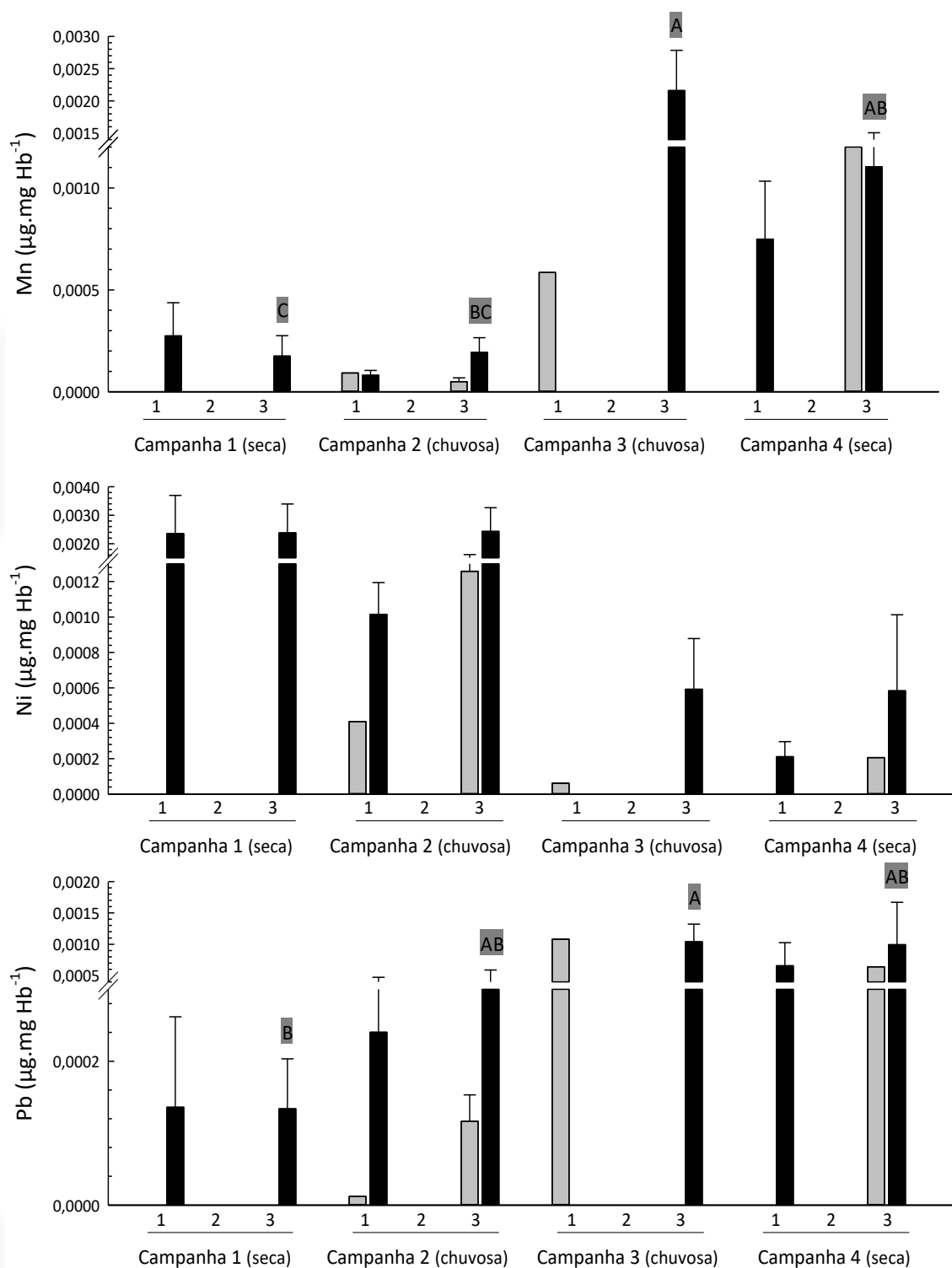
Figura 221. Concentrações de EPTs determinados em hemolisado sanguíneo ($\mu\text{g} \cdot \text{mg Hb}^{-1}$) da herpetofauna (anfíbios) pertencentes a família Bufonidae que foram capturados nos pontos C (colunas cinzas) e DA (colunas pretas) em cada um dos compartimentos (1, 2 e 3) da bacia do rio Doce ao longo de quatro campanhas amostrais

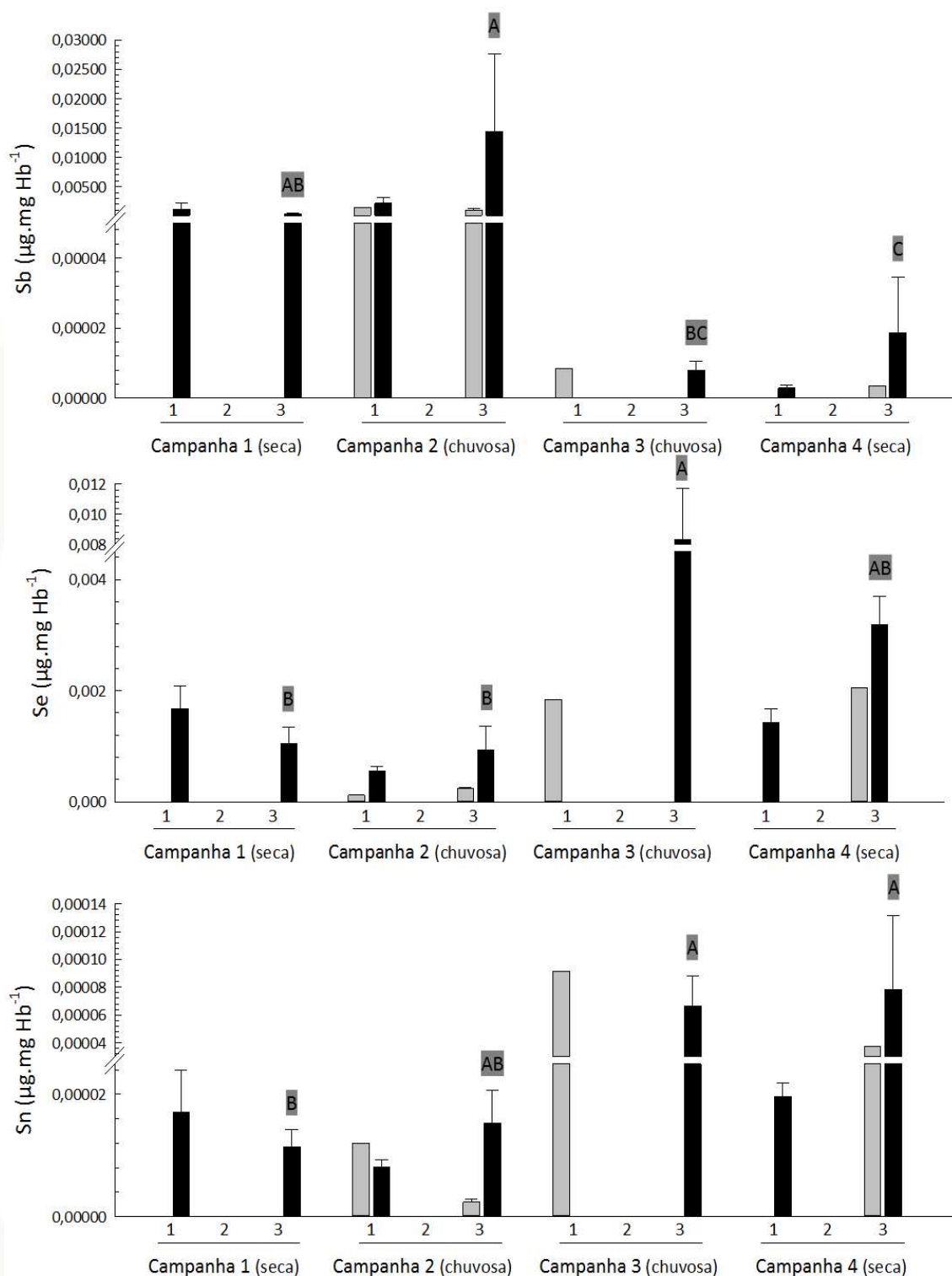




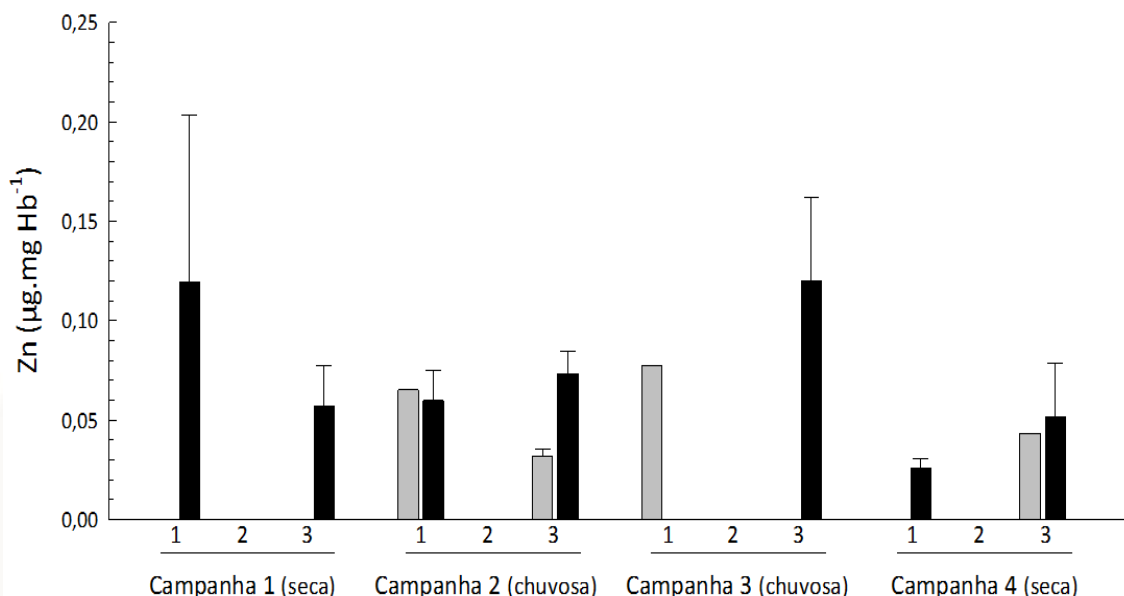








Asterisco (*) representa diferença significativa entre os animais capturados no ponto C em relação aos capturados no ponto DA de um mesmo compartimento e campanha. Letras minúsculas (abc e xyz) indicam diferença significativa entre as respostas apresentadas pelos animais capturados nos pontos C e DA, respectivamente, entre compartimentos de uma mesma. Letras maiúsculas (ABC) coloridas indicam diferença significativa entre as respostas dos animais capturados nos pontos C ou DA de um mesmo compartimento nas diferentes campanhas, sendo: verde limão – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 1; rosa – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 1; verde escuro – diferença entre os animais capturados no ponto C do compartimento 2; verde militar – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 2; vermelho – diferença entre os animais capturados no



ponto C do compartimento 3; cinza – diferença entre os animais capturados no ponto DA do compartimento 3. Resultados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média, $p < 0,05$.

Discussão

Os anfíbios anuros são organismos que apresentam elevada importância ecológica por atuarem no controle de populações de insetos e outros invertebrados e, portanto, contribuir para o equilíbrio ecossistêmico (NASCIMENTO et al., 2009; GONÇALVES et al., 2012). Esses animais apresentam, ao longo do desenvolvimento, estágios muito distintos em cada um dos ambientes, aquático e terrestre, que habitam. Durante sua fase larval, considerada uma das fases mais sensíveis do desenvolvimento desses animais, esses organismos são totalmente dependentes do ambiente aquático, o que favorece a adsorção, através das brânquias ou de seu tegumento fino e altamente permeável, de contaminantes presentes no meio (VENTURINO et al., 2003; VENTURINO; D'ANGELO, 2005; DONALD; TRAJANOVSKA, 2006; PESSIER, 2009; EGEA-SERRANO et al., 2012; GONÇALVES et al., 2012; ZOCHE et al., 2013; LANCTÔT et al., 2016; MONTALVÃO et al., 2016; OTERO et al., 2018; SILVA et al., 2018; VIDAL et al. 2018; DO AMARAL et al., 2019; GIROTTO et al., 2020; LORENZO et al., 2020). Várias espécies de girinos se alimentam de detritos do fundo e, portanto, podem ser expostos a sedimento contaminado e metais precipitados (GIROTTO et al., 2020). Quando adultos, por se tratarem de organismos insetívoros, tornam-se ainda mais susceptíveis ao acúmulo de EPTs, uma vez que artrópodes se contaminam facilmente e constituem um importante elo de transferência desses elementos ao longo da rede trófica (VIEIRA et al., 2013; LANCTÔT et al., 2016; SANTOS, 2017; TURZÁŃSKA-PIETRAS et al., 2018; OLIVEIRA, 2019). Além disso, no papel de presa, estes organismos também constituem um importante elo de acúmulo e transferência de poluentes entre os ambientes aquático e terrestre (OTERO et al., 2018). Ainda, outras características fazem com que esses organismos sejam considerados bastante sensíveis e, até mesmo, vulneráveis à contaminação e/ou

alteração da qualidade ambiental, tais como: limitada capacidade de dispersão, área geográfica de vida restrita, baixa mobilidade e ovos e embriões desprotegidos (VENTURINO et al., 2003; VENTURINO; D'ANGELO, 2005; DONALD; TRAJANOVSKA, 2006; PESSIER, 2009; HAYES et al., 2010; EGEE-SERRANO et al., 2012; GONÇALVES et al., 2012; ZOCHE et al., 2013; SASAKI et al., 2015; LANCTÔT et al., 2016; MONTALVÃO et al., 2016; SILVA et al., 2018; VIDAL et al. 2018; DO AMARAL et al., 2019; LORENZO et al., 2020). Não obstante, são os únicos vertebrados que possuem uma metamorfose regulada por cascatas de hormônios que são muito influenciadas pelas condições ambientais (LORENZO et al., 2020). Todas essas características fazem com que os anfíbios sejam considerados cerca de 30% mais sensíveis aos impactos de elementos e substâncias potencialmente tóxicas (ESPTs) que aves e mamíferos (VENTURINO et al., 2003; VENTURINO; D'ANGELO, 2005; NASCIMENTO et al., 2009; HAYES et al., 2018; LORENZO et al., 2020).

Dentre os táxons de vertebrados, os anfíbios apresentam o maior número de espécies ameaçadas de extinção e, a poluição ambiental é apontada como o principal fator de ameaça às populações desse grupo (VENTURINO et al., 2003; VENTURINO; D'ANGELO, 2005; HAYES et al., 2010; EGEE-SERRANO et al., 2012; IUCN, 2016; LANCTÔT et al., 2016; OTERO et al., 2018; LORENZO et al., 2020). O declínio mundial das populações de anfíbios é a maior preocupação para a conservação da herpetofauna, uma vez que das 7 mil espécies de anfíbios conhecidas 32% estão sob algum grau de ameaça (HAYES et al., 2010; EGEE-SERRANO et al., 2012; IUCN, 2016). Além disso, as maiores taxas de extinção vêm sendo registradas nas últimas décadas (HAYES et al., 2010; EGEE-SERRANO et al., 2012; IUCN, 2016; NEKRASOVA; KUIBIDA, 2018; LORENZO et al., 2020). Dentre a grande variedade de contaminantes ambientais, os metais e metalóides são apontados como os mais perigosos, pois, apresentam elevada toxicidade, mesmo que em baixas concentrações (QUINTELA et al., 2019) e, porque muitos dos efeitos que estem podem induzir na biota são mal compreendidos, especialmente quando se trata de anfíbios e, principalmente na fase adulta (SASAKI et al., 2016; ORTIZ-SANTALIESTRA et al., 2017; GIROTTTO et al., 2020). Sabe-se, no entanto, que anfíbios são particularmente sensíveis a EPTs, os quais são reconhecidos por funcionar como disruptores endócrinos por prejudicarem a integridade do eixo Hipotálamo – Pituitária – Adrenal (HPA), por causar alterações estruturais e de funcionamento dos rim e do fígado, alterações comportamentais, no transporte de oxigênio, má-formações (anatômicas e fisiológicas) durante o desenvolvimento, danos ao DNA, danos a mecanismos como ciclo redox e metabolismo, ao sistema imune e em funções enzimáticas diversas (VENTURINO et al., 2003; VENTURINO; D'ANGELO, 2005; CARVALHO et al., 2016; LANCTÔT et al., 2016; SASAKI et al., 2016; HAYES et al., 2018; NEKRASOVA; KUIBIDA, 2018; OTERO et al., 2018; FLEEGER, 2020; GIROTTTO et al., 2020).

Apesar da relevância desse grupo de fauna e dos efeitos passíveis de serem causados por EPTs nesses organismos, o *status* de ameaça desses animais tem dificultado a realização de pesquisas

ecotoxicológicas com os mesmos. No entanto, devido a importância da avaliação da concentração de contaminantes e dos efeitos desses sobre a saúde e conservação de animais silvestres e/ou protegidos, métodos não letais e/ou pouco invasivos estão sendo empregados com vistas a reduzir os impactos, mas, ainda assim, fornecer instrumentos à conservação (BURGER et al., 2005; FERREIRA, 2011; SECONPON et al., 2011; FRANTZ et al., 2012; KLER; VASHISHAT; KUMAR, 2014; ABDULLAH et al., 2015; BAESSE, 2015; MARCHESI et al., 2015; IUCN, 2016; BORGHESI et al., 2017; DINÇ; YIGIN; BOZKAYA, 2019; JASPERS et al., 2019; KALISIŃSKA, 2019; BUENFIL-ROJAS et al., 2020). São várias as matrizes orgânicas que podem ser utilizadas em substituição aos métodos de análises que empregam órgãos. O sangue tem se mostrado uma das opções mais viáveis dentre as amostragens não letais ou destrutivas e, inclusive, a mais frequentemente utilizada em estudos com populações silvestres e/ou protegidas (IUCN, 2016; BUENFIL-ROJAS et al., 2020). Embora seja um tecido de transporte, o sangue vem sendo muito utilizado em estudos sobre efeitos de EPTs, pois, os eritrócitos sequestram esses elementos, provavelmente como um mecanismo que evita o acúmulo dos mesmos em outros tecidos. Esse comportamento permite que o sangue funcione como indicador dos efeitos causados por elementos transientes e persistentes no organismo em consequência da exposição crônica (BURGER et al., 2005; BUENFIL-ROJAS et al., 2020).

Com base nisso, no presente estudo, exemplares adultos de anuros foram capturados e tiveram amostras de sangue coletadas para a avaliação dos efeitos subletais, bem como da concentração de EPTs. Apesar do baixo número de indivíduos capturados ao longo das quatro campanhas, a análise da condição de saúde e da concentração de EPTs em hemolisado sanguíneo destes organismos permitiu identificar que os anfíbios capturados nos pontos DA apresentaram alterações nesses biomarcadores, especialmente no compartimento três da terceira campanha, independentemente do agrupamento realizado (todos os indivíduos ou família Bufonidae). Apesar disso, alguns biomarcadores, como por exemplo os de genotoxicidade e mutagenicidade, também apresentaram alterações nos organismos capturados no compartimento 1. No que diz respeito as alterações nas concentrações de EPTs, além da campanha 3, observou-se que na campanha 2 também houve número significativo de elementos em elevadas concentrações, situação esta, totalmente compatível à maior pluviosidade nestes períodos amostrais. É importante mencionar que mesmo os animais capturados no ponto C apresentaram elevadas concentrações de EPTs, porém, essas concentrações não diferiram entre os pontos e compartimentos tampouco variaram ao longo do tempo, o que pode ter relação com a ocorrência pretérita de EPTs em toda a extensão da bacia hidrográfica do rio Doce (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2018a; 2019d). Ressalta-se, no entanto, que a mobilização de respostas dos sistemas antioxidantes e de biotransformação, alterações na osmolalidade e nas concentrações plasmáticas de elementos essenciais à manutenção da homeostasia e metabolismo, bem como danos ao DNA, peroxidação lipídica, elevada concentração de Cd em

relação aos animais do ponto C (campanha 2) e variações nas concentrações de EPTs, entre os compartimento e ao longo do tempo, só foram identificadas nos pontos que tiveram contato com a lama (pontos DA), retratando a influência do desastre.

A poluição ambiental por EPTs constitui um sério problema, com implicações ambientais, ecológicas e econômicas. Os diferentes elementos determinados no rejeito da barragem de Fundão (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2018f) e identificados nos organismos avaliados no presente estudo, são reconhecidos por desencadear, inicialmente, importantes danos sobre os organismos, tais como: aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), especialmente se a exposição for de médio a longo prazo. ROS danificam biomoléculas (por oxidação de DNA, lipídios e proteínas) e estruturas celulares contribuindo para a senescência celular, disfunção e/ou necrose de tecidos e órgãos, efeitos esses, que se não evitados ou contornados, poderão afetar o desempenho geral do organismo, a capacidade reprodutiva e, em última instância, levar à morte (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003; VENTURINO et al., 2003; VENTURINO; D'ANGELO, 2005; HAYES et al., 2010; WOOD, 2012; LANCTÔT et al., 2016; SASAKI et al., 2016; HAYES et al., 2018; PROKIĆ et al., 2018). Concomitantemente, esses elementos podem afetar toda a vida selvagem, uma vez que os mesmos são transferidos do ambiente à biota, acumulados em diferentes níveis tróficos e distribuídos entre as cadeias e teias alimentares (WOOD, 2012; LANCTÔT et al., 2016; SASAKI et al., 2016; ALI; KHAN, 2018; HAYES et al., 2018; OTERO et al., 2018; PROKIĆ et al., 2018; FLEEGER, 2020).

Veronez et al. (2016) em estudo realizado com girinos da espécie *Lithobates catesbeianus*, concluíram que a exposição por 30 dias a minério de ferro ou a tratamentos isolados com Fe e Mn desencadeiam prejuízos à saúde de anfíbios, manifestados por danos genotóxicos, como quebras nos cromossomos e alterações em processos de divisão celular e alterações bioquímicas, como estresse oxidativo, bioacumulação, além de retardo na metamorfose. Do mesmo modo, Carvalho et al. (2017; 2020) identificaram uma série de alterações em parâmetros sanguíneos, no transporte de oxigênio, nos níveis de metalotioneína, e na bioacumulação dos elementos Zn, Cd e Cu em girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* expostos a 1 µg.L⁻¹ desses elementos, sozinhos ou em combinação. Tal condição confirma que EPTs, mesmo os considerados essenciais, podem causar disfunções em anuros. Embora os resultados do presente estudo tenham sido obtidos através da análise de hemolisado sanguíneo e plasma de anfíbios adultos de espécies distintas a supracitada, muitos dos prejuízos indicados pelos autores foram evidenciados nos anfíbios capturados no ponto DA dos compartimentos 1 e 3.

Juncá et al. (2017), em estudo realizado 2 anos após o rompimento da barragem de Fundão, com girinos capturados em 25 pontos, incluindo poças, lagos e rios, entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo, indicaram aumento nas concentrações de EPTs (Al, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Ti, V e Zn) em girinos capturados nos pontos afetados pela passagem da onda de lama. Nesses pontos, os

metais mais acumulados pelos girinos foram: Fe (concentrações entre 344,03 a 4,673 mg/kg), Al (concentrações entre 150,32 a 3,308 mg/kg), Mn (concentrações entre 20,32 a 821,87 mg/kg) e Zn (concentrações entre 26,83 a 117,71 mg/kg), exatamente os elementos encontrados em maiores concentrações no rejeito extravasado da barragem (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2018f). Além disso, relataram a inexistência de girinos em 11 dos pontos selecionados para amostragem, embora, estes organismos fossem, no passado, comumente amostrados em todos os pontos selecionados. Nos pontos atingidos pela lama houve, ainda, menor diversidade e disponibilidade de girinos em relação aos pontos controle, o que indica grave comprometimento dos anfíbios dos pontos que foram diretamente expostos ao rejeito. Girotto et al. (2020), em estudo com girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* expostos, de forma aguda e crônica, a solução estoque (50 g.L⁻¹) contendo rejeitos de mineração proveniente da barragem de Fundão e a diluições dessa (10, 25, 50 e 75%), identificaram que a partir 16 dias os girinos apresentaram danos morfológicos e comportamentais como, por exemplo, redução na capacidade natatória e no consumo de oxigênio. Os girinos demonstraram ingerir rejeitos, pois, além do acúmulo de cádmio (Cd), chumbo (Pb), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e alumínio (Al), rejeito foi encontrado impregnado na boca e intestino dos organismos, explicando não somente os danos identificados como, também, a mortalidade de alguns espécimes durante os experimentos. Os autores mencionaram que em ambiente natural espécimes de *L. catesbeianus* são dotados da capacidade de migrar de áreas contaminadas para não contaminadas, porém, essa capacidade foi perdida nos girinos expostos ao rejeito da barragem de Fundão. Evitar ambientes contaminados é uma importante estratégia para organismos aquáticos, porém, a incapacidade de utilizar este comportamento amplia sobremaneira os efeitos deletérios dos EPTs sobre esses organismos. Deste modo, todas as condições confirmam os riscos à saúde e ao desempenho desses animais e, conseqüentemente, o comprometimento de relações inter e intra-específicas em toda a área acometida pela passagem da onda de lama.

O presente trabalho também identificou ausência de espécies aquáticas e, baixa disponibilidade de espécies fossoriais e terrestres no ponto DA do compartimento 3 (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2020d). Nos compartimentos 1 e 2 a situação foi ainda mais grave, pois, praticamente não foram encontrados espécimes deste grupo taxonômico, sejam eles aquáticos, fossoriais ou terrestres. Essa condição, muito provavelmente, tem relação com o fato de que nestes compartimentos estes organismos, que são pouco aptos à fuga (VENTURINO et al., 2003; VENTURINO; D'ANGELO, 2005; DONALD; TRAJANOVSKA, 2006; PESSIER, 2009; HAYES et al., 2010; GONÇALVES et al., 2012; ZOCHE et al., 2013; SASAKI et al., 2015; MONTALVÃO et al., 2016; SILVA et al., 2018; VIDAL et al. 2018; DO AMARAL et al., 2019; LORENZO et al., 2020), tenham sido soterrados pela grande quantidade de material e/ou força destrutiva da onda de lama (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2020d; GIROTTO et al., 2020). Além disso, esses compartimentos (especialmente o compartimento 1)

sofreram intensa alteração ambiental, a qual resultou tanto no isolamento de fragmentos florestais quanto na redução da qualidade desses ambientes, o que culminou em baixo número ou inexistência de organismos ao longo das amostragens (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2020d). Ressalta-se que a maior parte dos espécimes capturados ao longo das campanhas, especialmente, nos pontos DA dos diferentes compartimentos, corresponderam a organismos pertencentes a gêneros que incluem espécies generalistas, com grande plasticidade ambiental e, conseqüentemente, capacidade de se adaptar a áreas alteradas (BRASIL (MPF)/LACTEC, 2020d). Os achados supracitados são totalmente compatíveis ao estudo realizado por Sasaki et al. (2015), os quais também identificaram menor riqueza, diversidade e abundância de espécies de anfíbios, bem como declínio populacional ao longo de um gradiente crescente de destruição de hábitat e de poluição por metais. Ainda, identificaram aumento da toxicidade desses elementos sobre os espécimes de forma diretamente proporcional ao aumento da temperatura. Essa condição indica que em períodos mais secos esses animais se tornarão ainda mais vulneráveis aos efeitos desses poluentes. Lanctôt et al. (2016), por sua vez, identificaram atraso no desenvolvimento, alterações comportamentais, relacionadas a capacidade de fuga e busca por alimentos, bioacumulação e redução na sobrevivência de girinos da espécie *Limnodynastes peronii* expostos a elevadas concentrações de metais e metalóides. Todas essas alterações podem causar prejuízos drásticos ao desempenho individual (*fitness*) e à população e comunidade dos ecossistemas onde estes animais estão inseridos, especialmente se associados a outros fatores ambientais desfavoráveis.

A atividade de mineração representa uma das principais fontes de alterações físico-químicas, biológicas e paisagísticas, visto que os rejeitos produzidos contêm uma mistura complexa de contaminantes (OTERO et al., 2018). Minas Gerais é o estado brasileiro com maior atividade minerária e, também, com os maiores problemas ambientais relacionados a esta atividade (GIROTTI et al., 2020). Lamentavelmente, é importante chamar a atenção de que as margens do rio Doce constituíam uma das áreas com maior diversidade de anfíbios do estado de Minas Gerais na qual, inclusive, haviam registros de espécies endêmicas, com características únicas e com estreita relação com a Mata Atlântica litorânea do Espírito Santo (NASCIMENTO et al., 2009). Assim, tendo em vista que a perda de hábitat é uma das principais ameaças à biodiversidade, a destruição, degradação e fragmentação de habitats ocasionada pelo desastre poderá fazer com que haja redução ou, até mesmo, indisponibilidade de sítios reprodutivos e de microambientes essenciais à alimentação, os quais constituem fatores-chave na estrutura da comunidade de anfíbios (HAYES et al., 2010; HAYES et al., 2018). Diante disso, além da exposição a contaminação que perdura na região, haverá desequilíbrios nas interações ecológicas (principalmente nas interações associadas à predação ou competição) que, inevitavelmente, culminarão em redução na diversidade e disponibilidade de espécies de anfíbios, assim como já encontrado, podendo desencadear extinções locais, bem como grandes mudanças nas

populações e/ou comunidades ao longo de toda a extensão da bacia do rio Doce. Além disso, essas comunidades tornar-se-ão mais vulneráveis a outros fatores de estresse, como a própria redistribuição dos contaminantes presentes nos ambientes afetados, mudanças climáticas e espécies invasoras, podendo chegar a interromper a função e os serviços dessas populações e comunidades e, até mesmo, a integridade de todo o ecossistema (HAYES et al., 2010; ALI; KHAN, 2018; HAYES et al., 2018; PROKIĆ et al., 2018; FLEEGER, 2020).

Com base nos resultados apresentados os danos foram classificados quanto:

a) Gravidade:

O dano foi considerado gravíssimo uma vez que, independentemente do agrupamento realizado e compartimento avaliado, os anuros capturados nos pontos DA foram os únicos que apresentaram alterações nas condições de saúde e variações nas concentrações de EPTs entre pontos de um mesmo compartimento e ao longo do tempo. Além disso, como foi identificada redução na riqueza, abundância e diversidade desses organismos, bem como a ocorrência, principalmente, de espécies generalistas e oportunistas, esse dano também denota o comprometimento dos habitats remanescentes, bem como da dinâmica de uso do ambiente pelas anfíbios o que, a longo prazo, pode levar à diminuição do fluxo gênico, perda da conectividade e redução de populações de espécies mais sensíveis.

Ressalta-se que a bacia do rio Doce constituía uma das áreas com maior diversidade de anfíbios do estado de Minas Gerais na qual, inclusive, haviam registros de espécies endêmicas, com características únicas. Dezesete espécies de anuros da região, como algumas pertencentes aos gêneros *Hypsiboas* e *Proceratophrys*, foram classificadas como vulneráveis ou criticamente em perigo (NASCIMENTO et al., 2009). Não obstante, grande parte da área acometida pelo desastre encontra-se no Bioma Mata Atlântica, considerado prioritário para conservação. Ainda, em decorrência do desastre houve grande perda de habitat e/ou qualidade dos ambientes, especialmente aquáticos, os quais são imprescindíveis à reprodução e alimentação de anfíbios em sua fase larval de desenvolvimento. Assim, com o passar dos anos, esses danos podem ser amplificados a níveis populacionais, de comunidade e ecossistêmico.

b) Reversibilidade:

Embora alguns danos fisiológicos e bioquímicos até possam retroceder ao longo do tempo, a elevada dependência e constante exposição destes organismos ao ambiente aquático, cuja contaminação por rejeitos perdura, fará com os mesmos continuem absorvendo e, conseqüentemente, acumulando EPTs do meio. Além disso, essa acumulação pode ser amplificada

através da alimentação (biomagnificação) devido ao hábito e preferência alimentar desses animais por organismos que reconhecidamente acumulam grandes quantidades de EPTs. Portanto, os danos são considerados irreversíveis. Reforça-se que anfíbios são particularmente sensíveis a EPTs, reconhecidos por funcionar como disruptores endócrinos e por causar uma série de outras alterações que além de comprometer o *fitness* dos organismos podem alterar toda a dinâmica de relações inter e intra-específicas que poderão culminar em danos drásticos ao ecossistema.

c) Tendência:

Tanto a biocumulação quanto a biomagnificação não vão deixar de ocorrer uma vez que os contaminantes continuam disponíveis no ambiente. Deste modo, mesmo que as concentrações destes elementos diminuam ao longo dos anos e, sua biodisponibilidade varie ao longo do tempo, estes organismos continuarão expostos aos contaminantes e aos seus efeitos, os quais sozinhos ou em associação com outros fatores ambientais poderão trazer danos severos a estes organismos. Assim, a tendência destes danos é aumentar. Diante da importância da região acometida pelo desastre para a diversidade de anfíbios sugere-se o monitoramento contínuo dos aspectos ecológicos desses organismos, bem como das concentrações de EPTs, tanto em girinos quanto em adultos, para melhor acompanhamento dos danos.

3.2.2. HERPETOFAUNA (TARTARUGAS MARINHAS)

Foram obtidas e analisadas 82 amostras de sangue e músculo de filhotes de tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* (Figura 222), também conhecida como tartaruga-cabeçuda. Estas amostras foram obtidas na Reserva Biológica (REBIOS) Comboios, localizada no litoral do Espírito Santo, nos períodos reprodutivos entre os anos de 2015 a 2018. A reprodução desta espécie ocorre entre os meses de outubro e fevereiro considerando o intervalo entre desova e eclosão dos ovos (e.g. MARCOVALDI; MARCOVALDI, 1999), assim, a temporada reprodutiva de 2015/2016 correspondeu, exatamente, ao período de chegada da lama ao litoral do Espírito Santo, enquanto as demais temporadas avaliadas corresponderam a períodos pós-desastre. Deste modo, os resultados obtidos foram agrupados e comparados de acordo com a temporada reprodutiva (2015/2016; 2016/2017 e 2017/2018).

Figura 222. Imagem de um filhote de tartaruga marinha da espécie *Caretta caretta* (tartaruga-cabeçuda)



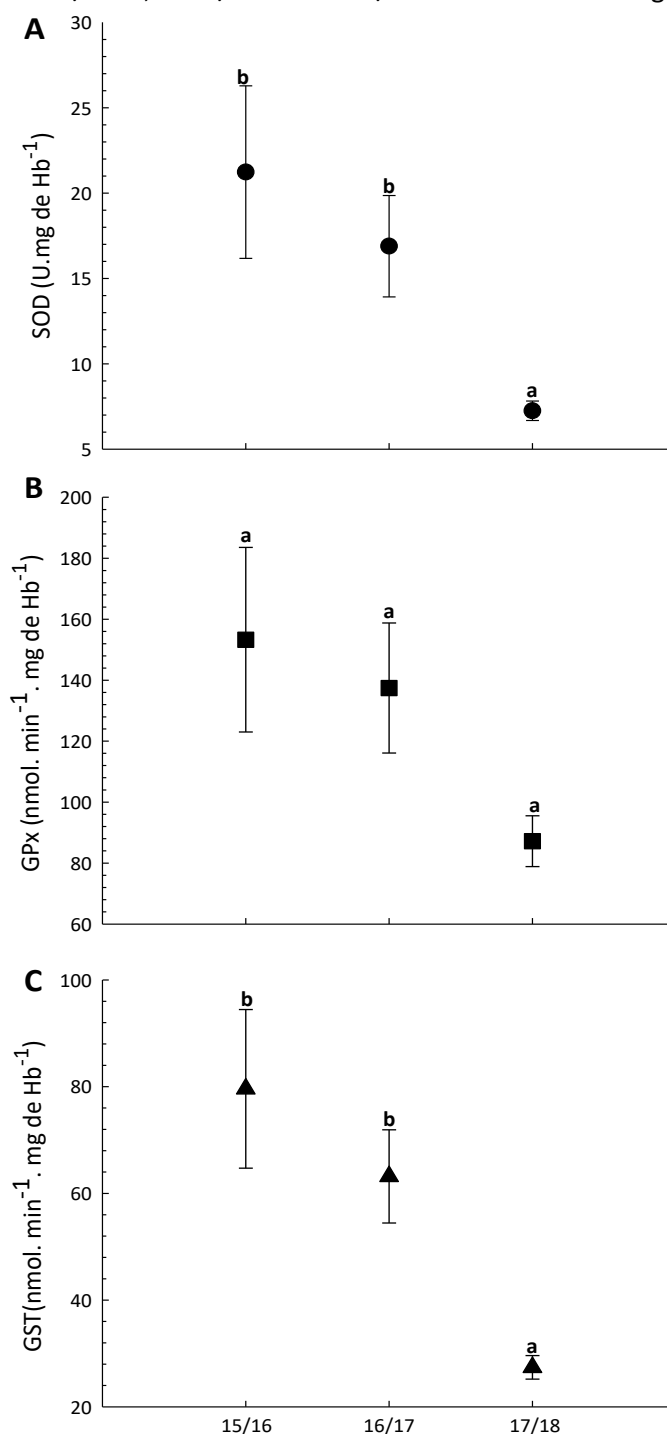
Fonte: Leonardo Merçon/Instituto Últimos Refúgios (2016).

3.2.2.1. ALTERAÇÕES NAS CONDIÇÕES CORPORAIS E/OU DE SAÚDE

Alterações nos sistemas antioxidante e de biotransformação – SOD, GPx, GST

As atividades das enzimas SOD e GST, determinadas em hemolisado sanguíneo de filhotes de tartaruga-cabeçuda, capturados no período reprodutivo do ano da ocorrência do desastre, ou seja 2015/2016, e no ano seguinte (2016/2017) estiveram maiores em relação aos filhotes capturados no período reprodutivo de 2017/2018. A atividade da enzima GPx, embora tenha se mostrado maior nos filhotes capturados nos anos de 2015/2016 e 2016/2017 em relação aos filhotes capturados no ano de 2017/2018, não apresentou diferença entre os períodos reprodutivos avaliados (Figura 223).

Figura 223. Biomarcadores dos sistemas antioxidante e de biotransformação determinados em hemolisado sanguíneo de filhotes de tartaruga-cabeçuda (*Caretta caretta*) capturados nos períodos reprodutivos de 2015/2016; 2016/2017 e 2017/2018 na Reserva Biológica de Comboios



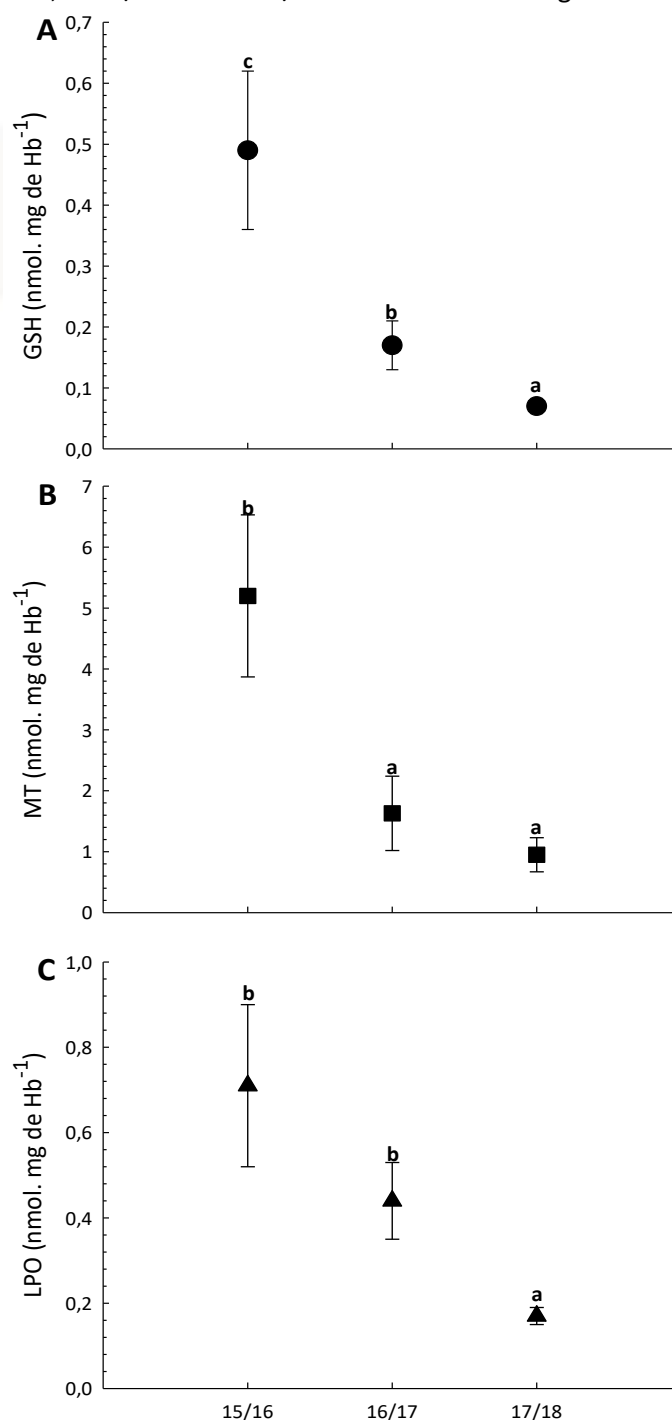
Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes indicam a ocorrência de diferença estatística entre os períodos reprodutivos ($p < 0,05$ - Kruskal-Wallis com teste de Dunn).

Alterações nos sistemas não enzimáticos - GSH, MT, LPO

Todos os marcadores não enzimáticos avaliados em hemolisado sanguíneo dos filhotes de tartaruga-cabeçuda capturados no período reprodutivo do ano da ocorrência do desastre, ou seja

2015/2016, apresentaram maiores concentrações em relação aos filhotes capturados nos períodos reprodutivos subsequentes. Nota-se, porém, que a concentração de GSH apresentou redução gradativa entre períodos reprodutivos avaliados; a concentração de MT a partir de 2016/2017, enquanto a peroxidação lipídica (LPO), embora tenha apresentado redução, esta só foi significativa no último período reprodutivo avaliado, ou seja, 2017/2018 (Figura 224).

Figura 224. Biomarcadores não enzimáticos determinados em hemolisado sanguíneo de exemplares de filhotes de tartaruga-cabeçuda (*Caretta caretta*) capturados nos períodos reprodutivos de 2015/2016; 2016/2017 e 2017/2018 na Reserva Biológica de Comboios



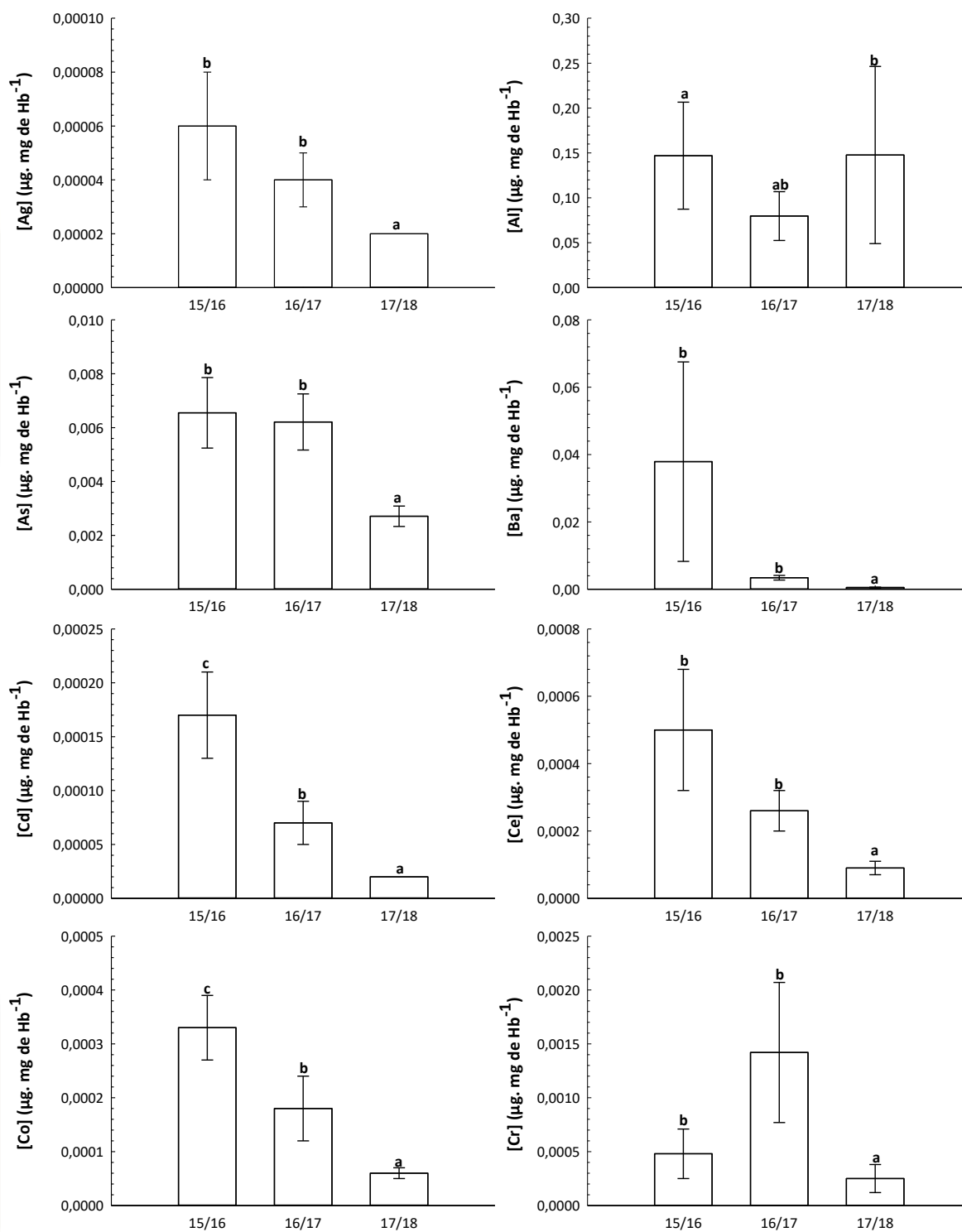
Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes indicam a ocorrência de diferença estatística entre os períodos reprodutivos ($p < 0,05$ - Kruskal-Wallis com teste de Dunn).

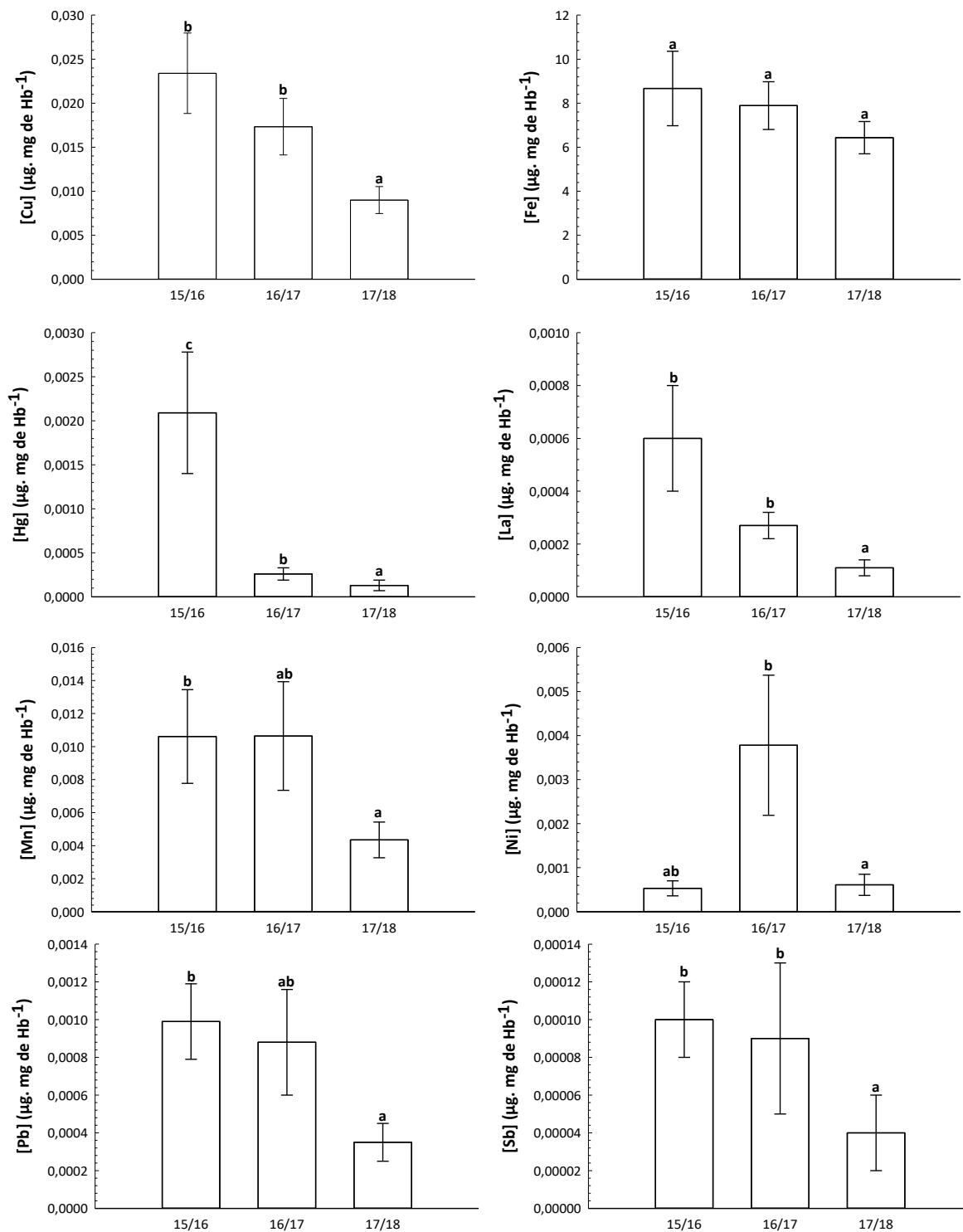
3.2.2.2. ALTERAÇÕES NAS CONCENTRAÇÕES DE EPTS

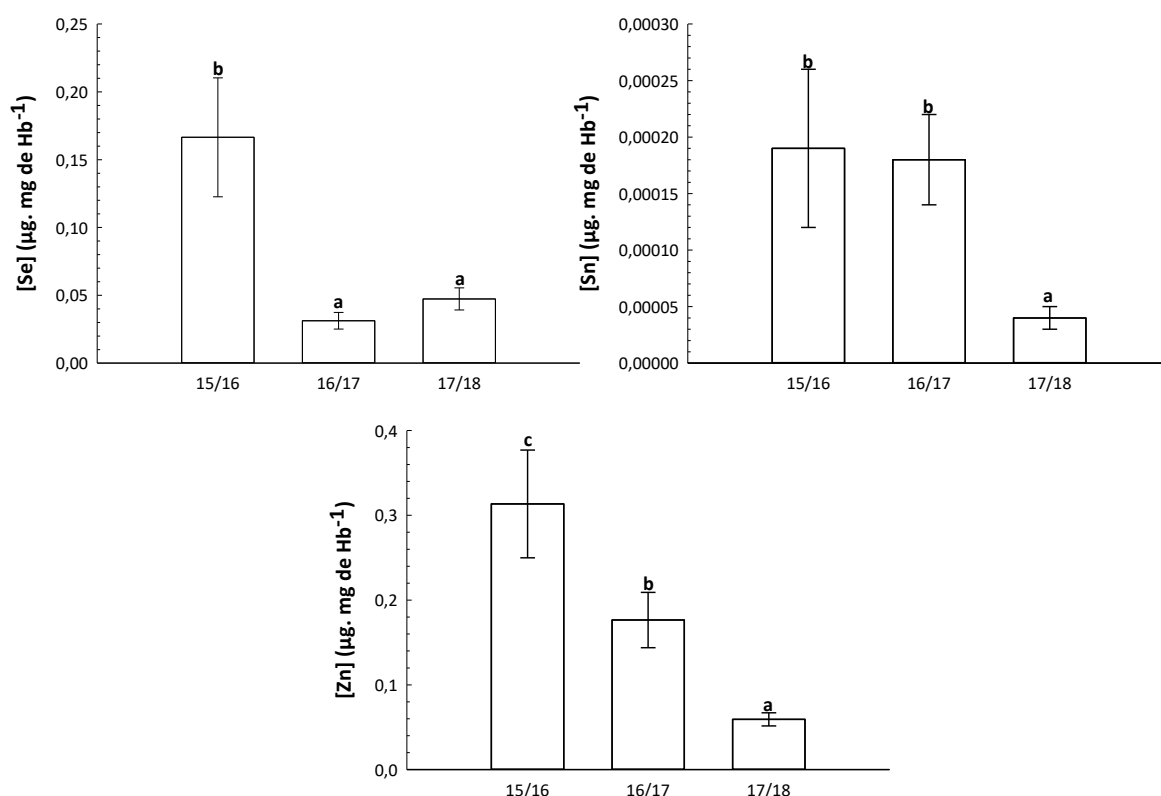
Hemolisado sanguíneo

Os 19 EPTs avaliados foram detectados em hemolisado sanguíneo dos filhotes de tartaruga-cabeçuda capturados nos diferentes períodos reprodutivos e, em maiores concentrações nos filhotes capturados no período reprodutivo do ano da ocorrência do desastre, ou seja, 2015/2016. Nota-se, porém, que de maneira geral, as concentrações de todos os elementos reduziram gradativamente ao longo dos períodos reprodutivos avaliados. No entanto, ressalta-se que os elementos Cd, Co, Hg, Se e Zn apresentaram menores concentrações nos filhotes capturados a partir do período reprodutivo de 2016/2017, enquanto que os elementos Ag, As, Ba, Ce, Cr, Cu, La, Mn, Sb e Sn só apresentaram menores concentrações nos filhotes capturados durante o período reprodutivo de 2017/2018. A concentração do elemento Al apresentou-se maior em hemolisado sanguíneo de filhotes de tartaruga-cabeçuda capturados em 2017/2018 em relação aos filhotes capturados nos demais períodos reprodutivos. A concentração de Fe não apresentou diferença estatística entre os períodos reprodutivos avaliados. A concentração de Ni apresentou-se maior nos filhotes capturados no período reprodutivo de 2016/2017 em relação aos filhotes capturados em 2017/2018 e, a concentração de Pb apresentou-se menor em filhotes capturados no período reprodutivo de 2017/2018 em relação aos filhotes capturados no período reprodutivo de 2015/2016, ano de ocorrência do desastre (Figura 225).

Figura 225. Concentração de EPTs em hemolisado sanguíneo ($\mu\text{g} \cdot \text{mg Hb}^{-1}$) de filhotes de tartaruga-cabeçuda (*Caretta caretta*) capturados nos períodos reprodutivos de 2015/2016; 2016/2017 e 2017/2018 na Reserva Biológica de Comboios







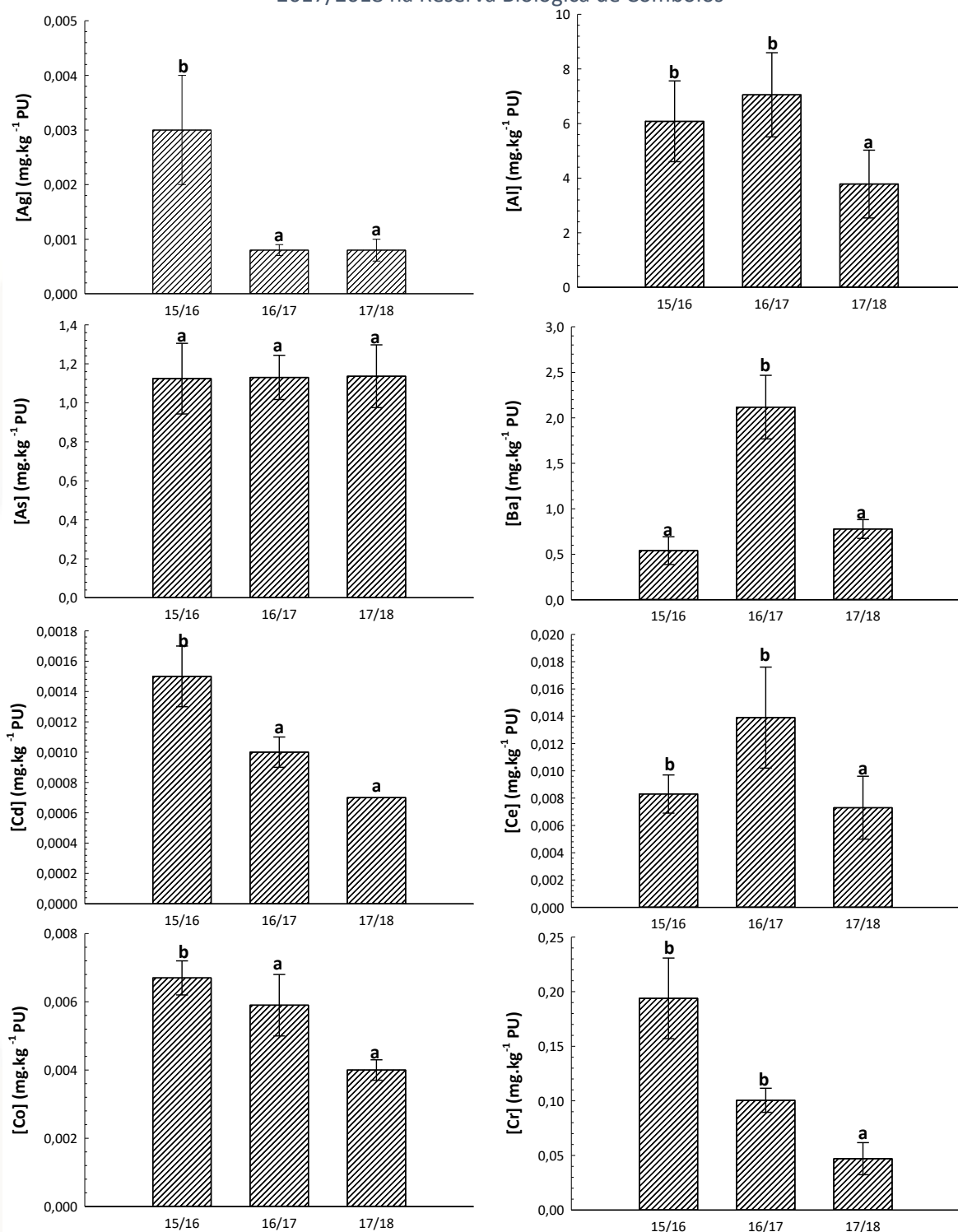
Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes indicam a ocorrência de diferença estatística entre os períodos reprodutivos ($p < 0,05$ - Kruskal-Wallis com teste de Dunn).

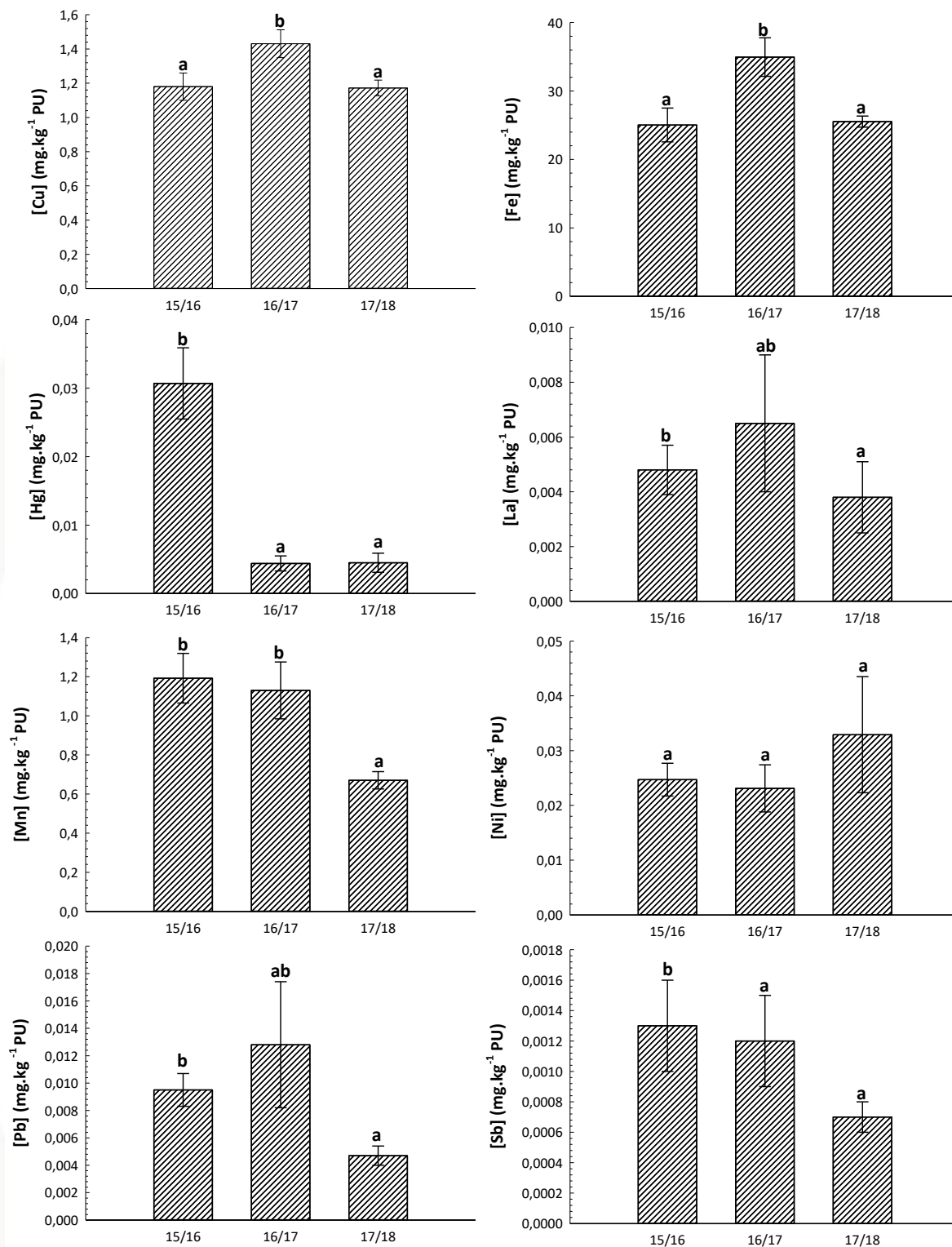
Músculo

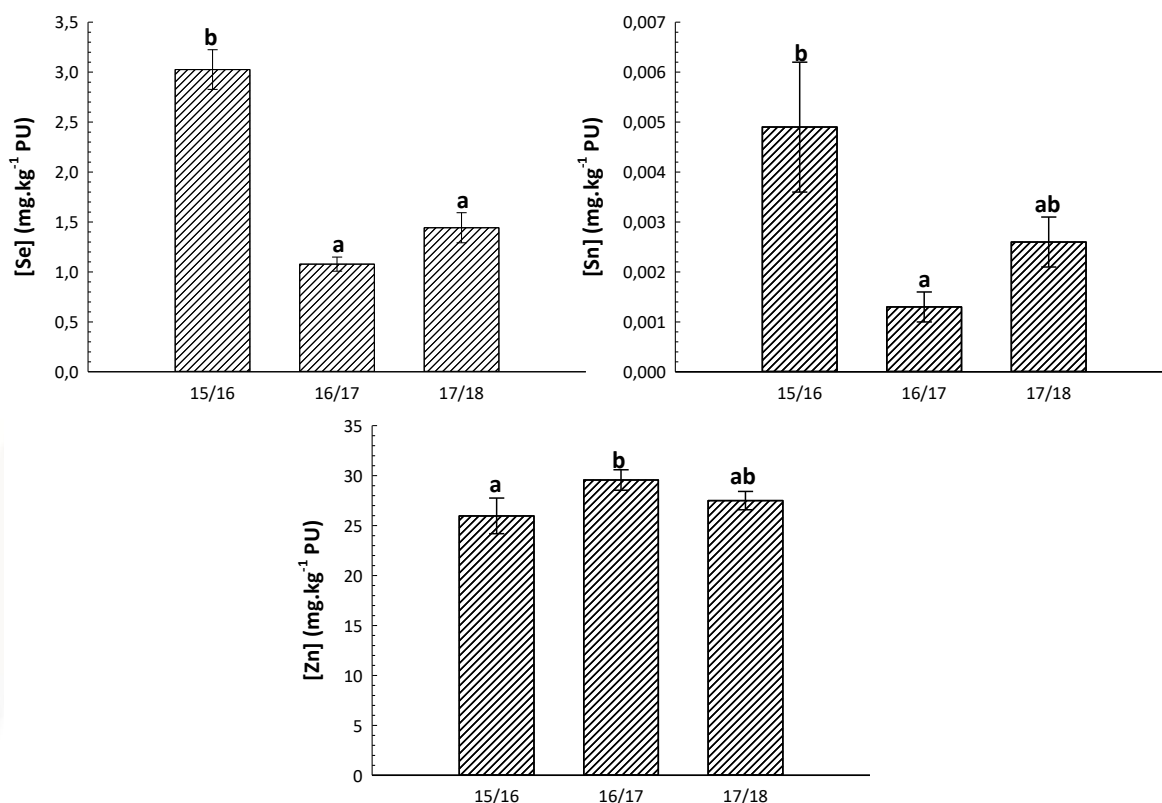
Do mesmo modo que no hemolisado sanguíneo, todos os EPTs avaliados foram detectados no tecido muscular de filhotes de tartaruga-cabeçuda capturados nos diferentes períodos reprodutivos. Os elementos Ag, Cd, Co, Hg, Sb e Se foram detectados em menores concentrações nos filhotes de tartaruga-cabeçuda capturados a partir do período reprodutivo de 2016/2017 em relação aos filhotes capturados no período reprodutivo do ano da ocorrência do desastre, ou seja, 2015/2016. Os elementos Al, Ce, Cr, Mn e Pb apresentaram concentrações muscular similares nos filhotes capturados nos períodos reprodutivos de 2015/2016 e 2016/2017, com menores valores sendo observados, apenas, nos filhotes capturados no período reprodutivo de 2017/2018. Os elementos As e Ni não apresentam diferenças estatísticas entre os períodos reprodutivos avaliados. Os elementos Ba, Cu e Fe apresentam maiores concentrações no tecido muscular dos filhotes de tartaruga-cabeçuda capturados em 2016/2017 quando comparados aos filhotes capturados nos demais períodos reprodutivos. Os elementos La e Pb apresentaram menores concentrações no tecido muscular dos filhotes capturados no período reprodutivo de 2017/2018 em relação aos filhotes capturados no ano de 2015/2016. Por fim, o elemento Sn apresentou-se em concentração menor no tecido muscular de filhotes capturados no período reprodutivo de 2016/2017, enquanto o elemento Zn apresentou-se em maior concentração no tecido muscular dos filhotes capturados neste período em relação aos filhotes

capturados em 2015/2016 (ano de ocorrência do desastre). Porém, independentemente da variabilidade existente entre as concentrações nos diferentes períodos reprodutivos, as concentrações de EPTs determinadas em tecido muscular foram superiores as determinadas em hemolisado sanguíneo.

Figura 226. Concentração de EPTs em músculo (mg.kg^{-1} de peso úmido) de filhotes de tartaruga-cabeçuda (*Caretta caretta*) capturados nos períodos reprodutivos de 2015/2016; 2016/2017 e 2017/2018 na Reserva Biológica de Comboios







Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes indicam a ocorrência de diferença estatística entre os períodos reprodutivos ($p < 0,05$ - Kruskal-Wallis com teste de Dunn).

Cascas de ovos

A análise de determinação qualitativa e semi-quantitativa de elementos químicos pela técnica de MEV/EDS permitiu a detecção de 18 elementos em cascas de ovos de filhotes de tartaruga-cabeçuda capturados entre os anos de 2015-2018 na REBIO Comboios. Destes, 10 elementos (C, Ca, Cl, K, Mg, N, Na, O, P, S) são constitutivos nas diferentes camadas que compõe as cascas. Dentre os outros oito elementos detectados seis (Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni) foram monitorados e detectados em outros tecidos destes organismos (sangue e músculo), enquanto dois (Si e Ti) não foram monitorados, mas, foram detectados nas cascas dos ovos (Tabela 84; ANEXO 8). Os resultados desta análise demonstraram aumento na frequência de ocorrência dos elementos Al, Cu, Fe, Ni, Si e Ti nos períodos reprodutivos de 2016/2017 e 2017/2018 em relação ao período de 2015/2016, correspondente ao ano da ocorrência do desastre. Além disso, os elementos Cr e Mn apresentam aumento na frequência de ocorrência no período reprodutivo de 2016/2017 em relação ao período de 2015/2016, mas, voltam a reduzir sua frequência de ocorrência no período de 2017/2018, embora, ainda, de forma superior ao período de 2015/2016. É importante ressaltar que o elemento Au (ouro) também foi detectado em todas amostras, no entanto, o mesmo não foi considerado por ser um elemento incluído nas amostras como tratamento prévio para o aumento da condutividade. A Figura 227, Figura 228 e Figura 229 representam os resultados para as amostras analisadas em cada um dos períodos reprodutivos,

respectivamente. Todos os resultados obtidos com a técnica encontram-se disponibilizados no ANEXO 8.

Tabela 84. Frequência de ocorrência dos elementos químicos detectados, através da técnica MEV/EDS, em cascas de ovos (n=8 por período reprodutivo) de filhotes de tartaruga-cabeçuda (*Caretta caretta*) capturados nos períodos reprodutivos de 2015/2016; 2016/2017 e 2017/2018 na Reserva Biológica de Comboios

	Elementos detectados																	
	Constitutivos										Não constitutivos							
	C	Ca	Cl	K	Mg	N	Na	O	P	S	Al	Cu	Cr	Fe	Mn	Ni	Si	Ti
2015/2016	8	8	8	1	1	2	8	8	3	8	5	6	0	1	0	0	0	0
2016/2017	8	8	8	6	8	6	8	8	7	8	7	8	2	7	2	1	6	2
2017/2018	8	8	8	6	8	6	8	8	6	8	8	8	1	7	1	1	7	3

Figura 227. Micrografias (A até I) e análises químicas elementares (MEV/EDS – J até O) de uma amostra representativa referente ao ano reprodutivo de 2015/2016

