

Saúde, Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. –
Brasília : Ministério da Saúde. 44 p. : il.

BRDAR-JOKANOVIC, M. 2020. Boron Toxicity and Deficiency in Agricultural Plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(4): 1424.

BRUCKA-JASTRZĘBSKA, E. et al. 2009. Levels of microelements (Cu, Zn, Fe) and macroelements (Mg, Ca) in freshwater fish. *Journal of Elemntology*, n. 3/2009.

BUCKLAND, S. T.; ANDERSON, D. R.; BURNHAM, K. P.; LAAKE, J. L.; BORCHERS, D. L.; THOMAS, L. 2001. *Introduction to distance sampling: estimating abundance of biological population*. Oxford University Press, Oxford, p. 43.

BUSSAB, W. O.; MORETTIN, P. A. 2006. *Estatística Básica*. São Paulo: Editora Saraiva, 2006 (5ª Edição).

CALEVRO, F.; CAMPANI, S.; RAGGHIANI, M.; BUCCI, S.; MANCINO, G. 1998. Tests of toxicity and teratogenicity in biphasic veterbrates treated with heavy metals (Cr3+, Al3+, Cd2+). *Chemosphere*, 37(14-15): 3011-3017.

CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME). 1999. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.

CARSELLA, J.; MELNYKOV, I.; BONETTI, S.; SÁNCHEZ-LOMBARDO, I.; CRANS, D. C. 2017. Selenium speciation inthe Fountain Creek Watershed andits effects onfish diversity. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 22(5), 751-763.

CASTIEL, L. D.; VASCONCELLOS-SILVA, P. R.; MORAES, D. R. de. 2017. Micromortevida Severina? A comunicação preemptiva dos riscos. *Cad. Meio ambiente*, Rio de Janeiro, v. 33, n. 8, e00016017. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2017000803002&lng=en&nrm=iso>. access on 15 Apr. 2020. Epub Aug 21, 2017.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). 2007. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo: 2006*. São Paulo.



COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Decisão de Diretoria nº 038/2017/C. São Paulo, 2017.

CHE, R. G. O.; CHEUNG, S. G. sediment from the Mai Po marshes , Hong Kong. 1998.

CONDESSA, S. S. 2014. Estresse oxidativo causado pelo cromo hexavalente e ação da vitamina c em *Astyanax aff. bimaculatus* (teleostei: Characidae) machos adultos e potencial bioativo da casca de coco verde (*Cocos nucifera* L.). Universidade Federal de Viçosa – Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural.

CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL (COPAM). “Deliberação Normativa COPAM nº 01”. Minas Geras, 05 de maio de 2008. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=8151>.

CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL (COPAM). “Deliberação Normativa COPAM nº 02”. Minas Geras, 08 de setembro de 2010. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=14670>.

CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL (COPAM). “Deliberação Normativa COPAM nº 166”. Minas Geras, 29 de junho de 2011. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=18414>.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). “Resolução Nº 357”. Brasil, 17 de março de 2005. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). “Resolução Nº 396”. Brasil, 3 de abril de 2008. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=562>

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). “Resolução Nº 420”. Brasil, 28 de dezembro de 2009. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). “Resolução Nº 454”. Brasil, 01 de novembro de 2012. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=693>

CORREIA, P. 2010. Modelação e Estimação: uma introdução à geoestatística. 1ª. ed. Paraná: LEG UFPR, 2010. 80 p. v. 1.

- CORREIA, T. G. 2008. Influência do alumínio e do pH ácido sobre a fisiologia reprodutiva de peixes teleósteos continentais. p. 204.
- COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. 2015. Répteis brasileiros: Lista de espécies 2015. Herpetologia Brasileira, v. 4, p. 75- 93.
- CUI, D. et al. 2020. Biotransformation of dietary inorganic arsenic in a freshwater fish *Carassius auratus* and the unique association between arsenic dimethylation and oxidative damage. *Journal of Hazardous Materials*, v. 391, n. January, p. 122153.
- DA COSTA, L. S. 2020. Bioacumulação de metais pesados em pequenos mamíferos em áreas de remanescentes de mata atlântica e monocultura de cana-de-açúcar na Paraíba, Brasil. Universidade Federal da Paraíba – UFPB.
- DA SILVA BARROS, E. 2019. Efeitos da exposição a efluentes de curtume na fertilidade de camundongos. Universidade do Vale do Taquari – UNIVATES. Programa de Pós-Graduação em sistemas ambientais sustentáveis – PPGSAS.
- DA SILVA JÚNIOR, F. M. R. et al. 2019. Genotoxic damage in coelomocytes of *Eisenia andrei* exposed to urban soils. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 842, n. May 2018, p. 111–116.
- DA SILVA VERONEZ, A. C. 2013. Avaliação da exposição de *Lithobates catesbeianus* (Rã-Touro) ao ferro, manganês e minério de ferro. Universidade Vilha – ES. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas.
- DALMOLIN, A. K. 2015. Aplicação foliar de molibdênio e cobalto na cultura de soja: rendimento e qualidade de sementes. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Ciências e Tecnologia de sementes da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas.
- DE ALKMIM FILHO, J. F. 2011. Ocorrência de arsênio, cádmio e chumbo em tecidos de aves, suínos, bovinos de corte e equinos no Brasil. Escola de veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte.
- DE LIMA, I. V.; PEDROZO, M. F. M. 2001. Ecotoxicologia do ferro e seus compostos. Série cadernos de referência ambiental, v. 4 – Centro de recursos ambientais – CRA.
- DIETRICH, N. et al. 2016. Insights into zinc and cadmium biology in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 611, p. 120–133.



- DU, M.; WANG, D. 2009. The neurotoxic effects of heavy metal exposure on GABAergic nervous system in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 27, n. 3, p. 314–320.
- ECHART, C. L.; CAVALLI-MOLINA, S. 2001. Fitotoxicidade do alumínio: Efeitos, mecanismos de tolerância e seu controle genético. *Ciência Rural*. 31(3): 531-541.
- ELMAZOU DY, R. H.; BEKHET, G. A. 2016. In ovo toxico-teratological effects of aluminium on embryonic chick heart and vascularization. *Environmental Science and Pollution Research*.
- EMBRAPA. 1997. Considerações gerais sobre a toxicidade do alumínio nas plantas. Documento n° 2.
- ENVIRONMENTAL AND CLIMATE CHANGE CANADA (ECCC). 2012 Ecological Risk Assessment Guidance. Federal Contaminated Sites Action Plan (FCSAP). Canadian Minister of the Environment, Government of Canada.
- EPOSITO, M.; DE ROMA, A.; SANSONE, D.; CAPOZZO, D.; IACCARINO, D.; DI NOCERA, F.; GALLO, P. 2020. Non-essential toxic element (Cd, As, Hg and Pb) levels in muscle, liver and kidney of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) stranded along the southwestern coasts of Tyrrhenian sea. *Toxicology & Pharmacology*, 231, 108725.
- ESCHMEYER, W. N.; Jr. FERRARIS, C. J.; HOANG, M. D.; LONG, D. J. 1998. Catalog of Fishes. California Academy of Science; Har/Com edição. Estados Unidos.
- EXLEY, C.; CHAPPELL, J. S.; BIRCHALL, J. D. A mechanism for acute aluminium toxicity in fish. *Journal of Theoretical Biology*, v. 151, n. 3, p. 417–428, 1991.
- EXLEY, C.; PINNEGAR, J. K.; TAYLOR, H. 1997. Hydroxyaluminosilicates and acute aluminium toxicity in fish. *Journal of Theoretical Biology*, v. 189, n. 2, p. 133–139.
- FATTORINI, D.; NOTTI, A.; NIGRO, M. 2010. Hyperaccumulation of vanadium in the Antarctic polychaete *Perkinsiana littoralis* as a natural chemical defense against predation. p. 220–228.
- FONSECA, G. A. B.; Kierulff, M. C. M. 1988. Biology and natural history of Brazilian Atlantic forest mammals. *Bull. Florida State Mus. Biol. Sci.*, v. 34, n. 3, p. 99-152.



FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATION (FAO).

“Joint FAO/WHO Food Standards Programme - CODEX Committee on Contaminants in Foods - Fifth Session. The Hague, The Netherlands, Março de 2011.

FOWLER, H. W. 1941. A collection of freshwater fishes obtained in Eastern Brazil by Dr. Rodolpho von Ihering. Proc. Acad. Nat. Sci. Phila., 93: 123-199.

FRAGA, C. G.; OTEIZA, P. I. 2002. Iron toxicity and antioxidante nutrientes. Toxicology, 180(1):23-32.

FREDA, J. 1991. The effects of aluminum and other metals on anphibians. Environmental Pollution, 71(2-4): 305-328.

KRUEGER, G. L.; MORRIS, T. K.; SUSKIND, R. R.; WIDNER, E. M.; BERLYNE, G. M. 1984. The Health Effects of Aluminum Compounds in Mammals, CRC Critical Reviews in Toxicology, 13:1, 1-24

GILLIO, E.; NIYOGI, S.; LIBER, K. 2020. Investigating the mechanism of vanadium toxicity in freshwater organisms. Aquatic Toxicology, v. 229, n. May, p. 105648.

GOLDEN E RATTNER. (2003). Ranking Terrestrial Vertebrate Species for Utility in Biomonitoring and Vulnerability to Environmental Contaminants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 176:67-136.

GRELLE, C. E. V. 2010. Forest Structure and Vertical Stratification of small Mammals in a Secondary Atlantic Forest, Southeastern Brazil. Journal Studies on Neotropical Fauna and Environment, v. 38, n. 2, p 81-85.

HALL, R. A.; ZOOK, E. G.; MEABURN, G. M. 1978. National Marine Fisheries Service survey of trace elements in the fishery resource. NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) Technical Report NMFS (National Marine Fisheries Service) SSRF (Special Scientific Report Fisheries), n. March, p. 1–313.

HAWRYLAK-NOWAK, B. 2013. Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. Plant Growth Regulation. 70: 149–157.

HENNINK, M. 2007. International Focus Group Research, A Handbook for the Health and Social Sciences. Cambridge University Press. 2007

- HOU, J.; DONG, A.; YAN, J.; WANG, L.; MA, C.; LEE, S. 2017. Cadmium toxicokinetics in the freshwater turtle, *Chinemys reevesii*. *Chemosphere*, 182: 392-398.
- HU, Y. O. et al. 2008. Phenotypic and behavioral defects induced by iron exposure can be transferred to progeny in *Caenorhabditis elegans*. *Biomedical and Environmental Sciences*, v. 21, n. 6, p. 467-473.
- INCE, S.; FILAZI, A.; YURDAKOK-DIKMEN, B. 2017. Boron. In reproductive and developmental toxicology. Academic Press, 521-535.
- INMETRO. Norma N° NIT-DICLA-035. Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL. Rev. N° 4, aprovada em outubro de 2019, 16p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2012. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. 2ª Edição revisada e ampliada. Rio de Janeiro, n. 1, 271p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2019. Mapa de Biomas do Brasil. Biomas e sistema costeiro-marinho do Brasil: compatível com a escala 1:250 000. Rio de Janeiro, v. 45, 164p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2021. Banco de Dados de Informações Ambientais (BDIA): Versão 2.14.3. Disponível em: <https://bdiaweb.ibge.gov.br/#/home>. ©2021.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). Comitê Interfederativo – CIF. Deliberação n° 106, 2017. Disponível em: < <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/deliberacoes/2017/cif-2017-09-14-deliberacao-106.pdf>>.
- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). 2002. Environmental health criteria 228, principles and methods for the assessment of risk from essential trace elements, United Nations Environment Programme, International Labour Organization, World Health Organization.
- JANČULA, D.; MIKULA, P.; MARŠÁLEK, B. 2011. Effects of polyaluminium chloride on the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemistry and Ecology*, v. 27, n. 4, p. 351-357.



- JIANG, Y. et al. 2016. Sublethal toxicity endpoints of heavy metals to the nematode *Caenorhabditis elegans*. PLoS ONE, v. 11, n. 1, p. 1–12.
- JOFRÉ, M. B.; ANTÓN, R. I.; CAVIEDES-VIDAL, E. 2012. Lead and cadmium accumulation in anuran amphibians of a permanent water body in arid Midwestern Argentina. *Environmental Science and Pollution*, 19(7): 2889-0795-2.
- JUCOSKI, G. O.; CAMBRAIA, J.; RIBEIRO, C.; DE OLIVEIRA, J. A. 2016. Excesso de ferro sobre o crescimento e a composição mineral em *Eugenia uniflora* L. *Revista Ciência Agronômica*, 47(4).
- KALANTZI, I. et al. 2017. Arsenic speciation in fish from Greek coastal areas. *Journal of Environmental Sciences (China)*, v. 56, p. 300–312.
- KAR, I.; MUKHOPADHAYAY, S. K.; PATRA, A. K.; PRADHAN, S. 2018. Bioaccumulation of selected heavy metals and histopathological and hematobiochemical alterations in backyard chickens reared in an industrial area, India. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 3905-3912.
- KUMAR, V.; PANDITA, S.; SIDHU, G. P. S.; SHARMA, A.; KHANNA, K.; KAUR, P.; BALI, A. S.; SETIA, R. 2020. Cooper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review. *Chemosphere*. 127810.
- KUPERMAN, R. G.; CHECKAI, R. T.; SIMINI, M.; PHILLIPS, C. T.; HIGASHI, R. M.; FAN, T. W.-M.; SAPPINGTON, K. 2018. Selenium toxicity to survival and reproduction of *Collembola* and *Enchytraeids* in Sandy loam soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37(3): 846-853.
- LALL, S. P. 2003. The Minerals. *Fish Nutrition*, p. 259–308.
- LAMB, D. T.; MATANITOBUA, V. P.; PALANISAMI, T.; MEGHARAJ, M.; NAIDU, R. 2013. Bioavailability of Barium to Plants and Invertebrates in Soils Contaminated by Barite. *Environmental Science & Technology*. 47(9): 4670-4676.
- LAMPARELLI, M. C. 2004. Grau de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento. São Paulo: USP/ Departamento de Ecologia., 2004. 235 f. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo.
- LANDIS, Wayne G. (Ed.). 200. Regional scale ecological risk assessment: using the relative risk model. CRC Press.



- LAZO, R. A. 2010. Nitrogênio, arsênio, bário e estado nutricional de plantas de milho cultivadas em latossolos tratados com lodo de esgoto. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP.
- LEE, J. W.; CHOI, H.; HWANG, U. K.; KANG, J. C.; KANG, Y. J.; KIM, K. I.; KIM, J. H. 2019. Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68:101-108.
- LEMLY, A. D. 2018. Selenium poisoning offish by coal ash wastewater in Herrington Lake, Kentucky. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 150: 49-53.
- LI, M.; LIU, Y.; XU, G.; WANG, Y.; YU, Y. 2020. Impacts of polyethylene microplastics on bioavailability and toxicity of metals in soil. *Science of the Total Environment*.
- LI, M.; NABI, G.; SUN, Y.; WANG, Y.; WANG, L.; JIANG, G.; GAO, P.; WU, Y.; LI, D. 2021. The effect of air pollution on immunological, antioxidative and hematological parameters, and body condition of Eurasian tree sparrows. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111755.
- LIM, B. K.; ENGSTROM, M. D. 2001. Species diversity of bats (mammalia: chiroptera) in Iwokrama Forest, Guyana, and the Guianan subregion: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*, v. 10, p. 613-657.
- LIN, Y. T. et al. 2006. Manganous ion supplementation accelerates wild type development, enhances stress resistance, and rescues the life span of a short-lived *Caenorhabditis elegans* mutant. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 40, n. 7, p. 1185–1193.
- LORENA, A. G. de. 2015. Comunicação de risco, vigilância sanitária e política de saúde. Rede Humaniza SUS – O SUS QUE DÁ CERTO. Disponível em: <<http://redehumanizasus.net/90011-comunicacao-de-risco-vigilancia-sanitaria-e-politica-de-saude/>>. Acessado em: 28.05.2020.
- LOURENÇO, M. R.; MARCHIORI, M. 2012. A Prática da Comunicação de Risco nas Organizações. *Facsi em Revista*. Ano 4 – Vol. 4, edição especial. Disponível em: <http://www.uel.br/grupo-estudo/gecorp/images/Artigo__A_Comunica%C3%A7%C3%A3o_de_Risco_nas_Organiza%C3%A7%C3%B5es_Facsi__em_Revista.pdf>. Acessado em: 28.05.2020.



- MAGALHÃES, M. N.; LIMA, A. C. P. 2008. Noções de Probabilidade e Estatística. São Paulo: EDUSP, 2008 (6ª edição).
- MALABARBA, M. C. S. L. 2004. Revision of the Neotropical genus *Triportheus* Cope, 1872 (Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, 2(4): 167-204.
- MANZINI, F. F.; DE SÁ, K. B.; PLICAS, L. M. A. 2010. Metais pesados: Fonte e ação toxicológica. *Periódico eletrônico: Fórum ambiental da alta Paulista*. ISSN 1980-0827.
- MARDIROSIAN, M. N.; LASCANO, C. I.; BONGIOVANNI, G. A.; VENTURINO, A. 2017. Chronic toxicity of arsenic during *Rhinella arenarum* embryonic and larval development: Potential biomarkers of oxidative stress and antioxidant response. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(6): 1614-1621.
- MATTA, J. et al. 1999. Heavy metals, lipid peroxidation, and ciguatera toxicity in the liver of the Caribbean barracuda (*Sphyraena barracuda*). *Biological Trace Element Research*, v. 70, n. 1, p. 69–79.
- MEINA, E. G.; RAES, K.; LIBER, K. 2019. Ecotoxicology and Environmental Safety Models for the acute and chronic aqueous toxicity of vanadium to *Daphnia pulex* under a range of surface water chemistry conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 179, n. April, p. 301–309.
- MINAS GERAIS. Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM). Nota Técnica nº 6/FEAM/GERAQ/2021, de 19 de maio de 2021. Gerência da Qualidade do Solo e Áreas Contaminadas. PROCESSO Nº 2090.01.0003727/2019-40. Belo Horizonte.
- MINAS GERAIS. Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM). Ofício FEAM/GERAI nº. 86/2021, de 20 de maio de 2021. Gerência de Recuperação Ambiental Integrada. PROCESSO Nº 2090.01.0003727/2019-40. Belo Horizonte.
- MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM). Nota Técnica nº 13/IGAM/GEMOQ/2021, de 2021. Gerência de Monitoramento da Qualidade das Águas. PROCESSO Nº 2090.01.0003727/2019-40.
- MONTEIRO, R.; MALATEAUX, I. F.; MUNIZ, L. M. 2014. Intoxicação por chumbo em aves de companhia – Revisão de literatura. *Anuário de Produção Acadêmica Docente*, 7(18): 89-102.



- MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. 2012. Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros. Rio de Janeiro: LTC Editora (5ª Edição).
- MORETTIN, L. G. 2010. Estatística básica: probabilidade e inferência. São Paulo: Pearson.
- MORGAN, D. 2008. Focus Groups from Start to Finish. JPSM. Portland State University. May 27-28.
- NAM, S. H.; YANG, C. Y.; AN, Y. J. 2009. Effects of antimony on aquatic organisms (Larva and embryo of *Oryzias latipes*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus mixtus*, and *Pseudokirchneriella subcapitata*). *Chemosphere*, v. 75, n. 7, p. 889–893.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES/INSTITUTE OF MEDICINE (NAS/IOM). 2003. Dietary reference intakes: guiding principles for nutrition labeling and fortification. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, Washington, DC.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1989. Committee on Risk Perception and Communication, Commission on Behavioral and Social Sciences and Education. Improving Risk Communication. National Academy Press. Washington, D. C.
- NAVIDI, W. 2012. Probabilidade e estatística para ciências exatas. Porto Alegre: Bookman.
- NDU, U.; LAMB, J., JANSSEN, S.; ROSSI, R.; SATGÉ, Y.; JODICE, P. 2020. Mercury, cadmium, cooper, arsenic, and selenium measurements in the feathers od adult eastern brown pelicans (*Pelecanus occidentalis carolinensis*) and chicks in multiple breeding grounds in the northern Gulf of Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(5).
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). OECD Guideline for Testing of Chemicals 402. Acute Dermal Toxicity: Fixed Dose Procedure. 2017.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). OECD Guideline for Testing of Chemicals 403. Acute Inhalation Toxicity. 2009.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). OECD Guideline for Testing of Chemicals 406. Skin Sensitisation. 1992.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). OECD Guideline for Testing of Chemicals 407. Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. 2008.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD).

OECD Guideline for Testing of Chemicals 410. Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study. 1981.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD).

OECD Guideline for Testing of Chemicals 423. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. 2001.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD).

OECD Guideline for Testing of Chemicals 471. Bacterial Reverse Mutation Test. 1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). 2018. Comunicação de riscos em

emergências de meio ambiente: um guia da OMS para políticas e práticas em comunicação de risco de emergência [Communicating risk in public health emergencies: a WHO guideline for emergency risk communication (ERC) policy and practice].
Genebra: Organização Mundial da Saúde. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). 2009. Comunicação eficaz com a mídia

durante emergências de meio ambiente: um manual da OMS/Organização Mundial da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde. 180p. Tradução de: Effective Media Communication during Public Health Emergencies: a WHO Handbook.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Treinamento em comunicação de risco

emergencial. Disponível em: <<https://www.who.int/risk-communication/training/module-a/pt/>>. Acessado em: 13.05.2020.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS/OMS). 2009. Organização

Mundial de la Salud. Créacion de una estrategia de comunicación para la influenza pandémica.

PAGE, K. E. et al. 2012. Aluminium exposure disrupts elemental homeostasis in

Caenorhabditis elegans. Metallomics, v. 4, n. 5, p. 512–522.

PENDIAS, A. and PENDIAS, H., 1992: Trace elements in soils and plants, 2nd edition, CRC

Press, Boca Raton, 365p.

PENDIAS, A., PIETROWSKA, M., and DUDKA, S., 1993: Trace metals in legumes and

monocotyledons and their suitability for the assessment of soil contamination, in: MARKERT, B., ed., 1993, Plants as biomonitors - Indicators for heavy metals in the terrestrial environment, VCH-Publisher, Weinheim, New York, Tokio, 485-494.

- PEREIRA, L. S.; RIBAS, J. L. C.; VICARI, T.; SILVA, S. B.; STIVAL, J. BALDAN, A. P.; DOMINGOS, F. X. V.; GRASSI, M. T.; CESTARI, M. M.; de ASSIS, H. C. S. 2016. Effects of ecologically relevant concentrations of cadmium in a freshwater fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 130: 29-36.
- PERRAULT, J. R.; BUCHWEITZ, J. P.; LEHNER, A. F. 2014. Essential, trace and toxic element concentrations in the liver of the world's largest bony fish, the ocean sunfish (Mola mola). *Marine Pollution Bulletin*, v. 79, n. 1-2, p. 348-353.
- PIRES, K. A.; GRAÇA, D. S. 2011. Considerações sobre o cromo e seu efeito no metabolismo de peixes. *Pubvet*, v. 5, n. 25, Ed 172, Art. 1161.
- POLÉO, A. B. S. 1995. Aluminium polymerization - a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish. *Aquatic Toxicology*, v. 31, n. 4, p. 347-356.
- POLÉO, A. B. S. et al. 1997. Toxicity of acid aluminium-rich water to seven freshwater fish species: A comparative laboratory study. *Environmental Pollution*, v. 96, n. 2, p. 129-139.
- POURRUT, B.; SHAHID, M.; DUMAT, C.; WINTERTON, P.; PINELLI, E. 2011. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of environmental contamination and toxicology*. 213: 113-136.
- PUC-RIO. 2003. Revisão bibliográfica. Certificado digital nº 0124923/CA.
- PUC-RIO. 2011. Revisão bibliográfica – Metais pesados. Certificação digital N° 0921866/CA.
- RAMM, C. B. 2015. Contaminação por metais nas capivaras *Hydrochaeris hydrochaeris* no Sul do Brasil. Universidade Federal do Rio Grande – Instituto de Ciências Biológicas – Pós Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.
- RAMOS, J. C. 2017. Bioacumulação de metais pesados em girinos de diferentes ecomorfotipos. Universidade Estadual de Feira de Santana – Programa de Pós-Graduação em zoologia.
- RANGEL-S, M. L. 2020. Comunicação no controle de risco à saúde e segurança na sociedade contemporânea: uma abordagem interdisciplinar. *Ciênc. saúde coletiva*, Rio de Janeiro, v. 12, n. 5, p. 1375-1385, Outubro, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141381232007000500035&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 15 Apr.



- REGISTER, A. L. 2011. Effects of heavy metal pollution on the Loggerhead Sea Turtle. Loma Linda University Electronic Theses, Dissertations & Projects, 58.
- RODRIGUES, G. Z. P.; MACHADO, A. B.; GEHLEN, G. 2019. Influência de metais no comportamento reprodutivo de peixes, revisão bibliográfica. Revista Geama, 5(1): 04-13.
- SALDANHA, É. S. P. 2008. Efeitos dos minerais orgânicos no desempenho, qualidade de ovos e qualidade óssea de poedeiras semi-pesadas no segundo ciclo de produção. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Botucatu – SP.
- SALVAGNI, T. 2013. Metais não essenciais em tecidos de *Puffinus puffinus* E *P. gravis* (Aves, procellariiformes) no litoral norte e médio leste do Rio Grande do Sul, Brasil. Monografia – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul e Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- SÃO PAULO. Decreto-Lei nº 59.263, de 05 de junho de 2013 Regulamenta a Lei nº 13.577, de 8 de julho de 2009 (<https://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/decreto/2013/decreto-59263-05.06.2013.html>)
- SCOTT, K. C.; LATSHAW, J. D. 1993. Macro and micro mineral levels in the tissues of menhaden fish. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, v. 2, n. 2, p. 51–61.
- SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS (SES-MG). Subsecretaria de Vigilância de Proteção à Saúde. Nota Técnica SUBVPS/SES-MG nº 11/2017, 2017. Disponível em: < <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/cif/notas-tecnicas/CT-SAUDE/2017/CIF-NT-11-2017-CT-SAUDE.pdf>>.
- SEGALLA, M. V.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; LANGONE, J.; GARCIA, P. C. A. 2014. Brazilian amphibians: list of species. *Herpetologia Brasileira*, v. 3, p. 37-48.
- SHAHID, M.; DUMAT, C.; KHALID, S.; NIAZI, N. K.; ANTUNES, P. M. C. 2016. Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system. *Reviews of environmental contamination and toxicology*. 241: 73-137.
- SILVA, A. P. 1996. Emissões de Mercúrio na Queima de Amálgama: Estudo da contaminação de ar, solos e poeira em domicílios em Poconé, MT. *Série Tecnologia Ambiental*, 13, 40p. Rio de Janeiro: CETEMICNPq.



- SINHA, V.; PAKSHIRAJAN, K.; CHATURVEDI, R. 2018. Chromium tolerance, bioaccumulation and localization in plants: An overview. *Journal of environmental management*. 206: 715-730.
- SOARES, F. A.; FAGUNDEZ, D. A.; AVILA, D. S. 2017. Neurodegeneration Induced by Metals in *Caenorhabditis elegans*. *Advances in Neurobiology*, v. 18, p. 355–383.
- SPIEGEL, M. R.; SCHILLER, J.; SRINIVASAN, A. 2013. *Probabilidade e estatística*. Porto Alegre: Bookman.
- SULJEVIC, D.; SULEJMANOVIC, J.; FOCAK, M.; HALILOVIC, E.; DZEMILA, P.; HASIC, A.; ALIJAGIC, A. 2020. Assessing hexavalent chromium tissue-specific accumulation patterns and induced 1 physiological responses to probe chromium toxicity in *Coturnix japonica* quail. *Chemosphere*, 129005.
- SUTER, GW II. 1996. *Toxicological Benchmarks for Screening Potential Contaminants of Concern for Effects on Aquatic Biota*. Environmental Sciences Division, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, ES/ER/TM-96/R2.
- SUTER, GW II. 1999. *Developing Conceptual Models for Complex Ecological Risk Assessments*. Environmental Sciences Division, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN 37831-6038.
- SUTER, GW II; CORMIER, S. 2011. Why and how to combine evidence in environmental assessments: Weighing evidence and building cases. *Sci Total Environ*, 409:1406–1417. [PubMed: 21277006].
- SUTER, GW II; CORMIER, S; BARRON, M. 2017. A Weight of Evidence Framework for Environmental Assessments: Inferring Qualities. EPA Public Access. *Integr Environ Assess Manag*. 2017 November ; 13(6): 1038–1044. doi:10.1002/ieam.1954.
- SUWA, R.; JAYACHANDRAN, K.; NGUYEN, N. T.; BOULENOUAR, A.; FUJITA, K.; SANEOKA, H. 2008. Barium Toxicity Effects in Soybean Plants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 55(3): 397-403.
- TANG, R.; Li, X.; MO, Y.; Ma, Y.; DING, C.; WANG, J.; ZHANG, T.; WANG, X. 2019. Toxic responses of metabolites, organelles and gut microorganisms of *Eisenia fetida* in a soil with chromium contamination. *Environmental Pollution*, 251: 910-920.

- TAYLOR, P.; DAVIS, D. A.; III, D. M. G. 2008. Reviews in Fisheries Science Dietary mineral requirements of fish and marine crustaceans Dietary Mineral Requirements of Fish and Marine Crustaceans. Reviews in Fisheries Science, v. 4, n. November 2011, p. 37–41, 2008.
- TREVIZANI, T.H.; Figueira, R.C.L.; Ribeiro, A.B.; Theophilo, C.Y.S.; Majer, A.P.; Petti, M.A.V.; Corbisier T.N.; Montone, R. C. 2016. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms and sediments from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. Marine Pollution Bulletin Volume 106, Issues 1–2, 15 May 2016, Pages 366-371
- TREVIZANI, T.H. 2018. Bioacumulação e biomagnificação de metais pesados em teias tróficas de estuários do sul-sudeste do Brasil. Universidade de São Paulo. Instituto Oceanográfico. São Paulo, SP. Brasil.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 1989a. Risk Assessment Guideline for Superfund (RAGS), Human Health Evaluation Manual (EPA/540/1-89/002). PART A, Volume I. Última atualização em Dezembro de 1989 (<https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidance-superfund-rags-part>).
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 1989b. EPA - Methods for Evaluating Attainment of Cleanup Standards For Soils and Solid Media, Washington, DC, EUA.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 1991. “Guidance for Data Useability in Risk Assessment (Part A)”. Washington, DC.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 1992. Guidance on Risk Characterization for Risk Managers and Risk Assessors. February 26 Memorandum from F. Henry Habicht II, Deputy Administrator, to EPA Assistant Administrators and Regional Administrators. Washington, DC: Office of the Deputy Administrator.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 1993. Wildlife Exposure Factors Handbook. EPA/600/R-93/187a.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 1997a. Ecological Risk Assessment Guidance for Superfund: Process for Designing and Conducting Ecological Risk Assessments. Interim Final. EPA/540/R97/006. U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Response Team, Edison, NJ, 239 pp. 1997.



UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 1997b. Guiding Principles for Monte Carlo Analysis. EPA/630/R-97/001. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Washington, DC, 39 pp. 1997.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 1998. Guidelines for Ecological Risk Assessment. US.EPA EPA/630/R095/002F. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Washington, DC, 175 pp. 1998.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2000a. Bioaccumulation Testing and Interpretation for the Purpose of Sediment Quality Assessment - Status and Needs. EPA-823-R-00-001. February.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2000b. Method guidance and recommendations for whole effluent toxicity (WET) testing (40 CFR Part 136). U. S. Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA 821-B-00-004.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2001a. Risk Assessment Guideline for Superfund (RAGS), Human Health Evaluation Manual (EPA 540-R-02-002). PART A, Volume III. Process for Conducting Probabilistic Risk Assessment. Última atualização em Dezembro de 2001 (<https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidance-superfund-rags-part>).

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2001b. Risk Assessment Guideline for Superfund (RAGS), Human Health Evaluation Manual (EPA/540/R-92/003). PART B. Developing Chemical-Specific Preliminary Remediation Goals Based on Protection of Human Health. Última atualização em Dezembro de 2001 (<https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidance-superfund-rags-part>).

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2001c. Risk Assessment Guideline for Superfund (RAGS), Human Health Evaluation Manual (EPA/9285.7-01C). PART C. Risk Evaluation of Remedial Alternatives. Última atualização em Outubro de 2001 (<https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidance-superfund-rags-part>).

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2002a. "Guidance on Choosing a Sampling Design for Environmental Data Collection". Washington, DC.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2002b. Short-term methods for estimating the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 5th ed. U. S. Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-821-R-02-012.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2002c. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. 4th ed. U. S. Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-821-R-02-013.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2002d. Calculating Upper Confidence Limits for Exposure Point Concentrations at Hazardous Waste Sites U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. Última atualização em Setembro de 2002.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2002e. Risk Assessment Guideline for Superfund (RAGS), Human Health Evaluation Manual (EPA/9285.7-47). PART D. Standardized Planning, Reporting and Review. Última atualização em Junho de 2002 (<https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidance-superfund-rags-part>).

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2004. National Recommended Water Quality Criteria. Office of Water and Office of Science and Technology. Washington, DC.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2005a. Field Sampling Procedures Manual. New Jersey.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2005b. Preparation of Soil Sampling Protocols: Sampling Techniques and Strategies.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2005c. Ecological Soil Screening Level (Eco-SSL) Guidance and Documents. Washington, DC.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2005d. Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/630/P-03/001F. Última atualização em Março de 2005 (<https://www.epa.gov/risk/guidelines-carcinogen-risk-assessment>).

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2006. "Data Quality Assessment: Statistical Methods for Practitioners". EPA/240/B-06/003 Washington, DC. Disponível em: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/900B0D00.PDF?Dockkey=900B0D00.PDF>

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2007. Framework for Metals Risk Assessment, EPA 120/R-07/001. Washington, DC, EUA.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2008. Child-Specific Exposure Factors Handbook (2008, Final Report). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-06/096F, 2008. Última atualização em Setembro de 2008 (https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?direntryid=199243).

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2009. Risk Assessment Guideline for Superfund (RAGS), Human Health Evaluation Manual (EPA/540/R/070/002). PART F. Supplemental Guidance for Inhalation Risk Assessment. Última atualização em Janeiro de 2009 (<https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidance-superfund-rags-part>).

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2011. Exposure Factors Handbook, Volumes I, II e III. National Center for Environmental Assessment (EPA/600/R-09/052F). Última atualização em Setembro de 2011 (<https://www.epa.gov/expobox/about-exposure-factors-handbook>).

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2014a. Framework for Human Health Risk Assessment to Inform Decision Making. Washington, DC.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2014b. Operating Procedure - Soil Sampling, SESDPROC-300-R3. Athens, Georgia, EUA. 21 de agosto, 2014.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2015a. ProUCL Version 5.1.002, Technical Guide, Statistical Software for Environmental Applications for Data Sets with and without Nondetect Observations. PrepaLC by the Office of Research and Development. Publication No. EPA/600/R-07/041. Washington, DC.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2015b. Region 4 Ecological Risk Assessment Supplemental Guidance Interim Draft. Region 4.

- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2016. “Weight of Evidence in Ecological Assessment”. Washington, DC.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2017a. “Validation Assessment of In Vitro Arsenic Bioaccessibility Assay for Predicting Relative Bioavailability of Arsenic in Soils and Soil-like Materials at Superfund Sites”. OLEM 9355.4-29. Washington, DC. Disponível em: <https://semspub.epa.gov/work/HQ/196751.pdf>
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2017b. National Functional Guidelines for Inorganic Superfund Methods Data Review. EPA-540-R-2017-001. January. <https://www.epa.gov/clp/national-functional-guidelines-inorganic-superfund-methods-data-review-ism024>
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2018. “Region 4 Ecological Risk Assessment Supplemental Guidance”. Washington, DC. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/production/files/2018-03/documents/era_regional_supplemental_guidance_report-march-2018_update.pdf.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). 2019. “Regional Screening Levels (RSLs) - Generic Tables”. Washington, DC. Disponível em: <https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables>.
- VARI, R. P. 1989b. Systematics of the Neotropical characiform genus *Psectrogaster* Eigenmann and Eigenmann (Pisces, Characiformes). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 481: 1-43.
- VIZUETE, J.; PÉREZ-LÓPEZ, M.; MÍGUEZ-SANTIYÁN, M. P.; HERNÁNDEZ-MORENO, D. 2018. Mercury (Hg), Lead (Pb), Cadmium (Cd), Selenium (Se), and Arsenic (As) in Liver, Kidney, and Feathers of Gulls: A Review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*.
- WAGNER, A.; BOMAN, J. 2003. Biomonitoring of trace elements in muscle and liver tissue of freshwater fish. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, v. 58, n. 12, p. 2215–2226.
- WANG, C.; LIANG, C.; YEH, H. 2016. Chemosphere Aquatic acute toxicity assessments of molybdenum (p VI) to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, v. 147, p. 82–87.



- WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, v. 151, n. 1–4, p. 185–207.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2015. *Effective Communications: Participant Handbook*. WHO Document Production Services. Geneva, Switzerland.
- WILSON, D. E.; REEDER, D. M. 2005. *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*. 3rd Ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press. 2142 p.
- WONG-VALLE, J. 1989e. “Estimation of Relative bioavailability of Manganese Sources for Sheep”. *J. Anirn. Sci.* 1989. 67:2409-2414.
- WOODBURN, K. et al. 2011. Accumulation and toxicity of aluminium-contaminated food in the freshwater crayfish, *Pacifastacus leniusculus*. *Aquatic Toxicology*, v. 105, n. 3–4, p. 535–542.
- XING, X. J. et al. 2009. Exposure to lead and mercury in young larvae induces more severe deficits in neuronal survival and synaptic function than in adult nematodes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 56, n. 4, p. 732–741.
- XU, Z. et al. 2021. Toxicity of soil antimony to earthworm *Eisenia fetida* (Savingy) before and after the aging process. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 207, n. July 2020, p. 111278.
- YAMAMOTO, F. Y. 2011. *Microminerais (Cu, Fe, Mn, Se e Zn) na nutrição de peixes, uma revisão bibliográfica*. Universidade Federal de Santa Catarina – Centro de Ciências agrárias – Departamento de aquicultura - Engenharia de Aquicultura.
- YAMAZAKI, M.; TANIZAKI, Y.; SHIMOKAWA, T. 1996. Silver and other trace elements in a freshwater fish, *Carasius auratus langsdorfii*, from the Asakawa River in Tokyo, Japan. *Environmental Pollution*, v. 94, n. 1, p. 83–90.
- YE, H.; YE, B.; WANG, D. 2008. Trace administration of vitamin E can retrieve and prevent UV-irradiation- and metal exposure-induced memory deficits in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 90, n. 1, p. 10–18.
- YUE, S.; HUANG, G.; WANG, R.; QIAO, Y. 2021. Selenium toxicity, bioaccumulation, and distribution in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to different substrates. *Ecotoxicology and Enviromental Safety*, 217: 112250.



ZABEO, A. et al. 2011. Regional risk assessment for contaminated sites Part 1: Vulnerability assessment by multicriteria decision analysis. *Environment international*, v. 37, n. 8, p. 1295-1306.

ZHU, Y.; YANG, J.; WANG, L.; LIN, Z.; DAI, J.; WANG, R.; YU, Y.; LIU, H.; RENSING, C.; FENG, R. 2020. Factors influencing the uptake and speciation transformation of antimony in the soil-plant system, and the redistribution and toxicity of antimony in plants. *Science of the total environment*. 140232.



APÊNDICE 01

Metodologia para Análise de Suficiência e Representatividade



1 Avaliação de Suficiência e Representatividade

A *Avaliação de Suficiência e Representatividade* será executada ao final da etapa de *Compilação e Análise de Dados* e ao final da execução do *Plano de Investigação para Meio Ambiente*.

Inicialmente, todos os dados secundários obtidos na etapa de *Compilação e Análise de Dados* serão utilizados na etapa de *Avaliação de Suficiência e Representatividade*, sendo que os dados considerados válidos serão utilizados para o dimensionamento do *Plano de Investigação Detalhada para Meio Ambiente*. Após a execução do plano de investigação, a *Avaliação de Suficiência e Representatividade* será novamente realizada para confirmação da representatividade estatística e geostatística dos dados primários obtidos em campo e laboratório. Este procedimento visa assegurar que o conjunto de dados (secundários e primários) somados será a base suficiente e representativa para o desenvolvimento das etapas subsequentes da ARE.

A *Avaliação de Suficiência e Representatividade* indicará a distribuição espacial das substâncias detectadas acima dos Padrões Legais Aplicáveis (PLA), determinando sua frequência, comprovando a integridade e representatividade da amostragem dos compartimentos do meio físico e ambientais de interesse, bem como definindo sua suficiência para quantificação do risco ecológico.

Serão buscados dados de amostras coletadas nas três regiões de exposição definidas para a Área de Estudo Ecológico em estudo: Região de Exposição Direta (RED), Local de Exposição Indireta (LEI) e Região de Não Exposição (RNE). Entende-se que a amostragem em área impactada (RED) permitirá identificar qualquer substância que esteja acima do padrão legal aplicável (PLA) e que possa ter relação com rompimento da Barragem B I, incluindo o grupo de substâncias que podem ter sido remobilizadas pelo evento.

Para aplicação adequada da *Avaliação da Suficiência e Representatividade de Dados*, será importante considerar as localidades de referência (RNE), que representam áreas na Área de Estudo Ecológico em estudo ou fora dela, que não foram impactadas pelo rompimento da barragem B I. Nestas localidades, durante as expedições de campo a serem realizadas para execução do Plano, serão obtidas amostras de cada compartimento de interesse nas localidades de referência, que tenham as mesmas características básicas dos compartimentos de interesse da região contaminada da Área de Estudo Ecológico em estudo.

A metodologia de suficiência e representatividade de dados aqui apresentada, foi desenvolvida considerando as especificidades dos estudos de risco. Tal metodologia foi desenvolvida a partir da ausência de literatura específica para avaliação de suficiência e

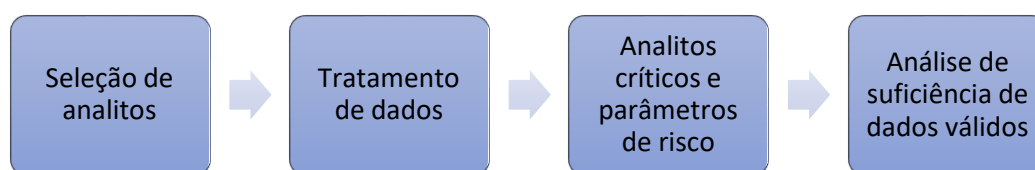
representatividade de dados no escopo de avaliações de risco. Ainda assim, a metodologia desenvolvida é baseada em referências internacionais para tratamento e análise de dados ambientais, apresentando-se coerente com as principais diretrizes técnicas internacionais e viável no contexto do projeto.

A partir do processo de validação dos dados disponíveis, a metodologia de suficiência será então conduzida considerando a distinção entre matrizes, a partir das considerações sobre continuidade espacial. Um primeiro grupo de matrizes é avaliado considerando continuidade espacial, como solo superficial e água subterrânea, e as matrizes que não apresentam continuidade espacial representam outro conjunto de dados, como água e sedimentos superficiais, poeira domiciliar e matrizes ambientais (alimentos).

A condução da análise de suficiência de dados com vistas à ARE para os compartimentos é dada após o processo de seleção de analitos, tratamento de valores abaixo dos limites de detecção/quantificação, definição do(s) analito(s) crítico(s) (ou indicador) e do parâmetro de risco.

O fluxograma indicado na **Figura 2** apresenta de maneira esquemática esse procedimento. As etapas indicadas no fluxograma são detalhadas nos tópicos seguintes.

Figura 2 – Procedimentos para condução da análise de suficiência de dados válidos



1.1 Seleção de analitos

A seleção dos analitos considerados para a análise de suficiência é baseada no parâmetro estatístico a ser estimado. No caso da ARE para as diferentes segmentações propostas, o parâmetro populacional de interesse para cada Área de Estudo Ecológico é a média populacional (μ). As recomendações disponíveis em USEPA (2000) para avaliação da média populacional dizem respeito a classificações de analitos em função da porcentagem de “não-deteção” (valores abaixo do limite de detecção, LD). A presente metodologia é baseada nas recomendações indicadas no relatório USEPA (2000), tomando as indicações para valores “não-detectados” como sendo análogas para os valores “não-quantificados”. Isto decorre da ausência dos limites de detecção dos resultados laboratoriais disponibilizados para as matrizes e analitos. Uma vez que os limites de quantificação são descritos nos laudos laboratoriais (e nas bases de

dados fornecidas), o procedimento indicado no documento USEPA (2000) é adaptado para esses limites.

A recomendação dada por USEPA (2000) é de que a porcentagem de “não-deteção” esteja abaixo de 30%, de forma a tornar adequado o uso do parâmetro média nos cálculos inferenciais, independente da magnitude do coeficiente de variação esperado. Dessa forma, a seleção de analitos se dá a partir da classificação dos analitos que apresentarem menos de 30% de “não-quantificação” (valores abaixo do limite de quantificação, LQ). Os demais analitos serão desconsiderados para avaliação de suficiência.

1.2 Tratamento de dados

A partir da seleção de analitos um tratamento e processamento de dados será conduzido. USEPA (2000) indica diferentes tratamentos para valores abaixo dos limites de detecção/quantificação, discriminando as possibilidades em função da porcentagem de valores não-detectados. O documento discrimina as porcentagens em “0 -15%”, “15-50%” e “>50%” de valores encontrados abaixo dos limites indicados. Para o caso de porcentagens entre 0 e 15%, o método da substituição é indicado, onde a substituição pode ser feita a partir do LD/2, LD ou então, um valor muito pequeno (definição adaptada da tabela de recomendação 4-4 presente no documento USEPA (2000)). Para porcentagens entre 15% e 50%, os métodos indicados no documento são: Média aparada, Ajuste de Cohen e “Winsorização” de dados. O documento recomenda os diferentes tipos de métodos sem distinção ou preferência, explicando o funcionamento básico de cada um com exemplos.

A partir das recomendações indicadas acima, foram escolhidos os métodos de substituição e “Winsorização” de dados, devido à sua facilidade de implementação em um cenário com grandes quantidades de dados (especialmente considerando o aproveitamento de dados secundários com análises que podem chegar a tratar individualmente cada analito, fase, pontos de coleta e tempo).

Dessa forma, dentre os analitos filtrados na etapa de seleção, aqueles que apresentarem porcentagem de “não-quantificação” menor que 15% terão seus valores abaixo de LQ substituídos pelo próprio limite indicado (método da substituição).

Para os analitos com porcentagem entre 15% e 30% o método de “Winsorização” de dados será adotado para tratamento dos valores abaixo de LQ. Nesse método a quantidade de valores abaixo do LQ é substituída pelo menor valor quantificado. Em contrapartida, a mesma quantidade de observações é alterada para os maiores valores observados no conjunto de dados, utilizando o maior valor abaixo destes para substituição. Ao final do tratamento de dados é possível calcular a média “Winsorizada” e um desvio padrão “Winsorizado”. Este desvio padrão

“Winsorizado” é diferente do desvio padrão do conjunto de dados alterado, fazendo com que o cálculo do desvio considere a perda de informações decorrente das modificações adotadas. O desvio padrão “Winsorizado” será calculado em função do desvio padrão amostral, número de elementos (n) e número de observações quantificadas (q) como: $S_{\text{winsorizado}} = S^*(n-1) / (2q-n-1)$.

A notação $S_{\text{utilizado}}$ é adotada para avaliações de dispersão dos analitos, sendo que $S_{\text{utilizado}}$ é coincidente com o desvio padrão amostral em matrizes com porcentagem de “não-quantificação” abaixo de 15% e $S_{\text{utilizado}} = S_{\text{winsorizado}}$ para o caso de matrizes com porcentagem entre 15% e 30%.

1.3 Analitos críticos e parâmetro de risco (Cs)

Considerando o contexto de análise de dados para avaliação de risco e a quantidade de metais e fases analisadas, faz-se necessária a definição de analitos em cada matriz que garantam a suficiência e representatividade dos demais analitos. A esses analitos atribuiu-se o nome de analitos críticos (podendo ser chamados também de analitos indicadores). Pode-se entender os analitos críticos como aqueles que oferecem o cenário menos favorável à suficiência de dados para avaliação de risco. Dessa forma, uma vez garantida a suficiência e representatividade destes, os demais analitos estarão também contemplados.

A definição do analito crítico de uma matriz depende de sua continuidade espacial, do desvio padrão dos dados (matrizes descontínuas) e do valor de intervenção (VI) dos analitos, conforme:

- Para as matrizes sem continuidade espacial, serão avaliadas as porcentagens excedidas em relação ao VI, bem como a razão entre VI e desvio padrão utilizado ($S_{\text{utilizado}}$). O analito crítico é definido como o de menor razão limite ($VI/S_{\text{utilizado}}$) e maior porcentagem de excedência do VI. Em caso de divergência entre os critérios, mais de um analito será considerado crítico.
- Para as matrizes com continuidade espacial, serão avaliadas as porcentagens excedidas em relação ao VI. O analito crítico é definido como o de maior porcentagem excedida.

Ainda no contexto de analitos críticos, faz-se necessária uma métrica de risco para avaliação dos resultados. Essa métrica de risco, que irá auxiliar na condução das análises inferenciais e nas discussões de suficiência, é nomeada parâmetro de risco e indicada com a sigla “Cs”. Esse parâmetro de risco pode ser o valor de intervenção (VI) do analito investigado, ou outra métrica associada a riscos teóricos como, por exemplo, a concentração máxima aceitável (CMA). As discussões e análises inferenciais da avaliação de suficiência são sugeridas inicialmente utilizando o VI como referência de risco, uma vez que este é um parâmetro

associado a um cenário de exposição genérico e, portanto, mais restritivo. Porém, há a possibilidade do analito sob análise ocorrer naturalmente em concentrações superiores ao VI, não sendo caracterizado como contaminação, mas sim como valor de *background* elevado. Nesses casos, quando o valor de *background* da região sob análise puder ser obtido ou ter sua ordem de grandeza estimada, e apresentar concentração superior ao VI, o parâmetro C_s será definido como a CMA do analito. A CMA refere-se à concentração limite para ocorrência de riscos teóricos à **saúde humana** no cenário avaliado, determinada a partir de parâmetros específicos para a área de interesse de análise. Pela sua maior especificidade, seus resultados costumam ser menos restritivos.

Quando não há valores de *background* disponíveis e, portanto, não é possível separar os dados provenientes de “amostras naturais” e “amostras contaminadas”, utiliza-se a média amostral do conjunto de dados do analito crítico comparada com o VI desse analito para definir C_s . Uma regra de classificação para definição de C_s foi desenvolvida considerando a premissa que, quando as concentrações naturais não excedem o VI, a média do conjunto de dados é inferior ao VI. Porém, resultados extremos (*outliers*), que são muito frequentes em amostras de dados ambientais, podem afetar a média do conjunto de dados e levar a conclusões distorcidas.

Adota-se então, para esta classificação, uma majoração da média amostral em uma vez e meia. A multiplicação da média amostral por 1.5 pode ser encarada como uma “folga” que permite que haja *outliers* no conjunto de dados e sua influência seja minimizada para definição de C_s .

Ao final têm-se as seguintes classificações, quando não há informações sobre *background*:

- a) Se a média amostral é inferior a $1.5 \cdot VI$: utiliza-se o VI como C_s ;
- b) Se a média amostral é superior a $1.5 \cdot VI$: utiliza-se a CMA como C_s , pois há possibilidade de indicação de valores de *background* naturalmente elevados.

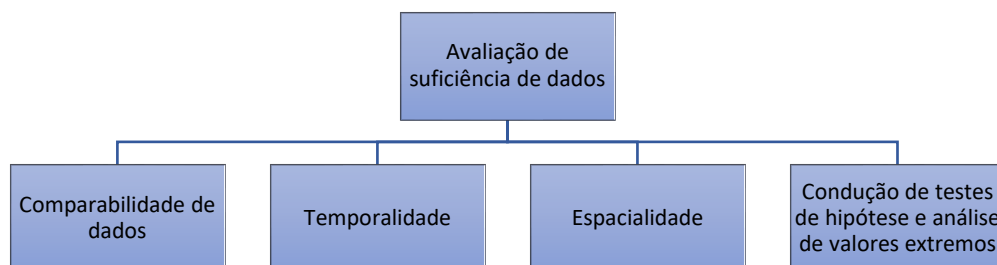
No entanto, em ambos os casos, a distribuição dos dados amostrais também será levada em consideração, validando a definição de C_s ou então sugerindo outra abordagem.

1.4 Análise de suficiência de dados válidos

A análise de suficiência de dados válidos consiste na análise de resultados dos analitos críticos identificados, contemplando as seguintes avaliações: comparabilidade de dados (quando da disponibilidade de fontes de dados provenientes de campanhas distintas), análise de temporalidade (quando houver medições temporais), análise de espacialidade das

concentrações, avaliação de níveis basais, condução de testes de hipótese e análise de valores extremos (**Figura 3**).

Figura 3 – Tópicos envolvidos na avaliação de suficiência de dados



Como indicado na **Figura 3**, os tópicos envolvidos na avaliação da suficiência de dados para aplicações em ARE apontam para um maior controle e entendimento dos fenômenos envolvidos no processo. Tal controle fornece um cenário robusto à tomada de decisão quanto à necessidade de amostragem complementar ou confirmação de suficiência e representatividade de dados.

Dessa forma, a presente metodologia é baseada no entendimento de que a suficiência de dados é função das condições observadas e das especificidades de cada matriz com relação aos tópicos levantados. De forma resumida, as seguintes considerações serão feitas:

- A comparabilidade de dados será avaliada quando da presença de mais de uma fonte de dados disponível, não sendo obrigatória para definir um conjunto de dados como suficiente e representativo.
- A temporalidade de dados será avaliada quando da presença de dados com medições temporais, não sendo obrigatória para definir um conjunto de dados como suficiente e representativo. Esta análise se mostra de interesse prático, uma vez que possibilita o entendimento temporal da matriz considerando efeitos de sazonalidade, tendência e, também, fornece resultados transformados (equivalentes estáticos) ao conjunto de dados, aumentando o quantitativo amostral.
- A espacialidade das concentrações será avaliada em todas as matrizes, com modelagem geoestatística para matrizes com continuidade espacial e mapas discretos de disposição espacial das concentrações para matrizes sem continuidade espacial. Uma avaliação específica para matrizes provenientes de população finita (poeira domiciliar ou matrizes ambientais) será conduzida.

Essa etapa é obrigatória para definir a suficiência e representatividade de um conjunto de dados.

- Uma avaliação de níveis basais será conduzida a partir da busca por valores de *background* em literatura e/ou a partir da avaliação de resultados em regiões “não-expostas” ou “pré-evento”. Essa etapa, apesar de não ser obrigatória para definir a suficiência e representatividade de dados, consiste em uma avaliação de grande interesse prático e sempre será realizada quando houver informações ou dados disponíveis.
- Inferências sobre a média populacional serão feitas a partir da realização de testes de hipótese para médias em matrizes sem continuidade espacial. Tais testes terão, em primeiro momento, a comparação da média com o parâmetro de risco (C_s), podendo ser aplicados também para comparações entre regiões de exposição e entre áreas de estudo ecológico. Para as matrizes sem continuidade espacial, essa etapa é obrigatória para definir a suficiência e representatividade de um conjunto de dados.
- Avaliações de valores extremos serão conduzidas considerando critério de *outlier* baseado em análise descritiva de dados (critério de Tuckey), o parâmetro de risco (C_s) e a distribuição das concentrações. A possibilidade de utilização de testes para *outliers* também será avaliada. Para as matrizes sem continuidade espacial, essa etapa é obrigatória para definir a suficiência e representatividade de um conjunto de dados.
- As análises inferenciais adotadas (baseadas nos testes de hipótese, análise de valores extremos e na aplicação de modelagem geostatística) pressupõem um quantitativo mínimo de pontos coletados sendo, portanto, necessária a obtenção mínima desse quantitativo para o uso adequado das ferramentas inferenciais.

A indicação do quantitativo mínimo para condução da análise de suficiência bem como um detalhamento metodológico dos tópicos levantados são expostos nos itens a seguir.

1.4.1 Quantitativo mínimo para condução da análise de suficiência

Para condução adequada das análises previstas na Figura 3, um quantitativo mínimo de pontos se faz necessário.

Em USEPA (2000), recomenda-se a utilização de ao menos 20 observações em cálculos estatísticos para evitar a ocorrência de viesamentos de resultados e diminuição da eficiência e

performance dos objetivos estatísticos especificados. Tal recomendação decorre da dificuldade em assegurar a consistência das distribuições de probabilidade assumidas nos modelos estatísticos a partir de número de elementos amostrais reduzidos.

O documento *“ProUCL Version 5.1 Technical Guide - Statistical Software for Environmental Applications for Data Sets with and without Nondetected Observations”* elaborado pela US EPA em 2015, também utilizado como referência para a presente metodologia, recomenda o requisito mínimo de 10 observações para utilização do ferramental estatístico presente no software ProUCL. O documento enfatiza que essa recomendação não deve ser interpretada de maneira generalizada e indica máximo esforço para coleta de número de amostras baseado nos objetivos de performance adotados no plano de amostragem.

A presente metodologia, considerando ambas as referências citadas, não é aplicável a quaisquer conjuntos de dados com menos de 10 observações, tornando este o número mínimo de pontos para avaliação de suficiência em matrizes sem continuidade espacial (que são tratadas com uma abordagem estatística). Contudo, se o número de resultados da matriz analisada estiver entre 10 e 20, a análise dos resultados de suficiência será feita com ressalvas, a partir do número limitado de amostras. Tal definição decorre do fato de que o quantitativo entre 10 e 20 observações garante o mínimo de uma referência (*ProUCL Version 5.1 Technical Guide - Statistical Software for Environmental Applications for Data Sets with and without Nondetected Observations*), porém não de outra (USEPA (2000)). Por fim, matrizes sem continuidade espacial que apresentarem mais de 20 resultados serão consideradas para avaliação de suficiência sem ressalvas, pois atendem a ambas as referências. Em alguns casos em que matrizes sem continuidade espacial apresentarem população finita (como poeira domiciliar, vegetais, hortaliças, frutas, entre outros), o número mínimo pode ser reavaliado, considerando a proporção entre a quantidade de resultados amostrais e a quantidade total de resultados da região (censo da população, definido usualmente pela letra N).

Para matrizes com continuidade espacial (conduzidas a partir da utilização de modelagem geostatística), a *Interstate Technology & Regulatory Council - ITRC* (2016), recomenda a necessidade de ao menos 30 observações para aplicação de métodos avançados (como a Krigagem Ordinária). Nesse caso, este se torna o quantitativo mínimo para aplicação da metodologia de suficiência dessas matrizes.

1.4.2 Comparabilidade de dados

Como indicado pela USEPA no documento *“Guidance for Data Usability in Risk Assessment - Part A”* (1991) o agrupamento de dados será desejável do ponto de vista de avaliação de risco. Contudo, a USEPA recomenda a análise de determinados critérios para

avaliar a comparabilidade dos dados e seu possível agrupamento. Os critérios são: análises de planos de amostragem (design de amostragem, do inglês *Sampling Design*), métodos de filtração e conservação de amostras, metodologias de análise e limite de quantificação, lista de compostos analisados e comparabilidade dos dados. Este último critério é discriminado em comparabilidade estatística de dados (aplicável a matrizes sem continuidade espacial) e comparabilidade espacial de dados (aplicável a matrizes com continuidade espacial). A comparabilidade espacial dos dados será realizada no contexto da análise de correlação espacial (discutida no tópico 1.4.3). Os critérios de métodos de filtração e conservação das amostras, metodologias de análise e limite de quantificação bem como lista de compostos analisados são discutidos em tópico conjunto denominado “metodologia de amostragem”.

A USEPA (1991) também indica alguns fatores além da estatística que devem ser levados em consideração quando se objetiva a combinação de dados de campanhas diferentes. Propriedades físicas como padrões climáticos, chuvas e características geológicas em diferentes áreas de exposição são alguns exemplos. Efeitos temporais, como a sazonalidade ou o período de amostragem, entre outros, são analisados separadamente. Considerando esses fatores, a análise de comparabilidade de dados é conduzida após a avaliação de temporalidade para devida consideração de efeitos temporais dos dados provenientes de fontes diferentes.

Em caso de dados não-comparáveis e, portanto, não-agrupáveis, serão utilizados os dados secundários obtidos que privilegiem o maior quantitativo de elementos para condução das análises. Em caso de obtenção de dados primários, estes serão utilizados como referência para os demais grupos.

Os tópicos relacionados à análise de plano de amostragem, metodologia de amostragem, e comparabilidade estatística de dados são discutidos e detalhados nos tópicos seguintes, enquanto a temporalidade de dados é avaliada no Apêndice 03³¹.

1.4.2.1 Análise de plano de amostragem

A análise do plano de amostragem de cada campanha experimental é um critério a ser analisado quando se objetiva a comparabilidade e possível agrupamento de dados de fontes distintas. O documento “*Guidance on Choosing a Sampling Design for Environmental Data Collection*” publicado pela US EPA (2002a) afirma que a associação de planos amostrais direcionados com planos não-viesados pode prover um cenário robusto para tomada de decisões em análises de dados ambientais. Além disso, “*Guidance for Data Usability in Risk Assessment*

³¹ Este apêndice foi adaptado para atendimento à **Nota Técnica nº 13/IGAM/GEMOQ/2021**

- *Part A*” (1991) indica que a associação de amostragem sistemática **com direcionada** é a melhor estratégia para identificação de *hotspots*. No contexto de avaliação de risco (entre outras investigações mais detalhadas), a identificação de *hotspots* é essencial para o desenvolvimento de medidas de controle, remediação e/ou monitoramento.

Para as análises de comparabilidade de planos amostrais em matrizes sem continuidade espacial, o procedimento de análise será feito comparando o plano de amostragem proposto nas diferentes fontes de dados. Em caso de amostragens que também considerem espacialidade (como pontos gerados em malhas sistemáticas) e/ou direcionamentos pertinentes ao estudo, o quesito análise do plano de amostragem será dado como válido entre as fontes analisadas.

1.4.2.2 Metodologia de amostragem

A comparação dos métodos de coleta, manuseio e transporte de amostras das fontes de dados distintas será feita a fim de garantir que as amostras de qualquer que seja a fonte foram coletadas de maneira padronizada e com controle de qualidade do processo, ainda que o procedimento seguido não seja o mesmo para todas as fontes. Já os métodos de análise e limite de quantificação laboratorial serão comparados visando à máxima confiabilidade dos resultados apresentados para todos os parâmetros analisados nas fontes.

Para as análises de comparabilidade o procedimento de análise será feito comparando os métodos amostrais propostos nas diferentes fontes de dados.

1.4.2.3 Comparabilidade estatística de dados

A comparabilidade estatística é discriminada em duas situações: quando se dispõe de dois conjuntos distintos de dados e quando se dispõe de três ou mais conjuntos distintos de dados. No âmbito da comparabilidade de dados secundários, os conjuntos são discriminados para cada fonte. Isto é, dada uma matriz e um analito, um conjunto de dados é definido para cada fonte.

A metodologia de comparabilidade adotada é baseada no uso de testes não-paramétricos, que não possuem o requisito de normalidade na distribuição dos dados e são menos afetados pela presença de *outliers* (testes normalmente avaliados considerando medianas).

Para comparação estatística entre duas fontes distintas de dados o teste não-paramétrico U de Mann-Whitney (1947) será conduzido. O teste U de Mann-Whitney analisa se os dados de fontes distintas podem ser considerados provenientes de uma mesma população de dados (hipótese nula), ou de populações distintas (hipótese alternativa). Quando a hipótese inicial não

é rejeitada ($p\text{-valor}>0.05$) não se pode afirmar que os dados sejam provenientes de populações diferentes e, portanto, o agrupamento será dado como possível e os dados serão agrupados. Quando a hipótese inicial for rejeitada ($p\text{-valor}>0.05$), o agrupamento não será possível e será conduzida uma análise para definição de qual fonte de dados será utilizada nas análises. Há de se enfatizar que não rejeitar a hipótese inicial do teste não significa “aceitá-la”.

Para o caso de comparação estatística com três ou mais fontes de dados distintas o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (1952) será conduzido. O teste de Kruskal-Wallis é uma extensão do teste U de Mann-Whitney. Esse teste analisa se o conjunto de três ou mais grupos independentes foram ou não extraídos de uma mesma população sob a hipótese nula de que todas as populações possuem funções de distribuição iguais e hipótese alternativa de que ao menos duas populações possuem funções de distribuição diferentes. A significância adotada nesse teste será de 5%. Assim, quando a hipótese inicial é rejeitada ($p\text{-valor}<0.05$) haverá indicação de diferença significativa estatisticamente entre as funções de distribuição de ao menos dois grupos de dados. Nesse caso sabe-se que ao menos um dos grupos é distinto dos demais, porém não se tem a informação de qual/quais grupo(s) seria/seriam.

O procedimento de comparações múltiplas será então realizado por meio do teste de Nemenyi. O teste de Nemenyi é um teste *post-hoc*, ou seja, é um teste usado após a aplicação de testes não-paramétricos com três ou mais fatores, como o de Kruskal-Wallis. O teste consiste em fazer comparações em pares com o intuito de verificar qual (quais) dos fatores diferem entre si. Cada grupo é comparado em pares e o p-valor resultante em cada comparação é utilizado para concluir o teste. Se o p-valor de uma comparação é menor que 0.05 há diferença estatisticamente significativa entre os grupos comparados. Em caso de p-valores maiores que 0.05 não há evidências de diferenças significativas, tornando possível o agrupamento de dados. No contexto das análises da presente metodologia, quando utilizados, os agrupamentos possíveis são dados em função da(s) fonte(s) com maior quantitativo de elementos. Ou seja, ao avaliar as comparações múltiplas o cenário com maior quantidade de elementos semelhantes será adotado.

Quando a hipótese inicial do teste de Kruskal-Wallis não for rejeitada ($p\text{-valor}>0.05$) não se poderá afirmar que os dados sejam provenientes de populações diferentes e, portanto, o agrupamento entre todas as fontes será dado como possível e executado para os cálculos. Há de se enfatizar que não rejeitar a hipótese inicial do teste não significa “aceitá-la”.

1.4.3 Espacialidade

A espacialidade das concentrações observadas é discriminada em matrizes que apresentam e que não apresentam continuidade espacial. Para as primeiras, a elaboração de

mapas com pontos discretos associados aos resultados da análise de valores extremos permitirá a avaliação da espacialidade da matriz. Já para matrizes com continuidade espacial é previsto o uso de modelagem geoestatística, conforme exposto a seguir.

1.4.3.1 Matrizes com continuidade espacial

A Krigagem é um método de interpolação espacial que permite estimar valores em locais não amostrados e fornece uma estimativa da incerteza nos valores interpolados. Para matrizes com continuidade espacial o “comportamento” dos dados coletados envolve não somente a quantidade, mas também a localização dos pontos e variação espacial das amostras. Tendo em vista essas variáveis que devem ser consideradas, opta-se pelo uso do método da Krigagem Ordinária para análise de suficiência e representatividade dos dados. Neste método são utilizados modelos probabilísticos, nos quais ponderações consideram a forma e a orientação do conjunto de observações e a incerteza associada aos valores estimados será calculada e minimizada para o ajuste de modelos. Segundo ISAAKS e SRIVASTAVA (1989), a Krigagem Ordinária é considerada como o “melhor estimador imparcial linear”.

Tendo em vista a escala dimensional das áreas de estudo ecológico, a heterogeneidade e complexidade relacionadas as características do meio físico, em conjunto com a quantidade de dados e fontes de dados distintas, além da comparabilidade metodológica entre fontes (analisada em termos de: análise do plano de amostragem; temporalidade; procedimentos de coleta, conservação e análise laboratorial de amostras), para a aplicação da Krigagem Ordinária para análise de suficiência de dados, foram adotados os seguintes critérios a serem avaliados, listados nos subtópicos seguintes.

Um conceito aplicado no presente projeto foi o de Índice de Dependência Espacial (IDE), apresentado por CAMBARDELLA *et al.* (1994), que a partir dos aspectos geométricos do semivariograma, analisa e classifica a dependência espacial dos dados. O índice é expresso pela porcentagem da razão entre o efeito pepita (“*nugget*”) sobre o patamar (“*sill*”). Assim, a porcentagem obtida é utilizada para distinguir diferentes classes de dependência espacial entre as amostras. Para valores entre 0 a 25%, a dependência é classificada como forte. Para valores entre 25 a 75% a dependência é moderada, e para valores superiores à 75% a dependência é fraca.

1.4.3.1.1 Índice de Moran

As regiões sob análise podem apresentar diversos conjuntos de dados oriundos de fontes distintas. Nesse caso, o teste de análise de correlação espacial do índice de Moran será realizado com o objetivo de:

- Verificar se, para a configuração da malha envolvendo o agrupamento de diferentes conjuntos, há correlação espacial positiva;
- Quantificar e classificar a correlação espacial dos agrupamentos de conjuntos de amostras.

Para isso, a análise será realizada para os conjuntos de amostras totais de cada região avaliada.

Segundo indicado no livro “Análise Espacial de Dados Geográficos” desenvolvido pela Divisão de Processamento de Imagens (DPI) do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), a correlação espacial de um conjunto de dados pode ser medida através do índice de Moran (CÂMARA *et al.* 2004).

O índice de Moran (I) mede a autocorrelação espacial de um conjunto de dados a partir do produto dos desvios em relação à média. Este índice é uma medida global da autocorrelação espacial, pois indica o grau de associação espacial presente no conjunto de dados. O índice de Moran (I) presta-se a um teste cuja hipótese nula é de independência espacial, neste caso, seu valor seria zero. No caso de índices diferentes de zero a independência espacial dos dados é descartada pelo teste. Neste caso abordagens puramente estatísticas não devem ser realizadas, uma vez exigem independência de dados. Para índices diferentes de zero, o teste de Moran indica que há autocorrelação espacial, ou seja, os dados não são independentes espacialmente.

Valores positivos (entre 0 e 1) indicam correlação direta e negativos (entre 0 e -1) correlação inversa, enquanto a proximidade de 1 (em módulo) indica a intensidade dessa correlação. Neste caso, índices distantes de 1 (próximos de 0) são classificados como correlação fraca e índices próximos de 1 são classificados como correlação forte.

A validade estatística do índice de Moran (I) é avaliada a partir do teste de pseudo-significância para o índice. Nesse teste são geradas diferentes permutações dos valores de atributos associados às diferentes regiões do espaço; cada permutação produz um novo arranjo espacial, onde os valores estão redistribuídos entre as regiões. Como apenas um dos arranjos corresponde à situação observada, pode-se concluir uma distribuição empírica de I. Se o valor do índice I medido originalmente corresponder a um “extremo” da distribuição simulada, então se tratará de valor com significância estatística.

A significância máxima adotada para as análises de correlação espacial da presente metodologia será de 5%. Neste caso, se a pseudo-significância calculada nos testes for igual ou inferior a 0.05, o teste será validado estatisticamente, ou seja, a interpretação do índice será válida. No caso de valores acima de 5%, o teste passa a ser inconclusivo e a autocorrelação será medida através de outra metodologia.

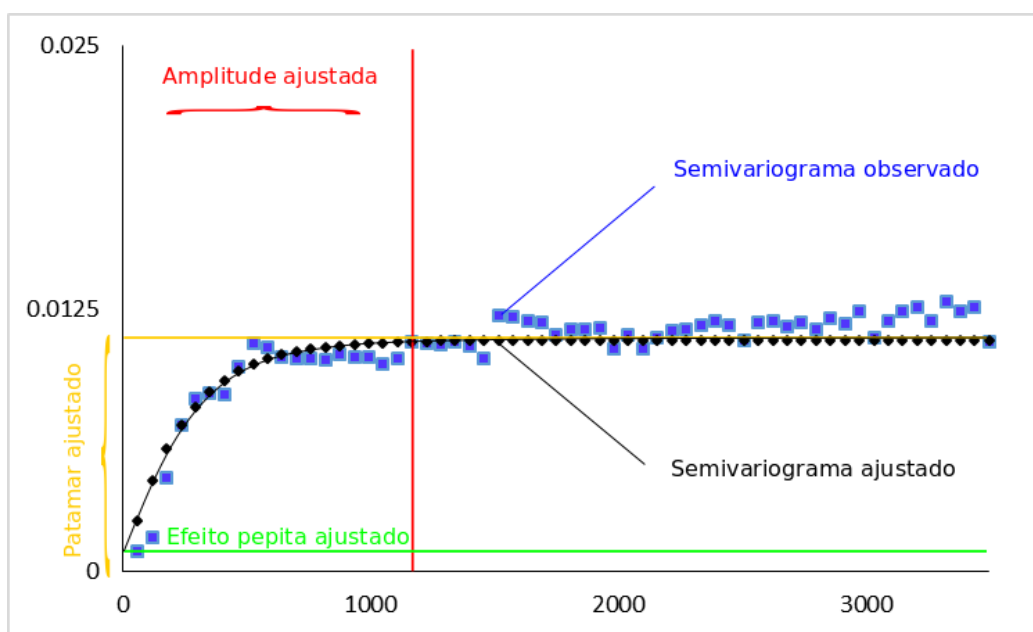
Em se tratando de comparabilidade de dados de fontes distintas, quando houver um índice de Moran com validade estatística, as fontes de dados serão consideradas comparáveis e os dados serão agrupados. Tal afirmação decorre do fato de que, ao considerar as diferentes fontes, seus resultados e a disposição espacial de cada ponto de coleta, um índice de Moran com significância estatística indicará que o conjunto apresenta um grau de correlação espacial suficiente para considerar os dados de maneira agregada.

Em casos de índices de Moran sem validade estatística, uma análise das fontes será conduzida, tanto individualmente quanto considerando diferentes grupos de dados, a fim de entender onde podem estar as diferenças entre os conjuntos e definir os resultados a serem utilizados.

1.4.3.1.2 Ajuste de semivariograma

Ao modelar o semivariograma, a autocorrelação será avaliada e quantificada por meio da modelagem espacial. Na modelagem espacial, um semivariograma sintético, também chamado de empírico, é gerado com base em um modelo matemático (exponencial, esférico, gaussiano, etc.) e os parâmetros são ajustados com o objetivo de aderir ao semivariograma de semivariâncias observadas (**Figura 4**).

Figura 4 – Exemplo Esquemático de geração de semivariograma



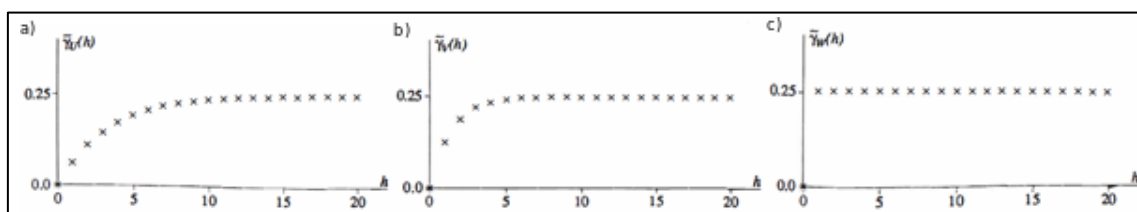
O semivariograma empírico fornece informações sobre a autocorrelação espacial dos conjuntos de dados. No entanto, eles não fornecem informações para todas as direções e distâncias possíveis. Dessa forma, o ajuste do semivariograma tem como objetivo garantir que



as predições da krigagem tenham maior aderência aos dados observados. Entretanto, dados amostrados podem não apresentar um padrão claro de continuidade espacial e no caso de compartimentos ambientais analisados no âmbito das geociências (solo e água subterrânea) a falta de padrão de continuidade espacial será um indicativo de insuficiência no número de amostras ou de erros de amostragem (ISAAKS & SRIVASTAVA, 1989).

Para semivariogramas empíricos ajustados, a progressão da curva é um indicador de continuidade da variável observada no espaço. Um semivariograma com comportamento parabólico e com crescimento “lento” (**Figura 5a**) reflete boa continuidade espacial, já uma forma linear e com crescimento “rápido” **Figura 5b**) reflete moderada continuidade no espaço (ISAAKS & SRIVASTAVA, 1989). No caso de inclinações aproximadamente perpendiculares desde a origem (**Figura 5c**), o modelo reflete a ausência de continuidade espacial.

Figura 3 – Modelos de curvas nos semivariogramas



Fonte: Retirado de Isaaks & Srivastava (1989).

O parâmetro de *lag* é ajustado com base no critério sugerido pela ESRI (2020): o tamanho do *lag* será adotado como distância média entre pontos e seus vizinhos mais próximos e o número de *lags* é ajustado de acordo com a maior distância do conjunto de dados observados, preferencialmente não superando metade do valor máximo. Entretanto, durante a modelagem espacial esses parâmetros não necessariamente precisam se adequar a esses critérios, uma vez que não se trata de regras explícitas, mas de sugestões para ajustes iniciais. Já os parâmetros de patamar e efeito pepita são ajustados com base direta na modelagem espacial, de forma a gerar maior adesão do semivariograma empírico e aos dados observados.

1.4.3.1.3 Regressão linear

A partir do ajuste do semivariograma do conjunto de dados é gerado um modelo de interpolação numérico para as concentrações distribuídas em função das coordenadas espaciais. Um modelo de regressão linear simples (MRLS) entre as concentrações medidas e as concentrações estimadas pela interpolação será analisado.

Para avaliação da adequação do modelo ajustado serão utilizados o coeficiente de determinação (R^2) da interpolação e uma breve análise de erros residuais (diferença entre o valor observado nas amostras e o valor estimado pelo modelo).

O coeficiente de determinação (R^2) de um MRLS reflete a porcentagem da variabilidade total da variável predita (no caso, concentração interpolada em função do espaço) explicada pelo modelo proposto. Nesse sentido, quanto maior a aderência dos dados ao modelo, maior será o coeficiente de determinação (R^2).

Para os modelos de regressão linear analisados no escopo da presente metodologia, uma análise sobre seus erros residuais será conduzida a partir do gráfico de erro residual em função dos valores de concentração observados. Nesse gráfico o eixo horizontal centrado em $y=0$ será ressaltado, bem como a reta de tendência estimada para o erro residual em função da concentração observada. Quanto maior for a aderência do modelo de interpolação ajustado, mais horizontal será a tendência encontrada entre os erros residuais em função das concentrações. Em outras palavras, quão mais ajustado o modelo for aos dados analisados, menor será a dependência do resíduo em função da concentração dos pontos.

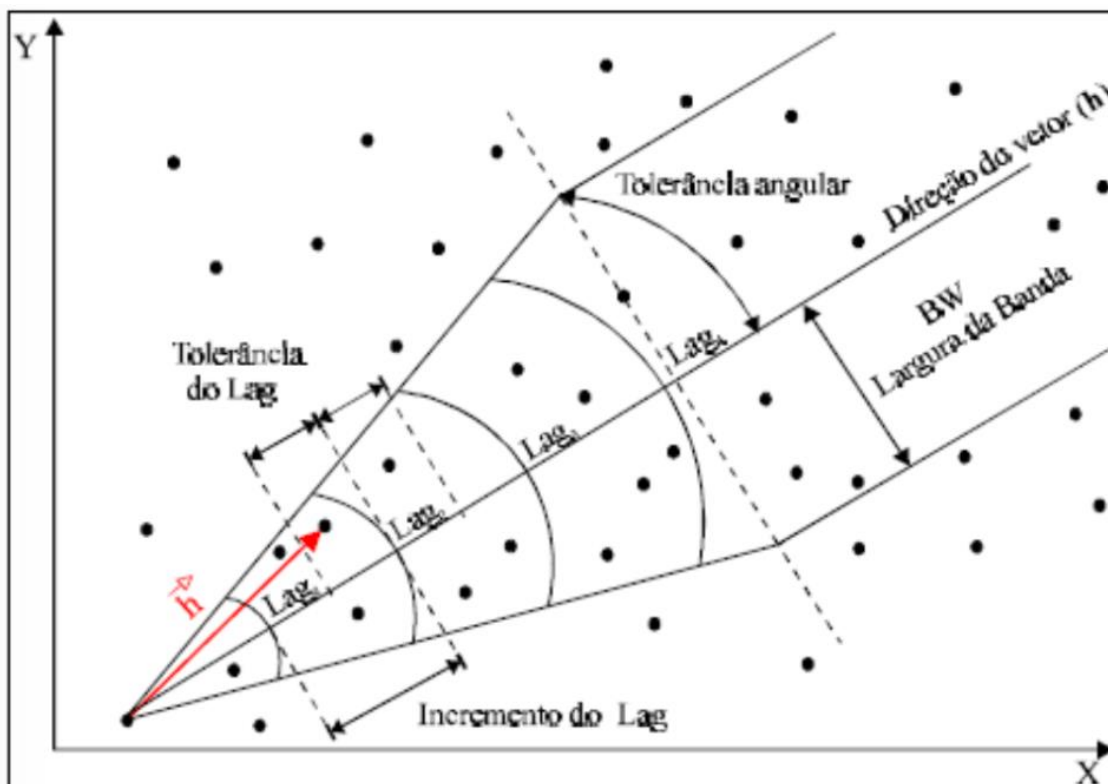
1.4.3.1.4 Análise de dados

Para a análise dos dados presentes para cada área de estudo ecológico, são realizados dois tipos de análises, sendo a primeira em escala regional e a segunda em escala local. A principal diferença entre as duas escalas é a diferença do tamanho do *lag*.

Como observado na **Figura 6**, a distância do *lag* influencia no cálculo da semivariância. Para *lags* menores, a semivariância é calculada em função de combinações de amostras mais próximas entre si, o que leva ao cálculo de cada semivariância média com um menor conjunto de pares e, para uma distância máxima fixada de investigação, uma maior quantidade de semivariâncias médias calculadas em comparação com *lags* maiores.

A definição dos tamanhos de *lag* para escala regional e local seguem, respectivamente, a distância média entre pontos vizinhos esperada e distância média observada. Como consequência das definições de *lag*, espera-se que modelos de escala regional apresentem variações mais suavizadas em comparação com modelos de escala local.

Figura 4 – Parâmetros de Cálculo de Semivariograma



Fonte: Adaptado de Kazuo (2013).

A metodologia da Krigagem Ordinária será executada a partir do uso da extensão *Geostatistical Analyst* do software *ArcGIS* ou por algoritmo próprio (programado nas linguagens R e Python). A determinação das análises relacionadas ao índice de Moran é executada a partir do uso de algoritmo próprio (programado nas linguagens R e Python).

Nesses programas, os seguintes passos serão executados nesta ordem:

- (1) Os dados serão importados e as duplicatas serão excluídas por meio do critério de seleção da maior concentração observada no ponto; em casos em que houver dados de áreas adjacentes à investigada, estes poderão ser incluídos na modelagem;
- (2) A distribuição de dados será avaliada a partir da construção de histogramas de dados brutos e transformados (transformação logarítmica). A opção de maior simetria será adotada para os passos seguintes;
- (3) O índice de Moran será calculado e validado ou descartado a partir do teste de pseudo-significância;



- (4) Métricas de distância entre pontos serão calculadas. Dentre elas serão elencadas as distâncias máximas e mínimos dentro do conjunto de amostras bem como as distâncias médias observadas e esperadas (com base em uma malha de pontos regular) entre pontos vizinhos.
- (5) O semivariograma dos dados será modelado com base na modelagem espacial para o modelo de maior aderência aos dados observados;
- (6) O mapa de quantil (95%) será solicitado;
- (7) O mapa de incerteza (*Prediction Standard Error*) será fornecido pelo programa, partindo-se dos mesmos parâmetros utilizados no item (5).

A avaliação de suficiência baseada na espacialidade será realizada com base os seguintes critérios:

- Análise de distribuição de dados brutos e transformados
- Avaliação do índice de Moran e do teste de pseudo-significância, onde se constatará (ou não) a correlação espacial do conjunto total de amostras da região objeto de análise;
- Avaliação do ajuste do semivariograma às semivariâncias médias observadas dos dados observados, onde será verificada novamente se foi identificada (ou não) a correlação espacial do conjunto de amostras da região objeto de análise e será feita avaliação da compatibilidade do IDE com o estimado pelo índice de Moran;
- Avaliação de aderência do semivariograma dos dados ajustados e comparação das distâncias de correlação do semivariograma com as métricas de distância entre pontos vizinhos;
- Avaliação da adequação do modelo de previsão a partir do coeficiente de determinação (R^2) da tendência (valor estimado) em função da concentração observada e análise dos erros residuais encontrados;
- Análise da distribuição de isovalores de concentrações nos mapas de quantis;
- Análise da distribuição de isovalores de concentrações nos mapas de incerteza;



- Análise da distribuição de isovalores da associação de concentrações dos mapas de quantil e incerteza.

Em caso de amostragens com dados primários que satisfaçam o requisito mínimo de resultados para aplicação da metodologia ($n > 30$), com cobertura espacial adequada e que não apresentem estrutura de correlação espacial (isto é, índice de Moran inconclusivo associado à semivariogramas sem aderência às semivariâncias médias observadas e coeficientes de tendências inferiores aos coeficientes de resíduos), outras estratégias de análise para suficiência e representatividade poderão ser avaliadas com uso de estatística inferencial e/ou outros modelos espaciais.

1.4.4 Condução dos testes de hipótese e análise de valores extremos

Para matrizes sem continuidade espacial será prevista a condução de testes de hipótese comparando a média populacional com o parâmetro de risco (C_s). O teste de hipóteses será definido de forma que a hipótese nula considerará o local como “contaminado” ($\mu_0 \geq C_s$), ou seja, com concentração média superior a C_s , e a hipótese alternativa considerará o local como “não-contaminado” ($\mu_1 < C_s$), ou seja, com concentração média inferior a C_s .

A condução do teste levará em conta os possíveis erros tipo I e tipo II.

O erro tipo I ocorre ao afirmar, a partir da conclusão do teste estatístico, que uma região não está “contaminada” (em média) quando de fato ela está. O valor adotado nas análises para esse erro (α) será de 5%. O erro tipo II ocorre ao se afirmar que uma região está “contaminada” (em média) quando de fato ela não está. Uma vez que o erro tipo II é um erro a favor da segurança, ou seja, ao ocorrer é fornecida uma abordagem mais conservadora à avaliação de suficiência, seu valor adotado será menos restritivo que o erro tipo I, com $\beta = 20\%$. Dessa forma, especificados os erros toleráveis de ambos os tipos, o teste será conduzido a partir do cálculo do valor crítico (ou de barreira/corte), da média e desvio-padrão amostrais e/ou do p-valor associado.

O valor crítico será calculado a partir do seguinte equacionamento:

$$\overline{x}_{crítico} = C_s - t_{(1-\alpha),df} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Em que:

C_s : parâmetro de risco

$t(1-\alpha)$, df : é o valor da distribuição t-student avaliada para $(1-\alpha)\%$ de probabilidade com df graus de liberdade (nesse caso, o número de elementos amostrais subtraído da unidade)

S : desvio padrão amostral

n: número de elementos amostrais

Quando a média amostral é menor que o valor crítico (ou p-valor <0.05) a hipótese nula é rejeitada, ou seja, pode-se afirmar que a concentração média populacional está abaixo do parâmetro de risco (C_S), ao nível de 5% de significância. A rejeição do teste implicará em controle do erro tipo I, que como já visto, é de maior preocupação.

Quando a média amostral é maior que o valor crítico (ou p-valor >0.05), a hipótese nula não é rejeitada, ou seja, não se pode afirmar que a concentração média populacional esteja abaixo de C_S . Para esse caso faz-se necessária a verificação do controle do erro tipo II. O documento USEPA (2000) indica uma maneira analítica de verificar esse controle por meio do cálculo da estatística “m”, a partir do desvio padrão amostral (S), dos erros tipo I e tipo II adotados e de um valor de concentração médio de uma população não-exposta (μ_1).

$$m = \frac{S^2(Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})^2}{(C_S - \mu_1)^2} + 0.5(Z_{1-\alpha})^2$$

Se o número de pontos coletados (n) for maior que “m” o erro tipo II é controlado. Caso contrário, o resultado do teste não poderá ser avaliado, uma vez que o número de elementos coletado é insuficiente (USEPA, 2000). Nesses casos, amostras complementares serão necessárias para avaliação dos resultados do teste de hipótese.

Após a realização do teste de hipótese mencionado, uma análise de valores extremos será conduzida. Para testes “não-rejeitados” e sem controle do erro tipo II, tal análise servirá para “discriminar” os dados em um conjunto considerado “normal” e outro com as maiores concentrações observadas, e possibilitar a reavaliação do teste de hipótese para cada classificação.

A fim de possibilitar o uso de “testes de *outliers*”, a normalidade dos dados será testada. Gráficos do tipo QQPlot serão gerados “com” e “sem” discriminação de *outliers*, definidos inicialmente a partir do critério da distância interquartílica ($1,5 \cdot \text{DIQ}$, DIQ: Distância Interquartil) de TUCKEY (1977). Nesse momento, o limite superior de *outlier* via definição de TUCKEY (denominado nas análises como LS) associado ao valor de C_S do analito e a análise baseada em julgamento profissional possibilitarão a definição de *outliers* a serem discriminados e tratados separadamente. A normalidade dos dados será testada com o Teste de normalidade de SHAPIRO-WILK (1965) em ambas as configurações: “sem” e “com” exclusão de valores anômalos, assumindo significância de 5%. Em caso de “não rejeição” do teste de normalidade (p-valor > 0.05), ou seja, assumindo distribuição normal dos dados, a necessidade de testes de *outlier* será verificada. A escolha do teste de *outlier* dependerá das condições de normalidade, *outliers* múltiplos e tamanho da amostra (USEPA, 2000).

Quando conveniente, o conjunto de valores anômalos discriminado poderá ser avaliado por meio de gráfico QQPlot individual associado ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

Após a discriminação dos valores nas duas classificações (conjunto denominado “normal” e *outliers*) uma avaliação da espacialidade das concentrações será realizada a partir da elaboração de mapas geográficos com identificação dos conjuntos dentro da região avaliada.

1.5 Conclusões da Avaliação de Suficiência e Representatividade

A partir Avaliação e Validação dos Dados Ambientais e Ecológicos, será obtido um conjunto de dados compilados, que serão utilizados para caracterização dos compartimentos do meio físico e ambientais.

Neste contexto, serão avaliadas as seguintes questões:

- a) Se existem dados disponíveis para todas as matrizes ambientais que fazem parte dos modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico em estudo;
 - b) Se, dentro dos limites da Área de Estudo Ecológico em estudo, existem dados disponíveis para áreas consideradas impactadas pelo rompimento da barragem B I e também para áreas consideradas não impactadas pelo rompimento;
 - c) Se, dentro dos limites da Área de Estudo Ecológico em estudo, existem dados disponíveis que representam níveis de concentrações basais para a Área de Estudo Ecológico em estudo;
 - d) Se os dados disponíveis são adequados para a utilização em estudos de avaliação de risco ecológico;
 - e) Se os dados disponíveis são suficientes em termos de representatividade para cada matriz ambiental que faz parte dos modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico.
- A suficiência de dados será analisada conforme a avaliação de representatividade estatística e geoestatística.



APÊNDICE 02

Estatística e Geoestatística para Definição de Plano de Amostragem



2 Estatística e Geoestatística para Definição de Plano de Amostragem

A definição de um plano de amostragem para uma determinada matriz se faz necessária quando da insuficiência e/ou ausência de representatividade de dados. Os dados coletados no plano de amostragem sugerido serão denominados dados primários. Após a coleta destes dados uma reavaliação de suficiência e representatividade será conduzida.

A elaboração de um plano de amostragem consiste de uma avaliação sobre o quantitativo de pontos necessário a ser complementado, da disposição espacial necessária para estes pontos bem como do detalhamento dos métodos de coleta a serem utilizados.

Uma das utilizações da estatística aplicada à definição de planos de amostragem se dará pela utilização do cálculo para determinação do número de amostras necessário ($n_{\text{necessário}}$). Esse cálculo retornará o número de resultados necessários para atingir a performance estatística especificada e, em casos onde há dados secundários (com o número de resultados denotado por n_{atual}), o número de amostras complementares ($n_{\text{complementar}}$) será obtido da subtração entre $n_{\text{necessário}}$ e n_{atual} .

Esse cálculo poderá ser utilizado em matrizes com e sem continuidade espacial. Para as matrizes sem continuidade espacial ele será utilizado quando não houver suficiência de dados. Para as matrizes com continuidade espacial, o uso do cálculo dependerá dos resultados provenientes dos dados secundários (quando houver): se os dados secundários apresentarem estrutura de correlação espacial e ajustes de modelo adequados, o plano de amostragem será focado em garantir representatividade a partir da cobertura espacial dos resultados (relacionada à disposição dos dados) e, assim, o cálculo não será necessário. Em casos em que a situação anterior não for verificada, o cálculo poderá ser utilizado.

O item a seguir exemplifica o cálculo.

2.1 Cálculo para determinação do número de amostras requerido para plano de amostragem – dados coeficiente de variação e objetivos de performance estatística especificados

Como indicado no documento “*Guidance for Data Useability in Risk Assessment (Part A)*” produzido pela USEPA em 1991, o cálculo do número de pontos para elaboração de plano de amostragem depende da variabilidade esperada para a matriz analisada, bem como dos objetivos de performance estatísticos especificados. A fórmula indicada no Anexo IV deste documento é descrita da seguinte maneira:

$$n_{\text{necessário}} \geq [(Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})/D]^2 + 0.5 * Z_{1-\alpha}^2$$

Para cálculo do número mínimo de amostras necessárias tem-se:

$$n_{necessário} = [(Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})/D]^2 + 0.5 * Z_{1-\alpha}^2$$

Em que:

$n_{necessário}$ = número de pontos necessário

$Z_{1-\alpha}$, $Z_{1-\beta}$ = valores da distribuição normal padrão para os erros tipo I e tipo II, respectivamente. O erro tipo I ocorre ao afirmar, a partir de teste estatístico, que uma região não está “contaminada” (abaixo de um parâmetro de risco, Cs, por exemplo) quando de fato ela está. O valor adotado nas análises para esse erro (α) é 5%. O erro tipo II (β) ocorre ao se afirmar que uma região está “contaminada” (acima de um parâmetro de risco, Cs, por exemplo) quando de fato ela não está. Uma vez que esse tipo de erro para as análises considerando avaliação de risco é um erro a favor da segurança, ou seja, ao ocorrer é fornecida uma abordagem mais conservadora seu valor adotado na presente metodologia é 20%.

D= quociente entre a resolução de detecção (ou diferença relativa detectável mínima) especificada, simbolizada por Δ , e o coeficiente de variação esperado para a matriz (CV). Dessa forma, $D = \Delta / CV$

A resolução de detecção (Δ) é a diferença relativa entre o parâmetro de risco Cs do analito analisado pela média representativa de uma população não-exposta (μ_1) em relação à Cs, expressa em porcentagem. A resolução de detecção pode ser detalhada como $\Delta = (Cs - \mu_1) / Cs$. Pode-se entender a resolução de detecção como a diferença mínima entre Cs e μ_1 detectada pela análise estatística dos dados. Em um exemplo com resolução Δ de 15%, a análise de dados permitirá distinguir resultados abaixo de Cs, provenientes de uma população com concentrações menores ou iguais que 85% de Cs, de outra população de dados, com concentrações mais próximas ou superiores à Cs. Dessa forma, quanto menor Δ , mais elementos ($n_{necessário}$) serão necessários para distinguir resultados entre as duas populações de dados.

O documento USEPA (1991) também indica que a variabilidade dos resultados varia em função da matriz analisada e, nesse caso, se a variabilidade natural dos analitos químicos de interesse for alta ($CV > 30\%$), um esforço de planejamento deve ser realizado no sentido de aumentar o número de amostras.

A partir do coeficiente de variação e dos objetivos de performance estatística especificados para o plano de amostragem, o número mínimo de amostras resultante é calculado. O item a seguir especifica como dados secundários poderão ser utilizados na determinação de $n_{necessário}$.

2.2 Utilização de dados secundários para estimativa do número de amostras necessário ($n_{\text{necessário}}$)

Os resultados provenientes dos dados secundários poderão ser utilizados para uma melhor estimativa do número amostral necessário ($n_{\text{necessário}}$). Em um primeiro momento, estes dados já terão sido utilizados para definição do parâmetro de risco C_s , no contexto da avaliação de suficiência de dados secundários (maiores detalhes no item 1.3 do Apêndice 01). Além de inferir sobre C_s , em caso de dados secundários ou literatura disponível que forneçam estimativas para concentrações *background* (μ_1), uma melhor aferição do parâmetro Δ poderá ser obtida. Dessa forma, o número de amostras complementares se tornará mais assertivo e representativo da área de estudo avaliada.

Além das estimações de C_s e Δ , os dados secundários poderão ser utilizados diretamente no cálculo do coeficiente de variação do analito (CV). Para isso, um quantitativo mínimo de 10 observações é necessário, de forma a definir um número mínimo para estimação da média amostral, como indicado no tópico 1.4.1 do Apêndice 01. Uma vez que o CV depende da média, essa definição foi adotada por consequência direta. Além disso, o desvio padrão amostral em amostras pequenas pode gerar grandes distorções, levando a um cálculo de $n_{\text{necessário}}$ impraticável e pouco representativo. Mesmo com os dados secundários atendendo ao quantitativo mínimo, uma análise sobre seus resultados e distribuições será conduzida, uma vez que valores extremos podem afetar desvio padrão e média e, com isso, afetar o coeficiente de variação (e, conseqüente, o $n_{\text{necessário}}$). Nesses casos, se identificados, os valores extremos serão separados do conjunto de resultados, que terá seu coeficiente de variação novamente calculado com a exclusão de tais valores. Assim, o número de amostras necessárias será calculado com a maioria dos dados que apresentar distribuição e ordem de grandeza compatíveis, enquanto os pontos com valores extremos terão amostragens complementares indicadas próximas a seus locais para verificação e validação do comportamento distinto de seus resultados.

2.3 Especificações de performance estatística e valores adotados na ausência de dados secundários ou outras informações

Uma vez explicitado o cálculo do número mínimo de amostras necessárias e como os dados secundários serão (ou poderão ser) utilizados dentro dos cálculos, são definidas as especificações de performance estatística esperadas. Também são definidos os parâmetros adotados quando da ausência de dados secundários ou outras informações. Nesse contexto, serão adotados diferentes valores para os coeficientes de variação (CV) de cada matriz, a partir da expectativa de distintas dispersões dos dados (USEPA, 1991) bem como do ferramental envolvido para a suficiência em função da continuidade espacial.

A Tabela 2 apresenta os objetivos de performance estatística especificados, indicando o nome do parâmetro, o valor adotado e comentários. Já a Tabela 3 apresenta os diferentes coeficientes de variação adotados para as matrizes sem continuidade espacial e o resultado do cálculo do $n_{\text{necessário}}$ nos casos de ausência completa de dados secundários.

Tabela 2 – Objetivos de performance estatística adotados para plano de amostragem

Parâmetro	Valor Adotado	Comentários
α (erro tipo I)	5%	Erro mais crítico dos dois tipos. É a probabilidade de afirmar que uma região não está “contaminada” (concentração média abaixo de C_s), quando de fato ela está.
β (erro tipo II)	20%	Erro menos crítico dos dois tipos. É a probabilidade de afirmar que uma região está “contaminada” (concentração média acima de C_s), quando de fato ela não está.
Δ	30%	Com dados secundários pode ser obtido por $\Delta = (C_s - \mu_1) / C_s$. O Δ adotado na ausência dessas estimativas com dados secundários indica que a análise conseguirá distinguir resultados com concentrações da ordem de C_s (ou superiores) de resultados “não contaminados” com concentrações até 70% de C_s .
μ_1	Função do analito avaliado	Calculado quando houver dados secundários e/ou informações relativas à <i>background</i>
C_s	Função do analito avaliado	Calculado a partir das definições explicitadas no item 1.3 do Apêndice 01

Tabela 3 – Coeficientes de variação especificados quando da ausência de dados secundários para plano de amostragem

Matriz	CV especificado	$n_{\text{necessário}}$
Água Superficial	55%	23
Sedimento Superficial	65%	31
Matrizes Finitas	-	Dependente do número total disponível na população (N)



As matrizes com continuidade espacial (solo superficial e água subterrânea) poderão ser obtidas com utilização do cálculo de $n_{\text{necessário}}$. Contudo, na ausência completa de dados secundários, o número mínimo de amostras para cada matriz deve satisfazer o quantitativo mínimo para avaliação de suficiência e representatividade, indicado no tópico 1.4.1 do Apêndice 01. Nesse caso, o quantitativo adotado para a matriz solo superficial é 35 e para água subterrânea é 30. O número maior de observações de solo em relação à água subterrânea se deve a uma expectativa de maior dispersão espacial de resultados, bem como da necessidade de subdivisão das amostras de solo nas regiões de exposição. O número de pontos de coleta em cada região de exposição dependerá do tamanho da região, de sua geometria e considerará um maior adensamento em regiões direta e indiretamente afetadas.



APÊNDICE 03

Análise de Temporalidade



3 Análise de Temporalidade

3.1 Temporalidade de dados

As estratégias para desenvolvimento e análise de planos de amostragem são alteradas conforme a variabilidade da matriz analisada, conforme explicitado no Apêndice 02. As variações nas medições são diferentes ao longo do tempo quando se analisam solo superficial, água superficial e sedimentos. Como indicado em “*Guidance for Data Usability in Risk Assessment - Part A*” (1991), na página 64 - Tabela 41, para analisar a qualidade e propriedades físicas do solo, a variação relativa ao quesito temporal é de menor importância. Já em se tratando de água superficial, o documento indica a influência da temporalidade na variação dos dados como “usualmente grande”.

No escopo da presente metodologia, a matriz solo superficial será dada como válida do ponto de vista de temporalidade entre fontes de dados distintas. Para a matriz água subterrânea, que também apresenta continuidade espacial como solo, a temporalidade será avaliada quando houver dados secundários com medições temporais.

Para água superficial e sedimentos o quesito temporalidade será tratado em maior detalhe, de acordo com os procedimentos indicados na metodologia dos subitens seguintes. Ao longo das análises, as matrizes que possuem mais de uma medição ao longo do tempo para as mesmas localizações serão denominadas fontes de dados temporais. Usualmente, tais fontes provêm de programas de monitoramento contínuo. Em contrapartida, fontes de dados que possuem uma única medição no tempo por localização serão denominadas fontes estáticas de dados.

3.1.1 Definição de intervalo de avaliação temporal de dados

O Guia Nacional de Coletas e Preservação da Agência Nacional de Águas (ANA, 2011) indica que o período chuvoso impacta a coleta de amostra de água bruta e sedimento, pois “em rios, ocorre deposição de sedimentos finos no período da seca e lavagem desse material nas chuvas”. Uma vez impactando a coleta e, portanto, os resultados amostrais provenientes da análise química, a possibilidade de agrupar os dados (tendo todos os outros critérios de agrupamento válidos) deverá ser feita considerando a sazonalidade do regime pluviométrico local.

De acordo com o site da ANA, o regime pluviométrico da Bacia do rio Paraopeba é caracterizado por dois períodos bem distintos. O período chuvoso que se estende de outubro a março, com maiores índices no mês de dezembro, no qual a precipitação varia de 800 a 1.300

mm; e o período seco que se estende de abril a setembro, com estiagem mais crítica de junho a agosto, com precipitação variando entre 150 a 250 mm. Uma vez que o regime pluviométrico afeta a coleta de amostras de água e sedimentos e, portanto, os resultados da análise química, para cada matriz temporal serão analisadas as datas de coleta das distintas campanhas. Dados coletados entre os meses de outubro a março serão considerados dentro do período chuvoso. Já aqueles coletados entre os meses de abril a setembro serão considerados provenientes do período seco.

A presente metodologia se baseia no entendimento de que dados com variação temporal significativa (como é o caso de água superficial e sedimentos) devem ser analisados em datas de coleta comparáveis (similares) com fontes de dados estáticas. Dessa forma, para avaliação de suficiência de um conjunto de dados agrupado, faz-se necessária a definição de um intervalo temporal para avaliação dos resultados.

Quando houver somente dados secundários e mais de uma fonte de dados, a fonte estática com maior quantitativo amostral definirá o intervalo de avaliação. Quando houver dados primários, estes serão utilizados para definição do intervalo.

Uma vez definido o horizonte temporal de avaliação dos resultados, o procedimento chamado “transformação temporal de dados” será conduzido para os dados de fontes temporais. Esse procedimento buscará resumir os dados temporais de cada ponto de coleta em um único valor de concentração, representativo de cada localidade no intervalo temporal avaliado.

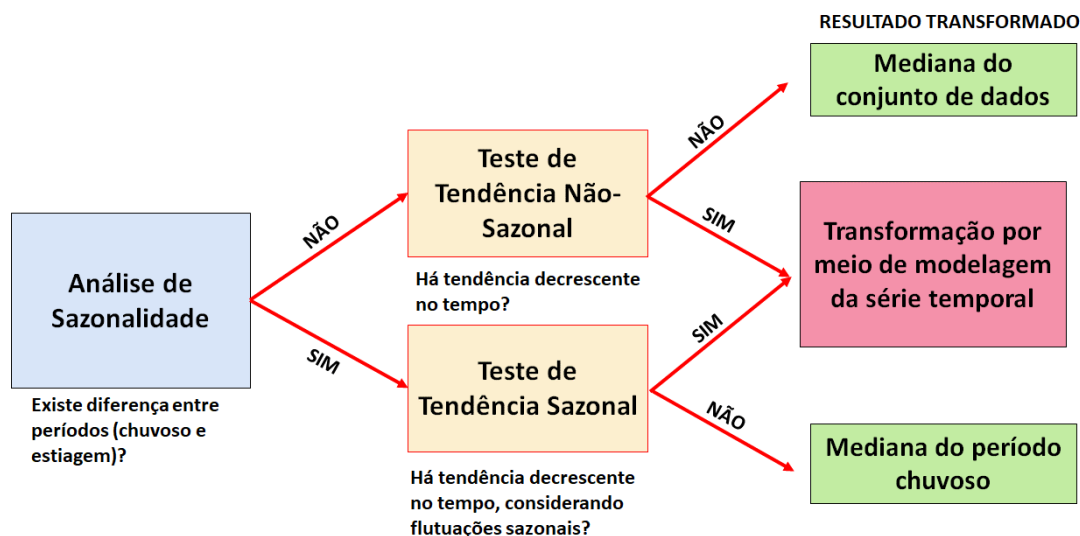
Embora os testes inferenciais utilizados não considerem a disposição espacial dos pontos de coleta em sua formulação, a espacialidade é um parâmetro essencial na caracterização do meio físico, especialmente em áreas de estudo de grande extensão e, portanto, deve ser considerada no âmbito da avaliação de suficiência. A consideração de todas as medições temporais nos testes como “elementos diferentes” (aumentando o número de elementos na amostra “n”) pode levar a interpretações/extrapolações distorcidas do comportamento da região avaliada como um todo. As medições temporais para cada ponto serão, portanto, transformadas em um único valor, denominados resultados “estáticos equivalentes”, cuja descrição metodológica é exposta a seguir.

3.1.2 Transformação de dados temporais em “estáticos equivalentes”

O procedimento de transformação de dados provenientes de fontes temporais em dados estáticos equivalentes (definido um intervalo temporal de avaliação) pode ser explicado a partir dos seguintes tópicos: análise exploratória da série histórica, análise de sazonalidade, análise de tendência, obtenção do resultado transformado (estático equivalente).

O fluxograma indicado na Figura 5 indica a sequência adotada, bem como as principais perguntas em cada etapa. Nota-se que a etapa de análise exploratória da série histórica não está presente na imagem, pois corresponde a uma etapa anterior que contribui no entendimento dos dados e comportamentos gerais. O detalhamento de cada etapa é descrito nos itens seguintes.

Figura 5 – Fluxograma de transformação temporal de dados



3.1.2.1 Análise exploratória da série histórica

A primeira etapa da análise de temporalidade consistirá na análise exploratória da série dos dados. Em um primeiro momento, uma análise sobre a porcentagem de quantificação de resultados será realizada para cada ponto (determinado a partir de sua localização no espaço), analito e fase (total ou dissolvido). Para as “trincas” de combinação envolvendo pontos, analitos e fases que apresentarem quantificação adequada para aplicação da metodologia (não-quantificação abaixo de 30%, como indicado no item 1.4.1 do Apêndice 01), uma análise gráfica será feita considerando as seguintes opções: série histórica das concentrações por analito e fase (sem distinção entre pontos de coleta), gráficos *boxplot* para cada ponto, analito e fase evidenciando as diferenças entre períodos.

As diferentes representações serão utilizadas de maneira a auxiliar o entendimento do comportamento das concentrações relativo a cada ponto bem como dos pontos inseridos no contexto da área de estudo investigada.

3.1.2.2 Análise de sazonalidade

Uma vez selecionados os dados com quantificação adequada e a partir da interpretação qualitativa dos comportamentos, fornecidos pela análise exploratória da série histórica, a sazonalidade dos dados será testada.



Nessa etapa, a principal pergunta a ser respondida, considerando cada “trinca” ponto, analito e fase, será: Existe diferença significativa estatisticamente entre as concentrações de cada período? A resposta a essa pergunta terá consequência direta na etapa seguinte (análise de tendência), como indicado na Figura 5, respeitando o comportamento sazonal de cada “trinca”.

A sazonalidade será então verificada por meio do teste não-paramétrico U de Mann-Whitney (1947) considerando os conjuntos de dados diferenciados por período. Esse teste analisa se dois grupos independentes de dados foram ou não extraídos da mesma população sob a hipótese nula de que ambos grupos possuem a mesma medida de tendência central e hipótese alternativa de que os grupos estão centrados em medidas diferentes. A significância adotada nas análises será de 5%.

Assim, quando a hipótese inicial é rejeitada ($p\text{-valor} < 0.05$) haverá indicação de diferença significativa estatisticamente entre as tendências centrais dos dois grupos de dados, confirmando o comportamento distinto dos períodos analisados. Quando a hipótese inicial não é rejeitada ($p\text{-valor} > 0.05$) não se poderá afirmar que os dados sejam provenientes de populações distintas e, portanto, não se poderá afirmar que os resultados entre períodos apresentem diferenças. Dessa forma, se assumirá que não há sazonalidade para a “trinca” avaliada. Há de se enfatizar que não rejeitar a hipótese inicial do teste não significa “aceitá-la”.

3.1.2.3 Análise de tendência

Após o resultado da análise de sazonalidade, testes de tendência serão conduzidos.

Nessa etapa, a principal pergunta a ser respondida, considerando cada “trinca” ponto, analito e fase, dependerá da presença de sazonalidade da seguinte maneira:

- Quando não há sazonalidade: Há tendência monotônica decrescente ao longo do tempo para a série de dados avaliada?
- Quando há sazonalidade: Há tendência monotônica decrescente ao longo do tempo, considerando flutuações sazonais, para a série de dados avaliada?

Em cada caso um teste de hipótese compatível com o resultado da sazonalidade será aplicado. Ressalta-se que as perguntas levantadas estão baseadas na premissa que, em caso de impactos nas concentrações decorrentes do evento, estas apresentarão magnitudes maiores quanto mais próxima estiver a data avaliada em relação à data de ocorrência do evento. Por esse motivo, as perguntas são baseadas em tendências decrescentes.

A tendência monotônica decrescente será então verificada a partir da aplicação do teste de Mann-Kendall (1994) de acordo com a sazonalidade da resposta. Como indicado no documento “Guidance for Data Quality Assessment - Practical Methods for Data Analysis”,



elaborado pela USEPA em 2002, o teste de Mann-Kendall pode ser utilizado para testar tendências monotônicas tanto considerando conjuntos de dados não-sazonais, quanto utilizado para dados sazonais, por meio de uma adaptação/extensão. Os dois casos são descritos no item 4.3 do referido documento (USEPA, 2002).

No primeiro caso (dados sem presença de sazonalidade), o teste é conduzido sob a hipótese nula de que não há tendência monotônica e hipótese alternativa de que há uma tendência decrescente. Quando a hipótese nula for rejeitada ($p\text{-valor} < 0.05$), será possível afirmar que há tendência decrescente no tempo. Quando a hipótese nula não for rejeitada, não será possível afirmar que há tendência decrescente no tempo e, assim, será considerado que não há tendência. Ressalta-se que não rejeitar a hipótese nula não significa “aceitá-la”.

Para o segundo caso (dados com presença de sazonalidade), o teste de Mann-Kendall é utilizado em sua extensão “sazonal”, denominada “Teste Sazonal de Mann-Kendall” (USEPA, 2002). A diferença nessa extensão em comparação com a versão original se dá pela estatística de teste “S” ser obtida para cada “período” (tradução adaptada de “*season*”, como indicado na referência). O “período” pode ser anual, semestral, por período hidrológico (seco/chuvoso), trimestral, mensal, entre outros. Adotou-se o “período” mensal para as análises temporais, uma vez que esta resolução contempla uma quantidade razoável de dados por período com uma descrição refinada. Dessa forma, um “S” é obtido a cada mês e, então, uma estatística global é calculada ponderando esses valores e chegando a uma conclusão sobre tendência monotônica decrescente considerando flutuações sazonais.

A conclusão do teste sazonal pode ser de rejeição da hipótese nula ($p\text{-valor} < 0.05$), indicando que há tendência monotônica decrescente considerando flutuações sazonais, ou não de não rejeição da hipótese nula ($p\text{-valor} > 0.05$), indicando não ser possível afirmar que haja tendência. Ressalta-se que não rejeitar a hipótese nula não significa “aceitá-la”.

3.1.2.4 Obtenção do resultado transformado (estático equivalente)

Como indicado na Figura 5, a obtenção do resultado transformado (estático equivalente) depende dos passos anteriores. Para resultados que não apresentarem tendência decrescente estatísticas descritivas são utilizadas para definição do estático equivalente.

Em casos em que não há tendência nem presença de sazonalidade, o resultado transformado do ponto é obtido pela mediana da série histórica. Visto que não há tendência, pode-se entender que a série possui uma magnitude dos resultados constante ao longo do tempo (ou inserida numa faixa que não apresenta acréscimos ou decréscimos). Visto também que não há sazonalidade, esta magnitude dos resultados não varia significativamente entre períodos hidrológicos e, portanto, uma medida de posição central se mostra adequada para obter a

concentração representativa do ponto de coleta avaliado. A mediana é a medida de tendência central escolhida por ser dependente dos resultados amostrais e sua adoção (e não a média amostral) se justifica por seu comportamento frente a valores extremos (frequentes em séries temporais de dados ambientais).

Em casos em que não há tendência e há presença de sazonalidade, o resultado transformado do ponto é obtido pela mediana do período hidrológico definido no intervalo temporal. Diferente do caso anterior, uma vez que há sazonalidade, a mediana obtida para transformação deve respeitar as diferenças de resultados entre períodos e, dessa forma, o período hidrológico do intervalo de transformação temporal é utilizado como referência para a obtenção do resultado estático. A Figura 5 indica, de maneira esquemática, a mediana do período chuvoso. Este período costuma ser o que apresenta as maiores concentrações e, portanto, mais crítico sob a ótica de estudos de risco.

Por último, em casos em que há tendência decrescente, independente da presença de sazonalidade, a obtenção do resultado equivalente estático dar-se-á pela modelagem da série temporal. Essa modelagem é explicada no item seguinte.

3.1.2.4.1 Modelagem da série temporal

Visto que há tendência monotônica decrescente, estatísticas descritivas simples podem não representar fielmente a concentração do ponto no intervalo temporal avaliado. Isto acontece pelo fato de que a presença de tendência sugere que quanto mais distante da data de ocorrência do evento, menores serão as concentrações. Dessa forma, uma estatística descritiva que não considere o tempo, poderá distorcer os resultados por não levar em consideração esse comportamento.

Assim, uma modelagem da série temporal será conduzida por meio da obtenção da média móvel da série histórica dos dados, de forma a fornecer uma resposta média “local”, dependente do tempo avaliado. A média móvel fornece uma suavização dos extremos ou aleatoriedades locais observadas na série, identificando padrão básico de comportamento com adequada precisão e eficiência computacional (Morettin, 2006), o que justifica seu uso na modelagem.

A ordem da média móvel será adotada como 30 em casos de intervalos de transformação temporal maiores que um mês. Se o intervalo de transformação for menor que um mês, a ordem será a mesma do tamanho do intervalo. Quanto à centralidade, será adotada a média móvel centrada dos dados, isto é, que considera metade dos resultados prévios e posteriores à uma determinada data.

A ordem de grandeza de 30 foi escolhida devido à suavização obtida para o comportamento da série histórica, isto é, ela reflete uma tendência média de resultados menos impactada por flutuações locais e, ao mesmo tempo, apresenta sensibilidade para detecção do comportamento ao redor da data avaliada. Médias móveis com ordens mais elevadas podem ser menos sensíveis a esse tipo de detecção de comportamento. Os resultados de média móvel serão expostos em 4 etapas: os dados originais (equivalente à média móvel de ordem 1), a curva de média móvel de ordem 7, a curva de média móvel de ordem 15 e, por fim, a curva adotada, explicitando o comportamento de suavização e sensibilidade do comportamento médio.

Uma vez obtida a curva da média móvel centrada de ordem 30 dos dados, seu resultado avaliado no dia intermediário do intervalo de transformação temporal será definido como o resultado estático equivalente. A escolha do dia intermediário dentro do intervalo de transformação temporal se deu pela seleção da data mais central do intervalo, buscando representar um comportamento médio.

Em casos de dados com frequências de coleta com resultados faltantes, isto é, ausência de dias coletados, um tratamento de dados será conduzido previamente à obtenção da média móvel. O tratamento consistirá da complementação dos resultados dos dias faltantes a partir da interpolação linear das concentrações entre dias com resultados. Assim, os vazios serão preenchidos considerando os dados coletados e possibilitando uma melhor modelagem da série. A interpolação linear foi adotada por se mostrar um método clássico, de fácil implementação e suficiente para atender à modelagem prevista.

3.1.2.4.2 Apresentação dos resultados da análise temporal

Ao final do procedimento de transformação temporal serão compiladas tabelas-sumário que apresentarão os resultados de cada “trinca” analito, ponto e fase, com indicação dos resultados dos testes de sazonalidade, tendência, o resultado transformado, intervalo de coleta dos resultados amostrais e algumas estatísticas descritivas (como média, mediana, percentis, desvio padrão, entre outros).

Os resultados transformados serão então utilizados para comparabilidade com outras fontes de dados e, caso sejam agrupáveis, estes representarão as concentrações de cada ponto de coleta para o intervalo de transformação temporal avaliado.



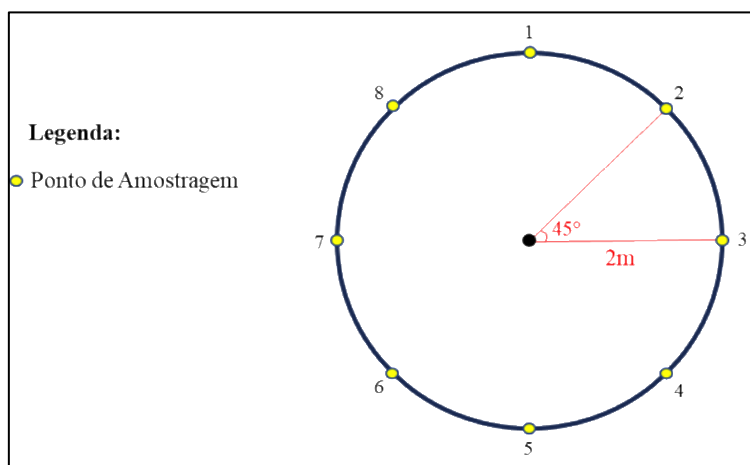
APÊNDICE 04

Metodologias de Amostragem de Compartimentos do Meio Físico

SOLO SUPERFICIAL

A sondagem deverá ser executada a partir da cravação total de tubo de PVC (1,5") descartável de 8 a 10 cm de comprimento no solo superficial em sentido vertical. A parte superior do tubo enterrado, faceando a superfície do superficial, é, então, fechada com caps plástico de PVC (1,5").

As amostras de solo superficial deverão ser compostas por oito amostras coletadas conforme descrito acima e quarteadas, a partir do círculo previamente definido em um ponto de amostragem, e não deverá ser obtida em uma profundidade maior que 10 centímetros da superfície do terreno, conforme figura abaixo. Para cada amostra de solo superficial composta, deverá ser coletada uma amostra de solo do mesmo material para realização de ensaios granulométricos.



O material perfurado deverá ser descrito em toda a extensão perfurada, de acordo com o Anexo A (normativo) – Litografia do Perfil de Sondagem da ABNT NBR 15.492:2007 - Sondagem de reconhecimento para fins de qualidade ambiental - procedimento.

Após a retirada da amostra coletada em recipiente plástico descartável (liner), deve ser usada uma ferramenta de corte para a confecção de uma abertura longitudinal no mesmo que permita identificar visualmente qual(is) a(s) porção(ões) do liner é mais apropriada(s) para a coleta de amostras de solo para envio para análises químicas de interesse (NBR 16434:2015).

SOLO SUBSUPERFICIAL

A sondagem deverá ser executada de acordo com ABNT NBR 15.492:2015 - Sondagem de reconhecimento para fins de qualidade ambiental – procedimento.

O material perfurado deverá ser descrito em toda a extensão perfurada, de acordo com o Anexo A (normativo) – Litografia do Perfil de Sondagem da ABNT NBR 15.492:2007 - Sondagem de reconhecimento para fins de qualidade ambiental - procedimento.

A sondagem deverá ser locada no centro do círculo definido para aquisição da amostra de solo superficial (mas não serão obtidas amostras de solo superficial na sondagem a ser realizada para solo subsuperficial). A amostragem deverá ocorrer a partir da superfície do terreno, sendo que a primeira amostra será sempre coletada a 20 centímetros da superfície do terreno. /as demais amostras ao longo do perfil serão coletadas de forma estratificada sendo que sempre que ocorrer uma variação textural que seja identificada visualmente e significar uma mudança de extrato do solo ou da lama de rejeitos (quando ocorrer), será coletada uma amostra para análise química laboratorial e uma amostra para ensaios de granulometria. No caso da ocorrência de lama de rejeitos no ponto de sondagem, esta deverá seguir até profundidade maior que a base da ocorrência da lama, sendo necessária a amostragem em todo o perfil de sondagem.

Após a retirada da amostra coletada em recipiente plástico descartável (liner), deve ser usada uma ferramenta de corte para a confecção de uma abertura longitudinal no mesmo que permita identificar visualmente qual(is) a(s) porção(ões) do liner é mais apropriada(s) para a coleta de amostras de solo para envio para análises químicas de interesse (NBR 16434:2015).

SEDIMENTO SUPERFICIAL

Preferencialmente, a coleta de sedimentos deverá ser realizada nas margens dos rios conforme descrito no Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras da Agência Nacional de Águas (2011). Caso dados sobre descarga sólida estiverem disponíveis para a Bacia do rio Paraopeba, estes também serão considerados para interpretação da dinâmica de hidrosedimentação de sedimentos.

Nos pontos selecionados com base no critério descrito acima, tubos de PVC (1,5”) descartáveis de 5 cm de comprimento serão totalmente enterrados no sedimento superficial em sentido vertical. A parte superior do tubo enterrado, faceando a superfície do sedimento, é, então, fechada com caps plástico de pvc (1,5”).

As amostras de solo superficial deverão ser compostas por oito amostras coletadas conforme descrito acima e quarteadas, a partir do círculo previamente definido em um ponto de amostragem, e não deverá ser obtida em uma profundidade maior que 10 centímetros da superfície do terreno.

SEDIMENTO SUBSUPERFICIAL

Preferencialmente a coleta de sedimentos deverá ser realizada nas margens dos rios conforme descrito no Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras da Agência Nacional de Águas (2011).

A sondagem deverá ser locada no centro do círculo definido para aquisição da amostra de sedimento superficial. A amostragem deverá ocorrer a partir da superfície do terreno sendo que sempre que ocorrer uma variação textural que seja identificada visualmente e signifique uma mudança de extrato do sedimento ou da lama de rejeitos (quando ocorrer), será coletada uma amostra para análise química laboratorial e ensaios granulométricos. No caso da ocorrência de lama de rejeitos no ponto de sondagem, esta deverá seguir até profundidade maior que a base da ocorrência da lama, sendo necessária a amostragem em todo o perfil de sondagem.

Após a retirada da amostra coletada em recipiente plástico descartável (liner), deve ser usada uma ferramenta de corte para a confecção de uma abertura longitudinal no mesmo que permita identificar visualmente qual(is) a(s) porção(ões) do liner é mais apropriada(s) para a coleta de amostras de solo para envio para análises químicas de interesse (NBR 16434:2015).

O material perfurado deverá ser descrito em toda a extensão perfurada, de acordo com o Anexo A (normativo) – Litografia do Perfil de Sondagem da ABNT NBR 15.492:2007 - Sondagem de reconhecimento para fins de qualidade ambiental - procedimento.

ÁGUA SUBTERRÂNEA

Amostragem de água subterrânea deverá ser realizada por baixa vazão, seguindo diretrizes da norma ABNT NBR 15847:2010 - Amostragem de água subterrânea em poços de monitoramento - Métodos de purga, de 21 de julho de 2010, e para complementação do procedimento poderá ser usada a Norma ASTM D 6634-01.

ÁGUA SUPERFICIAL

A amostragem de água superficial em rios deverá seguir os procedimentos apresentados no Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras da Agência Nacional de Águas (ANA, 2011), bem como as normas ABNT NBR 9.897:1987 – Planejamento de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores, e ABNT NBR 9.898:1987 – Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. No caso de amostras que não podem sofrer aeração, a garrafa de Van Dorn de fluxo horizontal deverá ser empregada.

POÇOS DE MONITORAMENTO DE ÁGUA SUBTERRÂNEA

Quando necessária à instalação de poços de monitoramento de água subterrânea, consistente com os modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico em estudo, a sondagem deverá ser executada de acordo com ABNT NBR 15.492:2015 - Sondagem de reconhecimento para fins de qualidade ambiental – procedimento.

O material perfurado deverá ser descrito em toda a extensão perfurada, de acordo com o Anexo A (normativo) – Litografia do Perfil de Sondagem da ABNT NBR 15.492:2015 - Sondagem de reconhecimento para fins de qualidade ambiental - procedimento.

Após a retirada da amostra coletada em recipiente plástico descartável (liner), deverá ser usada uma ferramenta de corte para a confecção de uma abertura longitudinal no mesmo que permita identificar visualmente qual(is) a(s) porção(ões) do liner é mais apropriada(s) para a coleta de amostras de solo para envio para análises químicas de interesse (NBR 16434:2015).

Os poços de monitoramento deverão ser instalados conforme ABNT/NBR 15.495-1: 2007 – “Poços de Monitoramento de Água Subterrânea em Aquíferos Granulares. Parte 2: Desenvolvimento”.



APÊNDICE 05

Metodologias de Amostragem de Compartimentos do Biótico



1 COLETA DE ESPÉCIES PARA RISCO ECOLÓGICO

Nesta seção serão apresentados os métodos detalhados de amostragem em campo para anfíbios, répteis, mamíferos, aves e plantas. Para todos os grupos inventariados, os dados coletados serão analisados buscando-se a identificação até a maior resolução taxonômica possível. É importante ressaltar que os indivíduos capturados devem ser preferivelmente, analisados em campo e soltos no local de captura para evitar qualquer impacto na área afetada.

Caso seja necessária à coleta de espécimes-testemunho e amostras de tecido, recomenda-se a criteriosa seleção das espécies a serem coletadas. Ressaltado pela USEPA (2018), é desnecessário e impraticável avaliar o risco ecológico para todas as espécies presentes na área de estudo. Portanto, serão selecionadas unicamente as espécies representativas de cada grupo taxonômico e que possuam dados de ecotoxicidade na literatura, de forma que possibilitem uma avaliação de risco quantitativa. É importante ressaltar que a fim de diminuir o impacto e estresse provocado pela abertura de novas trilhas e coletas, serão utilizados os resultados dos dados coletados no âmbito do Programa de diagnóstico de danos ambientais sobre meio biótico que está sendo desenvolvido pela Amplo.

1.1 ICTIOFAUNA E PESCADO

Os pontos de amostragem de peixes deverão ser alocados, sempre que possível, nos rios e tributários. Nos pontos de coleta, deverá ser monitorada na superfície da coluna d'água as variáveis limnológicas como pH, temperatura, potencial oxi-redução (ORP) e oxigênio dissolvido (OD), utilizando-se sondas multiparamétricas digitais. Também deverá ser medida a profundidade na área da coleta com um equipamento do tipo PIU com fita graduada.

Para possibilitar uma diversificação representativa de espécies, pretende-se capturar os pescados de diferentes níveis de água (superficial, intermediário/meio e fundo), adequando os artefatos de pesca a condições relacionadas a variações hidrodinâmicas e geomorfológicas dos cursos hídricos em cada local de amostragem (ex: profundidade, largura do corpo hídrico, vazão, presença ou ausência de microhabitats) (POSSAMAI *et al.*, 2014; ECONSERVATION, 2019). Para isso será necessário adotar duas técnicas de captura que estão descritas abaixo:

1.1.1 Passiva

A amostragem passiva é realizada utilizando-se apetrechos que não necessitam de uma intervenção direta do coletor (uso de apetrechos que não são movidos/operados pelo homem),

causando uma menor perturbação ao ambiente (UIEDA & CASTRO, 1999; RIBEIRO & ZUANON, 2006). Dentre os métodos passivos existentes, há a Rede de Espera, Espinhel ou Linhada, Caniço ou Vara de pesca (mecanismo de pesca constituído de uma vara de bambu e uma linha de náilon resistente, utiliza-se com ou sem bóia e um anzol na extremidade com isca viva ou artificial), Curral (redes de estacas ou cerco), Cesto ou Canastra e o Covo (armadilha de forma cilíndrica que permite a entrada do peixe, mas não a saída) (HUBERT, 1996; ANA, 2011).

1.1.2 Ativa

O método ativo consiste na captura utilizando-se apetrechos que, de alguma forma, acabam perturbando o ambiente, seja pela movimentação dos coletores ou pela alteração de microhábitats (uso de apetrechos que peneiram os peixes através de uma malha, ou dependam da operação ativa do homem) (UIEDA & CASTRO, 1999; RIBEIRO & ZUANON, 2006). Em geral, um único apetrecho não é capaz de capturar todos os “tipos” de indivíduos de um determinado local, nem de amostrar todos os micro-habitats de uma região (UIEDA & CASTRO, 1999; UIEDA & UIEDA, 2001). Para aumentar a seletividade e ter uma boa representatividade dos organismos que habitam determinada região, foram escolhidos alguns tipos de apetrechos:

1.1.2.1 Rede de arrasto/picaré

É uma rede de arrasto manual, de malha pequena, com cerca de um metro de altura e uns poucos metros de comprimento, provida de chumbos na parte inferior e bóias na parte superior. Será utilizada principalmente nas margens que estão mais abertas ou com pouca vegetação. Seu manejo será feito por duas pessoas, uma em cada ponta, entrando na água e arrastando a rede até a margem do rio/lagoa. Este apetrecho é extremamente eficiente na coleta de pequenos peixes em ambientes restritos com pouca ou nenhuma correnteza.

1.1.2.2 Rede de espera/emalhadeira

São redes de pano simples (uma só malha), de tamanhos e malhas variáveis, usualmente com bóias na parte superior e chumbos na parte inferior, de modo a permanecer na posição vertical dentro da água. A rede de espera sem o emprego de isca é muito utilizada para a amostragem de peixes, pode ser empregada em diversos ambientes (REIS & MALARBA, 1987). É um dos equipamentos mais utilizados para amostragem em ictiologia, pois é altamente seletiva. São confeccionadas com fios de náilon e dotadas de linha de bóia e chumbada balanceadas com o

objetivo de mantê-la estendida uniformemente quando colocada na água. Os fatores mais importantes que influenciam a seletividade desse tipo de apetrecho são: tamanho da malha, elasticidade do fio, visibilidade da malha, tempo de permanência e mobilidade das espécies-alvo. O regime de amostragem, isto é, época, horário, localização e permanência, também podem influenciar a captura. Um esquema padronizado de amostragem pode ser empregado anualmente ou entre diferentes corpos d'água, com a finalidade de minimizar a variabilidade que pode ser gerada pelas variáveis físicas e químicas do meio. A malhadeira constitui equipamento bastante simples e versátil, podendo ser utilizada em diferentes ambientes com poucas restrições. São comumente empregadas em ambientes lênticos (lagos e reservatórios) e locais livres de obstáculos (troncos de árvores e rochas). Entretanto, em alguns casos são utilizadas também em rios cuja velocidade de corrente não seja muito grande. Esta rede pode ser armada na superfície, meio e fundo. Consiste basicamente de uma malha retangular, de comprimento e altura variáveis, presa a um cordel superior no qual estão dispostas as bóias a intervalos regulares (tralha de bóias). Este tipo de rede será utilizada para captura de peixes nos locais com pouca ou nenhuma correnteza e no período entre o final da tarde ou noite, período no qual, segundo alguns trabalhos, a captura é mais efetiva.

1.1.2.3 Rede de mão/peneira/puça

Empregado em ambientes lênticos para captura de indivíduos de pequeno porte. Estes apetrechos são muito eficientes quando é necessário desalojar os organismos aquáticos que estão no meio da vegetação ou entre as pedras. Para este trabalho serão utilizadas peneiras com formato circular, emoldurada em um aro de alumínio com 50 centímetros de diâmetro e malhas de 1 centímetro entre nós opostos. Para o emprego desta arte de pesca é necessário mergulhá-la sob a vegetação e em seguida erguê-la rapidamente, recolhendo os organismos (pequenos peixes/crustáceos/camarões) que ficaram retidos nas malhas.

1.1.2.4 Tarrafa

Apetrecho confeccionado com linha de náilon. Tem formato cônico e em sua borda (boca), possui pequenos pesos de chumbo para que a mesma afunde rapidamente ao ser lançada na água. O peso total do chumbo chega em média a 6 kg e aberta, a tarrafa tem em média 4 m de diâmetro. É usada em todas as épocas do ano e ocupa basicamente uma pessoa na operação de pesca. A tarrafa é muito eficiente para coleta de peixes de fundo e de meia água (camada intermediária da coluna da água), de tamanho médio a grande. As redes do tipo tarrafas serão lançadas no mesmo ponto 3 vezes para completar a amostragem daquele local. Indivíduos da

mesma espécie que forem capturados durante esses 3 arremessos, serão devolvidos a coluna d'água. Neste trabalho será usada uma tarrafa com malha de 2 cm entre nós opostos.

1.1.2.5 Vara e Anzol

Talvez seja a arte de pesca mais simples e mais utilizada. É muito efetiva na captura de determinadas espécies siluriformes de fundo que dificilmente são apanhados de outra forma. Pode ser empregada em praticamente todos os ambientes aquáticos, mas é de especial valor em locais profundos ou correntosos, onde não se podem utilizar outros apetrechos (REIS & MALARBA, 1987). Este apetrecho consiste basicamente de uma vara, linha de nylon com uma chumbada e um ou mais anzóis, onde se coloca uma isca. Este apetrecho é um método de pesca bastante seletivo, sendo que as espécies capturadas dependem da isca e do tamanho do anzol utilizado. Neste trabalho serão utilizadas diferentes iscas (ração, isca viva e sintética) e diferentes tamanhos de anzóis.

1.1.3 Coleta dos organismos

Os apetrechos de pesca passiva serão posicionados nos pontos amostrais, ao final do dia. E os de pesca ativa serão utilizados durante o dia.

Cada organismo capturado será pesado (kg), medido (mm), colocado em bandejas plásticas brancas, fotografado e identificado, sempre que possível ao nível de espécie. Caso a identificação de alguns indivíduos em nível de espécie não seja possível em campo, ela será realizada posteriormente através de bibliografias especializadas, juntamente com a assessoria de um especialista. A situação taxonômica atual das espécies identificadas será verificada através do *site* do projeto FISHBASE (www.fishbase.org), mantido pela FAO.

Indivíduos serão coletados para somar a amostra um valor aproximado de 100 g de fígado e 100 g de filé. Este valor de massa é o solicitado pelo laboratório responsável pelas análises. Toda a coleta deverá ser registrada em planilhas de campo que compreenderão as seguintes informações: quadrante, coordenadas do GPS, data e hora da coleta, peso, comprimento do pescado, espécie identificada, parâmetros que serão analisados, método e instrumento de amostragem e o número da amostra. As amostras coletadas serão caracterizadas (através da espécie e das dimensões do indivíduo), identificadas e mantidas refrigeradas até o envio para o laboratório.

Seguindo as instruções do laboratório responsável pelas análises, as amostras deverão ser acondicionadas em frascos/embalagens estéreis, depois ser posicionados dentro de sacos

plásticos do tipo zip, fechados hermeticamente. Os espécimes capturados deverão ser acondicionados em gelo seco e os mesmos devem ser armazenados em caixas de isopor em até 24 horas (CETESB, 2020). Colocando uma camada de gelo seco sobre o fundo da caixa de isopor para formar uma espécie de “cama” para os indivíduos pescados, após isso, os pescados serão colocados sobre o gelo seco da caixa e depois cobertos com mais gelo seco. A caixa deve ser totalmente completada com o gelo, não deixando nenhum espaço livre, depois a caixa deverá ser tampada e em volta da tampa, transpassada algumas fitas para fechar, mas não lacrar a tampa 100%, pois o gelo seco pode expandir e quebrar a caixa durante o transporte até o laboratório.

As amostras deverão ser rotuladas incluindo número de identificação da amostra com codificação do Grupo EPA, identificação do local da coleta, data da coleta, tipo de amostra, nome científico e/ou popular do organismo coletado e o nome do responsável pela coleta. Os rótulos serão resistentes, de preferência etiquetas de plástico ou à prova de água, devendo ser preenchidos a lápis (ou caneta à prova d’água).

A dissecação dos exemplares de ictiofauna e carcinofauna deverá ser realizada com instrumentos não metálicos como lâminas de cerâmica e/ou inox, taboa e bandejas em área reservada. É de interesse a análise da musculatura e fígado dos animais capturados. Para isso, primeiramente deverá ser coletado um “bloco” de músculo da região dorsal, imediatamente após a nadadeira dorsal, sem que haja a remoção da pele ou de escamas. O “bloco” precisa ter o peso aproximado de 100 g. Em seguida será coletado o fígado inteiro do animal, sendo extraído pela barriga, com corte longitudinal. Assim como o filé, a amostra de fígado precisa ter um peso aproximado de 100 g.

1.2 AMOSTRAGEM EM PLANTAS

A amostragem da vegetação visa incluir folhas jovens e maduras, propágulos, plântulas, árvores, arbustos e lianas. Para todo o material amostrado deve ser feita uma descrição detalhada, que permita a identificação científica de cada espécie. Esta caracterização deve incluir: registro fotográfico, coordenadas de GPS, data, hora da coleta, nome do coletor, número da amostra, tipo de vegetação, além de uma descrição minuciosa das características morfológicas da planta como hábito (árvore, liana ou arbusto), tamanho, disposição e arranjo das folhas e flores, cores, odores, presença de exsudados, associação entre diferentes estruturas, entre outras.

1.2.1 Árvores, arbustos e lianas

Todo indivíduo arbustivo, arbóreo e lianescente com DAP > 10 cm será amostrado e etiquetado com etiqueta plástica e com numeração sequencial, sendo anotados: coordenada X e Y, diâmetro (DAP=1,30m de altura), altura onde foi feita a medida do diâmetro e condição da árvore, arbusto ou liana. Cada planta amostrada será marcada com fita ou spray. Os espécimes deverão ser coletados com podão de vara (gancho de poda) e ou com tesoura de poda.

1.2.2 Folhas, propágulos e plântulas.

Para amostragem de folhas, propágulos e plântulas será usado um quadrante de 1 m x 1 m, com divisões de 10 cm. Serão amostradas aproximadamente 50 folhas verdes (jovens), exposta ao sol, para medidas de comprimento e largura, contagem de números de galhas e registro de anomalias foliares e cerca de 30 folhas marcescentes (maduras). As folhas maduras serão desenhadas em papel milimetrado e contabilizadas as superfícies pastejadas e remanescente. As análises dos dados irão compor densidade dos propágulos vivos e mortos por área, e percentagem de herbívora, anomalias foliares, taxa de predação foliar, ocorrência de galhas, e plântulas e propágulos vivos e mortos. Será determinada a porcentagem de área foliar predada, presença de insetos galhadores e minadores ou deformidades morfológicas aparentes.

1.2.3 Preparação, preservação e envio das amostras.

Durante a coleta, as amostras serão colocadas em um saco plástico de 5 kg, com sílica gel, sendo 250 g ou equivalente de folhas verdes e maduras expostas ao sol; propágulos e plântulas. Ao final da coleta, as amostras serão acondicionadas em saco de papel para as análises orgânicas e 250 g para metais totais (Alumínio, Antimônio, Arsênio, Bário, Boro, Cádmi, Chumbo, Cobalto, Cobre, Cromo, Ferro, Manganês, Mercúrio, Molibdênio, Níquel, Prata, Selênio, Vanádio e Zinco) e especiação de Fe, MnCl₂, Mn(II)Cit, Mn(III)Cit, Mn(III)PPi, Mn(II), Mn(III), Cd livre (CdL), Cd(II), Pb(II), bem como análise de substâncias húmicas aquáticas (ácido húmico (AH) e ácido fúlvico (AF)).

Cada amostra deve ser devidamente identificada com etiquetas impermeáveis contendo o número da amostra, data e hora da coleta, e identificação taxonômica. No caso de amostras de plantas perenes/árvores, deve-se usar caixas de papelão, tomando-se o cuidado de identificá-las corretamente com uma numeração interna do Grupo EPA, data e hora da amostragem.

As amostras serão entregues ao laboratório Bioagri Ambiental Ltda, acreditado pelo INMETRO pela norma da ABNT NBR ISO/IBC 17025:2005, acompanhadas de cadeia de custódia que informa o que deve ser analisado em cada uma das amostras enumeradas. Amostras que não serão enviadas imediatamente ao laboratório poderão ser armazenadas em geladeira por até cinco dias.

1.3 AMOSTRAGEM DA MASTOFAUNA NÃO VOADORA

No grupo da mastofauna serão amostrados os mamíferos não-voadores de pequeno, médio e grande porte. Todas as espécies registradas devem ser caracterizadas quanto ao interesse conservacionista (espécies ameaçadas, endêmicas, de distribuição restrita etc.). A partir dos dados coletados, devem ser elaboradas curvas de acúmulo de espécies e utilizados estimadores de riqueza (Bootstrap, Jackknife 1 e 2, Chao 1 e 2). A taxonomia a ser utilizada para a classificação das espécies deve seguir Paglia et al. (2012).

1.3.1 Pequenos Mamíferos

Quando necessária e consistente com os modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico em estudo, para a amostragem das espécies de pequenos mamíferos será adotado o modelo de captura-marcação-recaptura (CMR) (MOURA, 1999, 2003; PARDINI et al., 2005), por meio do uso de armadilhas de captura viva (live traps). Devem ser usadas as armadilhas nos modelos gaiola de arame galvanizado (tipo gancho) e sherman, de dimensões 32x15x15cm (comprimento, largura e altura) e 25x8x9cm (comprimento, largura e altura), respectivamente. A área em estudo, será dividida em parcelas de 250m, sendo que em cada uma das parcelas, serão instalados 25 postos de captura, distantes entre si 10 m e próximos ao corredor central. Em cada posto de captura será instalada uma armadilha, alternando-se entre solo e sub-bosque. Também devem ser instaladas armadilhas no dossel a cada 50 metros. No caso de o ambiente amostrado não oferecer as condições adequadas para a instalação da armadilha em média altura, ela deve ser instalada no estrato terrestre. A alternância das armadilhas em estratos diferentes visa à captura das espécies terrestres, arborícolas e escansoriais (FONSECA & KIERULFF, 1988; MOURA, 1999; GRELE, 2010; ÁSTUA et al., 2006). Os indivíduos capturados, seja nas armadilhas live trap ou pitfall trap, devem ser sexados, marcados com brincos numerados e

tomadas as seguintes medidas: massa corporal (em gramas), comprimento cabeça-corpo, cauda, pata posterior com e sem garra e orelha (em milímetros). A condição reprodutiva deve ser identificada entre as categorias grávida, lactante ou inativa para as fêmeas e testículos escrotados ou não para os machos. A classe etária deve ser definida entre infante, juvenil ou adulto. Estes dados devem ser anotados para cada espécime capturado em planilhas padronizadas. Após este procedimento, os animais serão soltos no mesmo local de captura. Os dados dos pequenos mamíferos serão analisados qualitativa e quantitativamente por segmento amostrado (1 a 4), através de abundância e índices ecológicos, além de cálculos de esforço amostral e sucesso de captura. As amostragens com armadilhas devem ter duração de cinco noites consecutivas por campanha, totalizando esforço de 150 armadilhas-noite por parcela. As armadilhas serão iscadas com pedaços de abacaxi ou banana e óleo de fígado de bacalhau, fornecendo fontes de alimento proteicos e vegetais para atraírem espécies de diferentes hábitos alimentares. As armadilhas devem ser vistoriadas em todas as manhãs e as iscas repostas após cada captura ou sempre que necessário.

1.3.2 Amostragem de Mamíferos de médio e grande porte

Quando necessária e consistente com os modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico em estudo, para a amostragem de mamíferos de médio e grande porte deve ser usado o método de transecção linear, seguindo a técnica de amostragem de distâncias (Distance Sampling; Buckland et al., 2001). Os caminhamentos devem ser feitos por todo o comprimento dos transectos (1 a 5 km, portanto) dos sítios de amostragem durante a manhã (antes do nascer do sol) e à tarde (até o período crepuscular), com intervalo mínimo de 3 horas entre as caminhadas, de maneira silenciosa e com velocidade de cerca de 1 km/h (PIMENTA e LIMA, 2019). Quando do avistamento de um animal, devem ser anotados a data, o sítio, o módulo, a trilha e o ponto na trilha, a espécie e a distância perpendicular (P), com o auxílio de uma trena de 50 m, para as espécies terrestres. Para as espécies arborícolas deve ser medido o ângulo de avistamento (θ) com auxílio de um clinômetro, a distância do avistamento e a altura da árvore, permitindo cálculo posterior da distância perpendicular (P) do animal arborícola até o transecto (Buckland et al., 2001). No caso de espécies sociais, deve ser anotado o número de indivíduos no bando. O segundo método para a amostragem deste grupo será a busca por evidências diretas e indiretas, considerada por Cheida & Rodrigues (2010) como uma metodologia não invasiva e capaz de fornecer dados confiáveis sobre composição da mastofauna local. Os vestígios de mamíferos silvestres, como fezes, tocas e pegadas, são comumente encontrados em campo e podem fornecer uma identificação segura da espécie que os produziu. Os registros de evidências diretas e indiretas devem ter anotados a data, módulo, trilha, posição na trilha, tipo de registro (pegada, visualização) e características do ambiente (seguindo o padrão de planilhas de dados

mencionado anteriormente). Sempre que possível, as evidências devem ser fotografadas. Para identificação de pegadas, serão utilizados guias de campo, como Becker & Dalponte (1999), Borges & Tomas (2004) e Oliveira & Cassaro (2005). Para verificar a estrutura e a composição dos mamíferos de médio e grande porte devem ser utilizadas também armadilhas fotográficas. Deve ser instalada uma armadilha fotográfica em cada parcela dos sítios de amostragem; portanto, o número de armadilhas em cada módulo irá depender do tamanho do módulo em cada sítio de amostragem. O Parecer Técnico define que as armadilhas devem permanecer em funcionamento por 30 dias consecutivos a cada campanha, em cada uma das parcelas amostrais, sendo retiradas no 31º dia. Para tanto, devem ser checadas de 15 em 15 dias para manutenção, limpeza, troca de pilhas e troca de cartão de memória. O Parecer também define que armadilhas eventualmente furtadas sejam imediatamente substituídas, avaliando-se novo local para instalação. As armadilhas devem ser instaladas a aproximadamente 50 cm do solo, fixadas a árvores ou troncos. Cada armadilha deve ser programada para disparos automáticos, com intervalos de cinco minutos entre as fotos, e funcionamento de 24 horas. O esforço de amostragem das armadilhas será equivalente ao total de dias de funcionamento, calculado com os minutos e as horas registradas da primeira à última fotografia (câmera-dias). No local de instalação de cada armadilha devem ser anotados a data de instalação, o sítio, o módulo, a trilha, a parcela e características do ambiente. O uso de armadilhas fotográficas permite que o pesquisador tenha acesso constante à presença de animais nos pontos onde as máquinas foram instaladas, com registro do dia e hora de ocorrência e, inclusive, durante a noite, quando a maioria das espécies de mamíferos de médio e grande porte encontra-se ativa (CHEIDA & RODRIGUES, 2010).

1.4 AMOSTRAGEM DE MASTOFAUNA VOADORA

Quando necessária e consistente com os modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico em estudo, os levantamentos de morcegos serão realizados por captura em redes de neblina e por busca por abrigos (PIMENTA e LIMA, 2019). Os mamíferos voadores são representados pelas espécies de morcegos da ordem Chiroptera (WILSON & REEDER, 2005).

A principal metodologia utilizada para a amostragem de morcegos é o uso de redes de neblina em todas as parcelas. Devem ser instaladas 13 redes de neblina em cada parcela, com dimensões de 10 m de comprimento, 3 m de altura e malha de 32 mm. Em caso de indisponibilidade de redes com a descrição acima no mercado, poderão ser utilizadas redes com as dimensões de 9 ou 12 metros, desde que o total seja de 130 metros (PIMENTA e LIMA, 2019). As redes devem ser instaladas ao longo do corredor central das parcelas e devem permanecer abertas durante 6 horas por noite, incluindo 30 minutos de luminosidade, sendo inspecionadas em intervalos máximos de 20 minutos. As redes serão abertas por uma noite em



cada parcela por cada campanha. A amostragem também poderá ser feita no período diurno por meio de busca ativa em possíveis abrigos de morcegos (e.g. cavidades naturais existentes, ocos de árvores, troncos caídos, galhos pendendo próximo à água, superfícies abaxiais de folhas de palmeiras e helicônias, folhas jovens em brota, debaixo de pontes, em casas habitadas e abandonadas). Serão investigados, ainda, potenciais abrigos com auxílio de lanternas de mão e de cabeça e, como alternavas, no caso de eventual necessidade de capturar indivíduos, serão usadas redes de neblina na saída destes abrigos ou um puçá com cabo de extensão regulável.

Ressalta-se que esta amostragem terá caráter qualitativo, uma vez que a padronização do esforço é impossibilitada pela diferente disponibilidade e natureza dos abrigos nos diferentes sítios de amostragem. Este método, portanto, será útil na complementação da lista de espécies, mas pode não permitir o uso dos dados em testes comparativos ou na construção de estimativas de riqueza. Os indivíduos capturados, seja por meios das redes de neblina ou da busca por abrigos, devem ser medidos com paquímetros com precisão de 0,01 mm e pesados com dinamômetros de 50 g, 100 g ou 300 g de capacidade, dependendo do porte do animal. As medidas a serem tomadas para cada indivíduo coletado (em milímetros) são as seguintes:

- ✓ Comprimento do antebraço (AN) – medida desde a articulação úmero-rádio e ulna até a articulação dos ossos da ulna com os metacarpos;
- ✓ Comprimento total (CT) – medida desde a ponta do focinho até a extremidade caudal do corpo;
- ✓ Comprimento da cauda (CA) – quando presente, a partir de sua inserção com a extremidade caudal do corpo até a última vértebra caudal;
- ✓ Comprimento do pé – medida desde a articulação do tarso com tíbia até a ponta da garra mais longa;
- ✓ Comprimento da orelha – medida desde a chanfradura ventral até a ponta da orelha.

Os morcegos serão classificados em adultos ou juvenis de acordo com a ossificação das epífises dos ossos longos dos membros anteriores. As condições reprodutivas das fêmeas serão determinadas através de palpação do abdome (verificação de gravidez) e observação das mamas: mamas secretando leite, mamas desenvolvidas e escuras (não secretando leite), mamas pouco desenvolvidas. As fêmeas serão categorizadas em adultas (sem evidências de gravidez anterior, porém com epífises ossificadas), grávidas, lactantes (mamas secretando leite), pós-lactantes (mamas desenvolvidas não-secretoras) e juvenis (inativas). Para os machos, será observado se os testículos estão escrotados nos adultos potencialmente ativos, se não-escrotados nos adultos inativos e não-escrotados nos juvenis.

Os animais capturados serão identificados conforme Vizzoto & Taddei (1974), **Albuja (1982)**, Simmons & Voss (1998), Lim & Engstrom (2001) e outros. Após anotação do local de captura e da conclusão dos demais procedimentos de biometria e identificação, os animais

devem ser anilhados e soltos no local de captura. Os morcegos devem ser marcados por meio de anilhas de plástico coloridas nos antebraços (MUNÕZ-ROMO, 2006).

Quando da impossibilidade de identificação em campo ou coleta por interesse científico, os animais devem ser preparados para servir de material testemunho. Deve ser coletado material biológico (fígado e/ou músculo) de todos os exemplares coletados, visando o máximo aproveitamento em termos de coleta e manutenção de informações biológicas de cada animal selecionado para eutanásia (PIMENTA e LIMA, 2019).

1.5 RÉPTEIS E ANFÍBIOS

Quando necessária e consistente com os modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico para a Área de Estudo Ecológico em estudo, as amostragens de anfíbios e répteis devem ser realizadas nas parcelas de 250 m e nas trilhas. Estes animais devem ser amostrados por meio de transecção ao longo das parcelas, por meio do método de busca ativa visual e auditiva (PIMENTA e LIMA, 2019).

As parcelas devem ser amostradas nos períodos crepuscular e noturno (sendo o horário de início variável de acordo com o pôr do sol nas diferentes estações do ano). No início da procura em cada parcela ou trilha devem ser medidas a temperatura e umidade relativa do ar (com auxílio de termohigrômetro) e anotada a hora (PIMENTA e LIMA, 2019).

As parcelas devem ser percorridas lentamente com paradas a cada 5 ou 10 metros para busca ativa em todos os estratos da vegetação e no solo. Os indivíduos serão localizados visualmente ou pela audição de vocalizações, no caso específico de machos de anfíbios (PIMENTA e LIMA, 2019).

Quando da visualização, deve ser anotada a espécie e distância do observador até o animal. Ao final do percurso de cada parcela, devem ser novamente registrados os dados de temperatura e umidade do ar e hora de término. Os répteis e anfíbios também devem ser amostrados por meio das armadilhas de interceptação e queda (pitfall traps), seguindo o mesmo desenho, esforço e demais recomendações/instruções já descritos para as amostragens de pequenos mamíferos não-voadores.

Para diagnóstico mais abrangente de répteis em cada sítio, também devem ser realizadas transecções nas trilhas nos cinco dias da campanha. As transecções devem acontecer entre as 8:00 e 17:00 h para a captura de lagartos heliotérmicos e serpentes. Os deslocamentos entre as parcelas também irão permitir a busca por outras espécies/grupos funcionais dos répteis e anfíbios. A distância a ser percorrida dependerá do comprimento do transecto em cada sítio de amostragem (1 a 5 km).

Para cada animal avistado, devem ser anotados a data, o sítio, a hora, a trilha e o ponto na trilha e a espécie. Para as espécies semifossoriais deve ser utilizado o método de varredura em quadrantes padronizados.

Os indivíduos capturados devem ser marcados por meio da remoção de escamas, inserção subcutânea de implantes visíveis de elastômeros (*visible implant elastomer* – VIE; NAUWELAERTS *et al.*, 2000; PENNEY *et al.*, 2001) ou ablação de artelhos (apenas quando não for possível o uso das marcações anteriormente citadas), pesados, medidos em seu comprimento rostro-anal (em mm) e soltos no local de captura.

Pode vir a ser necessária a coleta de espécimes-testemunho e amostras de tecido da maioria das espécies registradas. Dessa forma, recomenda-se a criteriosa seleção das espécies a serem coletadas e do quantitativo de indivíduos, considerando-se a premissa de existência de alterações nas áreas afetadas e das coletas serem, ao menos parte, realizadas em unidades de conservação. Os espécimes coletados devem ser anestesiados e eutanasiados em lidocaína a 5%, fixados em formalina a 10% e preservados em álcool etílico 70%. A classificação taxonômica seguirá a nomenclatura utilizada nas listas de anfíbios e répteis brasileiros (SEGALLA *et al.*, 2014; COSTA & BÉRNILS, 2015).

1.6 AMOSTRAGEM DA AVIFAUNA

Quando necessária e consistente com os modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico em estudo, as aves serão consideradas como bioindicadores. As aves são excelentes bioindicadores da diversidade do ecossistema, pois estão em todos os biomas, ocupam uma grande variedade de nichos ecológicos, têm taxonomia bem estabelecida e comportamento relativamente conspícuo. Por isso, são utilizadas nos métodos de levantamentos qualitativos e quantitativos que objetivam os estudos ambientais (Vielliard *et al.*, 2010).

Segundo o protocolo CEMAVE - Projeto de Monitoramento da Avifauna em Unidades de Conservação Federais do Bioma Caatinga, elaborado pelo ICMBio em Janeiro de 2014, os métodos propostos para captura da avifauna, permitem observar tendências temporais, riqueza, composição e abundância das aves, parâmetros biológicos e ecológicos como densidade de espécies foco, saúde, alimentação, reprodução e genética e avaliação do entorno.

Os métodos a serem executados em campo serão:

- 1- Amostragem com redes de neblina e anilhamento
- 2- Lista de MacKinnon
- 3- Pontos de contagem por raio fixo

1.6.1 Redes de neblina

O levantamento de dados das aves deve ser realizado com 13 redes de neblina em todas as parcelas dos sítios de amostragem. As redes de neblina deverão ter dimensões de 10 m de comprimento x 3 m de altura e 32 mm de malha, correspondente à metade do perímetro da malha, ou quadrados de 16 mm x 16 mm. Em caso de indisponibilidade de redes nessas dimensões, poderão ser usadas redes de 9 ou 12 metros, desde que sejam colocadas ao longo das parcelas totalizando exatos 130 metros.

As redes devem ser posicionadas ao longo do corredor central das parcelas e permanecerem abertas por um dia em cada parcela e em cada campanha (períodos seco e úmido). As redes devem funcionar por 6 horas consecutivas, entre as 06:00 e 12:00, e vistoriadas a cada 30 minutos. Este intervalo deve ser reduzido para 15 minutos nos horários mais quentes (de 09:30 h às 12:00 h) e/ou em ambientes mais abertos (ROOS, 2010).

Os indivíduos capturados terão registrados o sexo, idade, presença de gordura, placa de incubação e parasitas e dados morfométricos. Após estes procedimentos, os espécimes devem ser soltos no mesmo local de captura.

O cálculo do esforço de captura com redes de neblina deve seguir Straube & Bianconi (2002), que adotam a unidade m².h, ou seja, multiplica-se a área da rede (comprimento da rede multiplicado por sua altura) pelo tempo de exposição (número de horas multiplicado pelo número de dias) e, por fim, pelo número de redes utilizadas.

1.6.2 Listas de Mackinnon

A amostragem por listas de Mackinnon deve ser executada tanto nas parcelas quanto nos transectos, durante a manhã e à tarde (entre 15:30 e 18:00). Os espécimes devem ser identificados por visualização, com auxílio de binóculos, e pela audição de vocalizações.

Sempre que possível, devem ser feitos registros fotográficos e gravações dos indivíduos em mídia digital (ou posteriormente digitalizadas por meio de técnicas que garantam a fidelidade dos atributos do canto), com uso de microfone direcional. As identificações dos espécimes registrados devem ser feitas com o auxílio de Ridgely & Tudor (1994), Peña & Rumboll (1998), Erize *et al.* (2006), Van Perlo (2009), Grantsau (2010a, b), Gwynne *et al.* (2010) e Del Hoyo *et al.* (2015).

Para a confirmação da identidade de espécies cujas vocalizações não sejam reconhecidas prontamente, será utilizada a técnica de playback (PARKER, 1991), que consiste na reprodução da vocalização de uma determinada espécie para atrair o indivíduo vocalizante e

permitir ao observador que faça sua identificação visual. O playback deve ser utilizado fora do momento da coleta de dados do ponto de escuta, de forma a não influenciar as amostras.

Segundo ICMBio (2014), sugere-se que sejam adotadas listas de 10 espécies, conforme Herzog et al. (2002). As listas de 10 espécies permitem aumentar o número de amostras e reduzem as chances de registros da mesma espécie na lista mais de uma vez (RIBON, 2010).

A abundância relativa das espécies será calculada por meio do Índice Pontual de Abundância (IPA), que corresponde ao número total de contatos obtidos para determinada espécie dividido pelo número total de amostras. Cada contato de uma amostra corresponde à ocupação de um território ou presença de um indivíduo ou grupo no raio de detecção da espécie no ponto (VIELLIARD & SILVA, 1990; VIELLIARD *et al.*, 2010). Cada amostra representa a realização de um ponto de escuta. O IPA indica a abundância da espécie em função do seu coeficiente de detecção, sendo um valor relativo que permite comparações entre medidas da mesma espécie (em locais ou períodos diferentes) ou de conjuntos equivalentes de espécies entre comunidades semelhantes (VIELLIARD & SILVA, 1990; VIELLIARD *et al.*, 2010).

Para se obter a frequência de ocorrência de cada espécie será calculado o Índice de Frequência nas Listas (IFL) por meio da divisão entre o número de listas de 10 espécies em que cada espécie ocorreu pelo número total de listas obtido, expresso em porcentagem (%). Assume-se que quanto mais comum for uma espécie, mais vezes ela será registrada nas listas e maior será seu IFL (RIBON, 2010).

1.6.3 Ponto de contagem de raio fixo

Os dados quantitativos serão representados pela abundância relativa (número de indivíduos em relação à unidade amostral) (Ribon, 2010). A estimativa da abundância deve ser parte integrante de qualquer programa de monitoramento, pois será utilizada como um indicador da condição do hábitat (Ralph et al., 1996).

Os pontos de escuta também devem ser executados nas parcelas, sendo um ponto no início e outro no final de cada parcela para diminuir a chance de recontagem de indivíduos entre os pontos (BIBBY et al., 1998; GREGORY et al., 2004; VIELLIARD et al., 2010). O tempo de permanência em cada ponto deve ser de 10 minutos, durante os quais devem ser registradas todas as espécies de aves observadas e/ou ouvidas e o número estimado de indivíduos de cada espécie (ICMBio, 2014). Os censos por pontos de escuta devem ser executados somente no período da manhã, desde o nascer do sol até por volta das 10:00 horas (POULSEN & KRABBE, 1998; ANJOS, 2007).

1.6.4 Aves aquáticas

As contagens serão feitas ao longo do dia, de acordo com as condições de luz. Serão contadas as aves associadas a lagoas e barreiros. O esforço amostral em cada área será relativo, pois será utilizado o tempo para contar e registrar as aves encontradas no momento, sendo o tempo de permanência no local associado à abundância de aves e o tamanho da área (Guadagnin et al., 2005). As aves serão contadas segundo o método descrito por Bibby et al. (1992), em que o observador fica em um ponto fixo e conta os indivíduos de cada espécie com binóculos, registrados fotograficamente, se necessário.

Dependendo do tamanho da lagoa ou barreiro serão estabelecidos vários pontos, procurando-se, deste modo, estimar o número de aves aquáticas por contagem direta. O deslocamento entre os pontos de observação será realizado a pé. A escolha desses pontos será efetuada de forma a obter uma visualização total da área de cada lagoa, tentando sempre provocar o mínimo de agitação em relação às aves presentes.

1.6.5 Aves noturnas

Em cada expedição serão realizadas amostragens noturnas variando o horário das observações entre o ocaso e o nascer do sol. As trilhas serão percorridas a pé, podendo-se utilizar *play back* para as espécies mais comuns na região. Além dos dados anotados para outras espécies, a fase da lua e horário da atividade devem ser relacionados (Barros e Cintra, 2009). Será utilizado *playback* das vozes (gritos e cantos) das espécies noturnas possíveis de serem registradas no local, sendo que a sequência de vocalizações será categorizada de acordo com o tamanho das espécies, começando do menor para maior, evitando assim a inibição das pequenas espécies (Fink et al., 2012).

1.7 AMOSTRAGEM DE ANELÍDEOS

Quando necessária e consistente com os modelos conceituais de cada Área de Estudo Ecológico em estudo, anelídeos serão amostrados, sendo que será considerado como período de amostragem apenas à estação chuvosa. Deve ser seguido o método de coleta manual recomendado pelo Programa *Tropical Soil Biology and Fertility* (TSBF), que preconiza a retirada de 10 monólitos de solo em cada parcela, distantes 25 metros entre si. Os monólitos devem ter 25 x 25 cm de lado e 20 a 30 cm de profundidade (ANDERSON & INGRAM, 1993). Em geral, a triagem de monólitos resulta em maior densidade (número de indivíduos) e biomassa de minhocas na camada amostrada em relação a outros tipos de extração.

No caso de avaliações qualitativas de minhocas em locais onde há suspeita da presença de espécies endogêicas, o uso de monólitos de grandes dimensões (40 x 40 cm) é mais eficiente para a coleta de espécies dessa categoria, como as do gênero *Glossoscolex* (BARETTA et al., 2007). Devem ser anotadas em planilha padronizada informações sobre sítio, módulo, parcela, piquete na parcela, data de coleta, coletores e espécies de cada coleta.

Os animais coletados devem ser acondicionados em saquinhos tipo zip-lock com álcool a 96%. O álcool deve ser trocado duas ou três vezes nos dias subsequentes a amostragem, visando boa conservação do material. Uma vez coletados, os exemplares são transportados para laboratório, onde deve ser feita a triagem dos indivíduos coletados (adultos e juvenis), sendo estes separados em morfoespécies por parâmetros visuais externos. A biomassa fresca de cada exemplar deve ser medida com balança digital. Os animais adultos devem ser acondicionados em frascos separados para posterior dissecação e identificação em nível específico, usando chaves de identificação e/ou a literatura especializada. Amostras de tecido das minhocas devem ser coletadas e encaminhadas para análises laboratoriais voltadas à verificação da concentração de metais e especiação de Fe, MnCl₂, Mn(II)Cit, Mn(III)Cit, Mn(III)PPi, Mn(II), Mn(III), Cd livre (CdL), Cd(II), Pb(II), bem como análise de substâncias húmicas aquáticas (ácido húmico (AH) e ácido fúlvico (AF)), conforme MCA_{ECO}.



APÊNDICE 06

Informações e Dados sobre Ecotoxicidade



1 ECOTOXICIDADE DOS METAIS

1.1 ECOTOXICOLOGIA

Ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos das substâncias químicas de interesse (SQI) sobre os organismos vivos. É uma ferramenta que auxilia nas análises de impactos ambientais causados por diferentes elementos químicos, dentre eles os metais, permitindo assim estimar a toxicidade dessas substâncias em relação aos organismos teste. A ecotoxicologia está relacionada com os poluentes do ar, água, solos e sedimentos, no qual podem interagir com os organismos presentes no ambiente causando diversos efeitos adversos aos ecossistemas.

1.2 MECANISMOS DE TOXICIDADE EM PLANTAS

1.2.1 ALUMÍNIO

O alumínio é considerado o terceiro elemento químico mais frequente na crosta terrestre. Possui baixa solubilidade, sendo que a toxicidade do alumínio em solos ácidos ($\text{pH} < 5,0$), o Al pode ser considerado um fator limitante para o crescimento das plantas. Em pH baixo, o hidrogênio (H^+) atua sobre os minerais ocasionando a liberação de (Al^{3+}), no qual ficam retidos pelas cargas negativas das partículas de argila do solo, em equilíbrio com o Al^{3+} em solução, sendo assim, a quantidade de Al trivalente (Al^{3+}) tende a aumentar em solos ácidos. Já em solos com o pH acima de 5,5 ocorre a formação de espécies $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ e $\text{Al}(\text{OH})_2$. Quando o pH encontra-se próximo da neutralidade ocorre a fase sólida $\text{Al}(\text{OH})_3$ e $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ (Echart et al., 2001; EMBRAPA, 1997). Os ânions inorgânicos (fluoreto, fosfato e sulfato), são considerados de grande importância, pois dependendo da sua concentração no ambiente e dos valores de pH, podem influenciar na solubilidade e deslocamento do Al^{3+} .

A solubilidade e o deslocamento do Al podem ser influenciados também pela presença de complexantes orgânicos naturais presentes no solo, como por exemplo, ácido cítrico, ácido oxálico, ácidos húmicos e ácidos flúvicos (EMBRAPA, 1997).

O Al exerce sua toxicidade em plantas, em grande maioria, através da inibição da raiz, resultando na sua redução, danos ao sistema radicular, deficiência mineral e estresse hídrico. A redução do crescimento da parte aérea também pode ocorrer, podendo ser uma consequência dos danos que ocorrem na raiz. A inibição da raiz pelo Al é ocasionada provavelmente pela inibição da mitose nas células do meristema apical da raiz, esta substância é capaz de interagir com ácidos nucleicos sendo detectado nos núcleos das células da raiz (Echart et al., 2001). Segundo a EMBRAPA (1997), também foi observado a diminuição no alongamento radicular, sendo considerado um dos primeiros sintomas de toxicidade por Al tendo em vista que a produção de biomassa radicular normalmente é mais sensível do que a produção de biomassa da parte aérea.

As ações tóxicas do Al nas plantas, ainda que presente em numerosos trabalhos, não está totalmente elucidada. Porém sabe-se que as ações fisiológicas, bioquímicas e os mecanismos pelos quais o Al afeta as funções celulares podem ocorrer devido as alterações na membrana das células da raiz, inibição da síntese de DNA e divisão celular, inibição do alongamento celular, alterações na absorção de nutrientes e no balanço nutricional e efeito sobre a simbiose rizóbio/leguminosa (EMBRAPA 1997).

Para uma melhor avaliação dos efeitos tóxicos do alumínio nas plantas é importante compreender os processos de absorção de íons pelas raízes. Os solutos que apresentam baixo peso molecular, no qual se movimentam por difusão ou fluxos de massa podem alcançar a superfície externa das raízes bem como as paredes celulares e os espaços intercelulares do córtex preenchidos por água, podendo atingir até a endoderme. Os íons a partir das soluções do solo penetram nas raízes chegando primeiramente no apoplasto do córtex. Já os solutos com alto peso molecular dificilmente conseguem penetrar no espaço livre das células das raízes devido ao diâmetro dos poros. No espaço livre das raízes, os grupos carboxílicos atuam como trocadores de cátions. Os cátions podem se acumular em um processo não-metabólico no espaço livre, repelindo assim os ânions. O Al pode ser retido em grupos funcionais, como por exemplo, Ca^{2+} , Mg^{2+} e H^+ , sendo transportado para o citoplasma. No citoplasma podem-se observar ações fitotóxicas do Al, que é a inibição da absorção de Mg^{2+} através da competição por grupos funcionais na raiz (EMBRAPA 1997).

Alterações nas membranas da raiz decorrente da exposição das plantas ao Al^{3+} podem ser observadas como uma das lesões primárias. O Al^{3+} é capaz de alterar as propriedades das membranas plasmáticas e vacuolar resultado em uma diminuição da

permeabilidade para a água, podendo também ser observada a perda de camadas celulares periféricas e degeneração do citoplasma (EMBRAPA 1997).

Outros efeitos da exposição das plantas ao Al são: a inibição da síntese de DNA e da divisão celular, tendo em vista que as secções da dupla hélice de DNA são capturadas por polímeros de Al, através da ligação entre fosfato com a carga negativa e positiva do polímero. Inibição do alongamento celular, onde ocorre devido ao resultado de alterações nas células da coifa, no qual agem como sensores do estresse ambiental, sendo que o Al é acumulado no núcleo das células. Sob baixas concentrações de Al, pode ocorrer o surgimento de novas raízes antes da coifa, indicando assim a interrupção da dominância apical. Já em concentrações crescentes desta substância pode tornar a planta incapaz de desenvolver raízes laterais (EMBRAPA 1997).

As plantas aquáticas aparentemente são mais toleráveis à exposição ao Al do que os invertebrados aquáticos, anfíbios ou peixes, sendo que diversas espécies de algas foram relatadas em ambientes com o pH inferior a 3,0 e o Al dissolvido acima de 100 mg/L⁻¹. As espécies *Charcium spp.*, *Euglena mutabilis* e *Pinnularia acoricola* conseguem sobreviver em ambientes com níveis de Al de 2500 mg/L⁻¹ ou até mesmo maiores (Sparling et al., 1996).

1.2.2 ANTIMÔNIO

O antimônio existe predominantemente na forma de antimonato (Sb(V)) e antimonita (Sb(III)), sendo que espécies de Sb metiladas também podem ser detectadas em alguns tipos de solos e em plantas, porém em níveis mais baixos. O Sb sofre reduções redox em ambientes orgânicos ou inorgânicos, alterando assim sua especiação, podendo exercer diferentes efeitos tóxicos no ecossistema. O Sb não é um elemento nutriente essencial para as plantas, porém quando solúvel em água pode ser facilmente absorvido pelas plantas. Quando ocorre uma absorção excessiva de Sb pode causar toxicidade (Zhu et al., 2020).

A maioria das plantas é capaz de absorver mais o Sb(III) do que o Sb(V). A biodisponibilidade do Sb no solo depende de diversos fatores, dentre eles, adsorção/dessorção de diferentes especiações de Sb no solo, pH, Eh, carbono orgânico dissolvido, Fe, Mn, óxidos de alumínio, minerais de argila, matéria orgânica,

temperatura e ligantes orgânicos e inorgânicos. A especiação do Sb pode ser induzida por microrganismos do solo (Zhu et al., 2020).

As plantas geralmente tem uma capacidade de translocação fraca para o Sb. Algumas espécies, como por exemplo, arroz e trigo tendem a acumular mais Sb nas partes subterrâneas da planta em comparação com as partes acima do solo. Porém algumas são consideradas hiperacumuladoras concentrando maiores quantidades de Sb nas partes acima do solo. Sendo assim, diferentes espécies de plantas possuem diferentes capacidades de absorção e translocação de Sb (Zhu et al., 2020).

Após o Sb ser absorvido pelas plantas pode sofrer transformações de especiação. Dentre os efeitos adversos observados em plantas expostas ao Sb pode-se destacar: indução de estresse antioxidante, aumento do conteúdo de malondialdeído nos tecidos vegetais, inibição da fotossíntese, desequilíbrio de elementos nutrientes essenciais e inibição da síntese de proteínas solúveis, açúcar solúvel e amido (Zhu et al., 2020).

1.2.3 ARSÊNIO

O arsênio é considerado um dos elementos químicos mais tóxicos e carcinogênicos. No ambiente (solo e água), o As pode ser encontrado em quatro estados de oxidação, dentre eles o As(-III), As(0), As(III) e As(V), sendo que as espécies inorgânicas são mais móveis e mais tóxicas que as orgânicas. O arsenato (As(V)) e a arsenita (As(III)), prevalecem no ambiente natural, sendo altamente tóxicos e móveis. O As (III) prevalece em condições reduzidas e o As (V) é dominante em ambientes oxidados. Diversas reações que ocorrem no solo podem afetar o comportamento biogeoquímico do As, como por exemplo, oxidação-redução, sorção-dessorção, precipitação/dissolução, volatilização, transformações biológicas, formação de complexo As-ligante e a diversidade de espécies de plantas. As formas inorgânicas do As, como As (III), além de ser mais letal do que sua forma orgânica, é mais solúvel, cerca de 60 vezes mais tóxico e móvel que o As (V) (Abbas et al., 2018).

O As não é um elemento essencial para as plantas, sendo que sua absorção depende de sua concentração total e da especiação de As no solo. Nas plantas o As entra principalmente na forma orgânica, As(III) ou As (V), através de proteínas transportadoras. No interior das plantas o As pode afetar o crescimento e a produtividade. Um dos efeitos mais preocupantes da exposição de plantas ao As, a nível

celular, é a produção de espécies reativas de oxigênio. As espécies reativas de oxigênio podem afetar o metabolismo das plantas causando danos irreparáveis às macromoléculas, este processo pode estar relacionado à conversão de As(V) em As(III) (Abbas et al., 2018).

O pH do solo possui grande influencia na especiação do As bem como o status redox do solo. Em geral a solubilidade do solo aumenta com a diminuição do potencial redox. Sendo assim O As(V) predomina em condições do solo oxidantes, por outro lado o As(V) é convertido para As(III) em condições redutoras, portanto o estado redox do solo pode induzir um efeito significativo na avaliação e no comportamento geoquímico do solo (Abbas et al., 2018).

Outro fator que pode afetar na biodisponibilidade e especiação do As são as atividades microbianas do solo. Os microrganismos do solo estão envolvidos em diversos processos biogeoquímicos no qual afeta o comportamento e o destino do metal no solo e na planta. Está atividade pode afetar a adsorção/dessorção, solubilidade, biodisponibilidade, mobilidade e a transferência de As para as plantas. Esses microrganismos são capazes de converter As(III) e As(VI) podendo solubilizar ou imobilizar o As no sistema solo-planta (Abbas et al., 2018).

As plantas acumularam o As principalmente na raiz, sendo que normalmente as plantas podem absorver As em sua forma inorgânica através do auxílio de várias proteínas transportadoras. Os mecanismos de absorção de As pode variar dependendo de sua especiação química. Após as plantas absorverem o As ocorre o transporte através do xilema onde o As é transportado da raiz para o rebento, sendo distribuído entre vários tecidos vegetais (Abbas et al., 2018).

O As é capaz de perturbar as vias bioquímicas e metabólicas, como a absorção de nutrientes impedida, efeito negativo no aparelho fotossintético, interrupção do estado da água da planta, interação com grupos funcionais de enzimas e a substituição de íons essenciais de ATP em plantas. Estudos mostram também uma queda em aminoácidos, podendo também causar murcha, ondulação e necrose das lâminas das folhas, menor produção de frutos e reduções na área foliar e na taxa de fotossíntese. As membranas celulares também podem ser danificadas devido ao desequilíbrio na absorção de nutrientes e água dentro das células da planta (Abbas et al., 2018).

Geralmente o As afeta o sistema biológico das plantas por meio de duas rotas, através da inativação de enzimas-chave, ou seja, por interação com grupos sulfidril ou

por substituição de íons obrigatórios de seus sítios ativos, ou indiretamente, por meio de espécies reativas de oxigênio, resultando assim em um efeito cascata de lesões irreversíveis nas plantas (Abbas et al., 2018).

1.2.4 BÁRIO

O bário no solo ocorre em diversos compostos, sendo que o mais comum é o sulfato de bário (baritina). O Ba é considerado como um elemento de risco e poluente por exposição ao ambiente (US EPA, 2003). O sulfato de bário no solo não é muito móbil devido à formação de sais insolúveis em água e sua incapacidade de formar complexos solúveis, como por exemplo, materiais húmicos e fúlvicos (US EPA, 1984). Existem diferentes formas de bário, dentre elas formas solúveis, insolúveis, inorgânicas e orgânicas, sendo que a forma solúvel é extremamente tóxica para humanos, animais e plantas. Em processos geoquímicos o Ba está geralmente associado com K^+ devido aos seus raios iônicos muito similares, sendo assim está ligado ao feldspato alcalino e biotita (Lazo, 2010).

Diversos tipos de plantas, como por exemplo, hortícolas, gramíneas e plantas daninhas acumulam metais num amplo intervalo de concentração. O bário não é considerado um nutriente essencial para as plantas, porém concentrações mais altas de Ba (acima de $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$) foram verificadas em diferentes espécies de árvores, arbustos e castanha do Pará (Lazo, 2010). O Ba pode causar diversos efeitos deletérios na maioria dos organismos.

Estudos mostram que a exposição de plantas ao Ba pode ocasionar alterações na biomassa das plantas quando comparado ao controle. Lamb (2013), mostra em seu estudo que o Ba suportou um crescimento significativamente menor da alfaca, onde observou retardo do crescimento quase que completo, sendo também observado folhas amareladas, indicando clorose (geralmente nas folhas). Sendo observado também o aumento de concentração de Ba nos tecidos aéreos das plantas, onde foi relacionado a uma diminuição do peso da parte aérea da planta. Outros estudos sugerem que a exposição de plantas ao bário é capaz de inibir a absorção de K em algumas espécies de plantas, podendo aumentar a concentração de Ba em todas as partes da planta, principalmente nas raízes. A exposição das plantas ao Ba também é capaz de reduzir a taxa de fotossíntese, condutância estomática e taxas de transpiração, bem como a

diminuição do peso seco. Os resultados mostram que o crescimento reduzido das plantas pode estar associado à redução da assimilação de CO₂ causada pela limitada atividade fotossintética. Altas concentrações Ba é capaz de induzir o fechamento estomatal bem com perturbar o ciclo de Calvin-Benson (Suwa et al., 2008).

1.2.5 BORO

O boro é um elemento químico essencial para as plantas, auxiliando em seu crescimento e desenvolvimento. É absorvido através das raízes das plantas predominantemente na forma de pequenas moléculas de ácido bórico sem carga que facilmente entram nas células através da bicamada fosfolipídica da parede. Em condições de suprimento suficiente, o elemento é transportado por difusão passiva e sem catálise de proteínas e consumo de energia. O boro tende a se mover ao longo do fluxo de transpiração e se acumula em seu final, concentrando-se em maiores quantidades nas pontas e margens das folhas do que no resto da folha (Brdar-Jokanovic, 2020).

A toxicidade do boro em plantas difere entre as espécies com mobilidade restrita e significativa no floema. Em espécies imóveis no floema, o boro move-se através do xilema acumulando-se no final da corrente de transpiração. Os efeitos adversos podem incluir clorose e necrose no qual se espalham a partir das pontas das folhas, com lesões marrons podendo cobrir grande parte da superfície das folhas, bem como atingir o caule. Também podem ocorrer emergência e foliação retardada, redução na altura do caule, fraqueza geral da raiz e diminuição do crescimento das raízes laterais (Brdar-Jokanovic, 2020).

1.2.6 CÁDMIO

O acúmulo de cádmio nas plantas e conseqüentemente na transferência para a cadeia trófica é um fator preocupante em torno de todo o mundo, apresentando uma ameaça ao ecossistema. O Cd é facilmente absorvido pelas plantas devido à sua alta mobilidade, sendo que a absorção de Cd pelas plantas está relacionada diretamente às propriedades do solo, como por exemplo, tamanho das partículas, pH, temperatura, capacidade de troca catiônica e também a fisiologia da planta, área de superfície da raiz, taxa de

exsudação e transpiração da raiz. A maioria das espécies de planta consegue acumular Cd nos tecidos radiculares sendo que concentrações pequenas são transportadas para os brotos, porém altos níveis de Cd podem ser observados nas partes aéreas em plantas hiperacumuladoras. Sendo assim o Cd pode causar diversos efeitos adversos em plantas, como efeitos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos (Shahid et al.,2016).

A toxicidade de Cd em plantas geralmente está associada à interrupção e transporte de água e nutrientes, alterações do metabolismo de nitrogênio, interrupção da ATPase, redução da fotossíntese, crescimento e respiração, disfunção da maquinaria fotossintética, escurecimento das raízes, clorose e necrose. Também pode gerar alterações ao nível celular, como por exemplo, aberrações cromossômicas e alterações dos ciclos e divisão celular, bem como produção de espécies reativas de oxigênio (Shahid et al.,2016).

O Cd no solo é encontrado predominantemente ligado às fases sólidas trocáveis, sendo liberado nas soluções do solo, facilitando assim sua absorção pelas plantas. Na solução do solo o Cd está presente principalmente como Cd^{2+} , ou como complexos inorgânicos ou orgânicos. Na fase sólida o Cd pode também estar ligado a partículas de solo, como matéria orgânica ou óxidos de Fe e Mn (Shahid et al.,2016).

O pH do solo é um dos parâmetros mais importantes que agem na especiação, partição e biodisponibilidade do Cd. O cádmio por ocorrer como espécies catiônicas ($CdHS^+$, $CdOH^+$, $CdHCO_3^+$ e $CdCl^+$) e como espécies aniônicas ($Cd(HS)_4^{2-}$, $Cd(OH)_3^-$, $Cd(OH)_4^{2-}$ e $CdCl_3^-$), sendo que em pH baixo está predominantemente como Cd^{2+} , $CdSO_4$, $CdCl^+$, enquanto em condições alcalinas as espécies menos biodisponíveis são, $CdHCO_3^+$, $CdCO_3$, e $CdSO_4$. Quando o pH é elevado torna-se uma proteção para a absorção de Cd pelas plantas, pois acaba reduzindo a fitodisponibilidade, tendo em vista que a precipitação e absorção de Cd nas partículas do solo devem minimizar as concentrações de Cd na solução do solo. Já quando o pH do solo é baixo, a disponibilidade e mobilidade do Cd tende a aumentar, isso ocorre devido à transformação do Cd de formas imóveis como óxidos de Fe, Mn e carbonatos para as formas mais biodisponíveis e trocáveis (Shahid et al.,2016).

Outro parâmetro que possui grande importância para a biodisponibilidade e mobilidade de Cd é a matéria orgânica presente no solo, pois ocorre a formação de complexos com o Cd. Os solos com maior teor de MO são capazes de reduzir a absorção do Cd pelas plantas, como resultado da sorção de Cd, em grupos hidroxila carboxílicos e fenólicos, gerando assim a remoção do Cd da solução do solo. A

atividade microbiana presente no solo pode aumentar a disponibilidade de Cd por meio da excreção de ácidos orgânicos e solubilização de minerais contendo Cd (Shahid et al.,2016).

Quando ocorre a exposição de plantas ao cádmio, esta substância entra nas plantas a partir dos solos por meio da absorção pela raiz, através de transportadores específicos e não específicos de elementos essenciais. Estudos mostram que um dos transportadores de Cd são os transportadores ZIP ou canais de cátions, no qual permite que o Cd entre nas células da raiz (Shahid et al.,2016).

O Cd nas plantas geralmente é encontrado em maiores concentrações na raiz tendo uma diminuição nos caules, folhas, frutos e sementes, consecutivamente. O Cd acumula-se principalmente nos núcleos e vacúolos enquanto uma menor quantidade pode ser encontrada nos plastídios e no citoplasma das raízes. Já a proporção de Cd absorvido na parte aérea das plantas varia de acordo com as características da planta, como por exemplo, espécie, idade, dentre outros (Shahid et al.,2016).

O Cd pode representar sérios problemas de saúde tendo em vista que pode ocorrer a translocação para as partes das plantas que são utilizadas para ração animal ou produtos alimentícios, podendo assim ser transferido de acordo com a cadeia trófica (Shahid et al.,2016).

Concentrações de Cd acima de 5 – 10 mg Cd g⁻¹ peso seco da folha pode levar a morte das plantas, sendo que os principais efeitos são: clorose, inibição da fotossíntese, crescimento atrofiado, inativação das enzimas na fixação de CO₂, alongamento da raiz, ultraestrutura alterada do cloroplasto, divisão celular, epinastia da folha, peroxidação lipídica, distúrbios de enxofre e metabolismo do nitrogênio, redução da absorção de nutrientes essenciais, como fósforo, cálcio, magnésio e potássio, bem como interfere na captação e translocação de nitrato para as partes aéreas das plantas. O Cd pode também influenciar na permeabilidade da membrana plasmática pela indução da peroxidação lipídica, aumento de espécies reativas de oxigênio interrompendo o status redox da célula no qual pode deteriorar as macromoléculas biológicas (Shahid et al.,2016).

1.2.7 CHUMBO

O chumbo é um dos elementos químicos mais tóxicos sendo frequentemente encontrado no solo, água e atmosfera, no qual afetam as plantas. A exposição das

plantas ao Pb, dependendo da concentração, estágio de vida, duração da exposição, dentre outros, pode prejudicar o crescimento da planta, alongamento da raiz, germinação de sementes, desenvolvimento de mudas, transpiração, produção de clorofila, organização lamelar no cloroplasto e a divisão celular. A interação do Pb com as plantas depende também da espécie, pois algumas espécies como por exemplo as leguminosas absorvem quantidades reduzidas deste elemento, sendo mais adequadas para crescer em solos contaminados por chumbo (Pourrut et al., 2011).

Em solos o chumbo pode ocorrer como íon de metal livre, complexado com constituintes inorgânicos, como por exemplo, HCO_3^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} e Cl^- , podendo existir também como ligantes orgânicos, como os aminoácidos, ácidos fúlvicos e húmicos. Sendo que o chumbo de origem antropogênica tende a se acumular principalmente na camada superficial do solo. O Pb possui forte ligação com material orgânico e coloidais, sendo assim pequenas quantidades de Pb no solo são solúveis, e portanto, disponíveis para a absorção das plantas (Pourrut et al., 2011).

O comportamento do chumbo no solo depende de diversos fatores, dentre eles as interações e fatores biogeoquímicos (pH, condições redox, capacidade de troca catiônica, mineralogia do solo, condições microbianas, quantidade de chumbo presente no solo, níveis de ligantes orgânicos e inorgânicos, níveis de cátions concorrentes, espécies de plantas envolvidas, dentre outros). Esses fatores podem atuar individualmente ou em combinação entre si, alterando assim o comportamento no Pb presente no solo e a taxa de absorção pelas plantas. A biodisponibilidade do chumbo é influenciada por sua especiação e pela concentração de íons livres de chumbo (Pourrut et al., 2011).

A principal via de exposição e acumulação do Pb em plantas é através da absorção pela raiz. O chumbo é absorvido pelas raízes e liga-se aos grupos carboxila do ácido urônico da mucilagem ou diretamente aos polissacarídeos da superfície da célula do rizoderma. Quando o Pb é absorvido pode seguir os fluxos de água em translocação, sendo encontrado as maiores concentrações de chumbo nos ápices das raízes, onde o pH rizodérmico é mais baixo, aumentando assim a solubilidade do Pb na solução do solo. O Pb pode penetrar na raiz por diferentes vias, dentre elas os canais iônicos. A inibição da absorção de Pb pelo cálcio está associada a competição entre esses dois cátions por canais de cálcio, onde diversos autores mostram que os canais permeáveis ao Ca^{2+} são os principais caminhos pelo qual o chumbo entra nas raízes. Estudos realizados com plantas transgênicas mostram também que o Pb pode penetrar nas raízes por meio das

vias, como canais iônicos cíclicos de nucleotídeos ou por meio de transportadores de cátions de baixa afinidade (Pourrut et al., 2011).

Após a exposição das plantas ao Pb, uma vez que esta substância penetra no sistema radicular, pode se acumular ou ser translocado para as partes aéreas das plantas. Para a maioria das espécies de plantas a maior parte de Pb, cerca de 95%, é acumulado nas raízes, sendo apenas uma pequena fração é translocada para as partes aéreas. O transporte de metais das raízes para os brotos ocorre através do xilema, e quando ocorre é provavelmente conduzido por transpiração (Pourrut et al., 2011).

Efeitos adversos sobre a germinação e crescimento também podem ser observados em plantas expostas ao chumbo, mesmo que em concentrações pequenas. A germinação das plântulas é inibida por concentrações muito baixas de Pb^{2+} . A inibição da germinação pode ser resultado da interferência do Pb com as enzimas protease e amilase. Essa exposição também pode resultar no desenvolvimento e na brotação de mudas, inibindo o crescimento de raízes e partes aéreas da planta. Outros efeitos relacionados à exposição ao chumbo são: raízes inchadas, tortas, curtas e atarracadas, edema mitocondrial, perda de cristas, vacuolização do retículo endoplasmático e membrana plasmática lesada, inibição do crescimento (folhas em menor número, menores e mais quebradiças, dentre outros). Esse retardo no crescimento de plantas expostas ao Pb pode estar relacionado aos distúrbios metabólicos de nutrientes e fotossíntese alterada. Porém deve-se levar em consideração que os efeitos adversos em plantas dependem da espécie exposta. A toxicidade do chumbo varia de acordo com a espécie, algumas espécies são consideradas hiperacumuladoras e toleram mais a toxicidade do Pb do que as plantas mais sensíveis (Pourrut et al., 2011).

Embora os efeitos do Pb na concentração total das proteínas ainda não esteja totalmente elucidado, sabe-se que o Pb interage com as proteínas citoplasmáticas, sendo que altas concentrações de Pb pode diminuir o pool de proteínas através de estresse oxidativo agudo de espécies reativas de oxigênio, modificação na expressão gênica, aumento na atividade ribonuclease, utilização de proteínas por plantas para fins de desintoxicação de chumbo e diminuição do conteúdo de aminoácidos livres (relacionado com a perturbação no metabolismo do nitrogênio). O Pb em plantas também é capaz de diminuir a transpiração e reduzir o teor de umidade, reduzir a plasticidade da parede celular influenciando na pressão de turgor celular (Pourrut et al., 2011).

Quando em baixas concentrações o Pb é capaz de induzir aberrações (pontes cromossômicas durante a anáfase), perda de fragmentos acêntricos durante a meiose, fragmentação cromossômica e formação de micronúcleo (Pourrut et al., 2011).

1.2.8 COBALTO

O cobalto é um micronutriente muito utilizado em plantações com o objetivo de tratamento das sementes ou via foliar, sendo assim classificado como um micronutriente benéfico no qual estimula o crescimento dos vegetais. As características do solo, como por exemplo, o pH pode determinar a disponibilidade de absorção do Co para as plantas. Solos com pH mais alto tem menor biodisponibilidade (Dalmolin, 2015).

As plantas absorvem o cobalto pelas raízes, sendo absorvido como Co^{2+} , sendo considerado móvel no floema, portanto se aplicado via foliar ele é parcialmente móvel. O cobalto é um micronutriente necessário para as bactérias fixadoras de nitrogênio, entretanto plantas supridas com nitrogênio não necessitam de cobalto, sendo assim podem acumular este elemento químico (Dalmolin, 2015).

O excesso de Co em plantas pode diminuir a absorção de ferro, podendo gerar plantas com folhas cloróticas, na parte superior e atrofiamento das plantas. Alguns dos sintomas de toxicidade são: manchas necróticas nos cotilédones e folhas com folíolos cloróticos (Dalmolin, 2015).

O cobalto atua em processos enzimáticos das plantas, sendo essencial para a fixação biológica do nitrogênio por bactérias fixadoras de vida livre ou por sistemas simbióticos. Quando o cobalto é encontrado em altos níveis, ele pode diminuir a absorção de ferro e manganês por inibição competitiva, podendo gerar efeitos na deficiência destes micronutrientes. Quando o excesso de cobalto atinge as folhas, elas tornam-se cloróticas, depois necróticas, podendo secar completamente (Faquin, 2005).

1.2.9 COBRE

O cobre é um micronutriente vital para o crescimento de plantas e desempenha também função fundamental na assimilação de CO_2 e na produção de ATP, sendo o constituinte de diversas proteínas. A alta concentração de Cu nas plantas pode afetar o

seu crescimento, promover a clorose foliar, causar citotoxicidade, estresse oxidativo (gerando espécies reativas de oxigênio), no qual são prejudiciais para as plantas. O estresse oxidativo através da peroxidação lipídica resulta na interrupção de diversas vias metabólicas causando danos às macromoléculas essenciais. O efeito adverso mais comum a plantas expostas a altas concentrações de Cu é o declínio da biomassa vegetal (Kumar et al., 2020).

Estudos mostram que Cu^{2+} e o Cu^+ são as formas mais abundantes de Cu para a absorção pelas plantas, sendo que sua mobilidade depende do pH, matéria orgânica, tipo de solo, capacidade de troca catiônica, dentre outros. Em geral a forma predominante do Cu presente no solo é Cu (II) em formas orgânicas naturais ou em associação entre as formas orgânicas e inorgânicas ou até mesmo óxidos de Fe. Os níveis de Cu no solo variam entre 3 e 100 mg/kg^{-2} sendo que apenas 1 – 20% está biodisponível. Tendo em vista que a biodisponibilidade do Cu depende das propriedades do solo, por meio de suas associações com diferentes tipos de óxidos metálicos, matéria orgânica e partículas de argila (Kumar et al., 2020).

As plantas absorvem os íons metálicos do solo através das células da raiz, onde em seguida é transportado para o centro por meio do parênquima, endoderme e xilema, no qual estão envolvidos diversos transportadores de metais juntamente de outras moléculas transportadoras. Para inibir a formação de espécies reativas de oxigênio, o Cu depois de absorvido pelas plantas é sequestrado como complexo quelante de metal nos vacúolos para reduzir a sua toxicidade (Kumar et al., 2020).

O Cu é um elemento essencial para as plantas, porém em quantidades excessivas pode induzir efeitos adversos na produção primária e sobrevivência. Os principais efeitos são: alterações no crescimento, morfologia das raízes, clorose foliar interveinal, folhas murchas, pontas de folhas necróticas e anormalidades radiculares. As concentrações de 20 a 30 $\mu\text{g/g}^{-1}$, dependendo da espécie exposta, podem causar toxicidade, enquanto concentrações de 1 a 5 $\mu\text{g/g}^{-1}$ são essenciais para as plantas. Os primeiros efeitos adversos que podem ser observados são no crescimento e na forma da raiz, antes de qualquer efeito no crescimento acima do solo. O declínio do volume radicular sob concentrações de Cu indica uma redução significativa da biomassa radicular, no qual está associada à divisão celular. Sendo assim a exposição das plantas ao Cu pode afetar diretamente os parâmetros morfológicos, como o comprimento da raiz, comprimento do caule, área folicular, podendo ser observado também clorose

foliar intervinal, necrose, púrpura da folhagem e clorose (Kumar et al., 2020; Andresen et al., 2018).

O Cu pode também afetar a biossíntese do mecanismo fotossintético (Kumar et al., 2020; Andresen et al., 2018), gerando alterações no pigmento e a composição proteica das membranas fotossintéticas, através do estresse oxidativo. Sendo assim a exposição das plantas ao Cu resulta na inibição da absorção de captação de nutrientes induzindo a fitotoxicidade em plantas. O Cu pode ser capaz de alterar as concentrações de fósforo, potássio, cálcio, magnésio e ferro, devido à competição de Cu e nutrientes (Kumar et al., 2020). O Cu possui como umas das funções no metabolismo agindo como ativador ou componente de enzimas que participam de reações de oxi-redução. Quando a concentração de cobre atinge níveis tóxicos, podem ocorrer alterações na fixação biológica do nitrogênio, tendo em vista que ocorre a inibição da ação do ferro. Podendo ser observado além do menor crescimento e funcionamento anormal das raízes, aparecimento de manchas aquosas e amareladas ao longo da nervura principal. Que se tornam necróticas (Faquin, 2005).

1.2.10 CROMO

O cromo é um metal pertencente ao grupo de transição podendo variar o número de oxidação de Cr (II) a Cr (VI), sendo que as formas mais estáveis e comuns no ambiente são as espécies trivalente Cr (III) e hexavalente Cr (VI), as diferentes formas possuem também diferentes propriedades físico-químicas e bioquímicas. O Cr (III) é o mais comum de ocorrência natural e forma complexo com a matéria orgânica presente no solo e na água, podendo ser encontrado como óxidos crômicos, hidróxidos ou sulfatos. O Cr (VI) é amplamente estudado e presente na literatura por ser considerada a forma mais nociva de cromo, possuindo forte potencial de oxidação (Sinha et al., 2018).

O Cr (VI) possui maior mobilidade do que o Cr (III) e geralmente é associado ao oxigênio com íons cromato ou dicromato. Também é mais solúvel em água, o que o torna mais bio disponível. O Cr (VI) pode ser transformado em Cr (III) sob condições ácidas sendo que este processo é favorecido em solos com uma alta proporção de matéria orgânica. O Cr (III) pode ser oxidado a Cr (VI) em ambientes oxigenados, sendo que em condições anóxicas apenas o Cr (III) está presente (Sinha et al., 2018).

A exposição de plantas ao cromo pode gerar efeitos adversos, sendo tóxico para a maioria das plantas agrônomicas em uma concentração de cerca de 0,5 e 5,0 mg/L em meio nutriente e 5 e 100 mg/g nas condições do solo. Em geral a concentração de Cr em plantas é inferior a 1mg/g (Sinha et al., 2018).

Poucos estudos estão presentes na literatura para ilustrar o caminho de absorção do Cr em plantas. Sabe-se que o estado de valência é um dos principais fatores que afetam o transporte de Cr dentro das células vegetais. O Cr é um elemento não essencial, sendo assim as plantas não possuem mecanismos ou transportadores específicos para sua absorção. O Cr (VI) pode ser reduzido a Cr (III) nas plantas, esse processo ocorre na superfície da raiz. Alguns autores sugerem que o Cr (III) forma compostos insolúveis em água em soluções aquosas não ácidas, tornando-se impermeáveis às biomembranas. Outros estudos mostram também que a absorção de Cr (VI) nas plantas ocorre sem sofrer redução. O Cr (VI) consegue penetrar nas plantas, pois se assemelham estruturalmente aos outros íons, entrando nas células através de portadores de ânions essenciais, como por exemplo, transportadores de sulfato e fosfato, no qual são nutrientes essenciais para as plantas (Sinha et al., 2018).

Assim como outros metais, a fitotoxicidade, bioacumulação e translocação para os brotos e folhas estão amplamente relacionadas com a espécie de planta, a especiação da substância, biodisponibilidade e a concentração de exposição. A exposição de plantas a altas concentrações de Cr está relacionada a diversos efeitos adversos, dentre eles, redução na germinação, alterações no crescimento, taxa de fotossíntese, atividade da redutase do nitrato e o conteúdo de proteína solúvel. A germinação das plântulas pode ser afetada devido à interferência do Cr nas atividades enzimáticas, como por exemplo, a amilase. O Cr afeta a produção de biomassa possivelmente devido ao desequilíbrio de nutrientes, resultando assim em um crescimento atrofiado e menor produção (Sinha et al., 2018).

Devido à similaridade do Cr a alguns oxianions essenciais, como por exemplo, sulfato e fosfato, o Cr pode afetar a nutrição mineral das plantas por meio da absorção competitiva por proteínas. Além de afetar o crescimento natural das plantas, o Cr pode alterar a produção de pigmentos fotossintéticos vitais (clorofila, antocianina). Também foi relatado que o Cr causa redução na disponibilidade de Ca e Mn, resultado assim na feofitinação das moléculas de clorofila. Altas concentrações de Cr (VI) em plantas e capaz de diminuir a absorção de elementos essenciais (Fe, K, Mg, Mn, P e Ca), podendo induzir efeitos tóxicos na atividade metabólica das plantas e na

translocação de nutrientes. O Cr tende a se acumular, na maioria das plantas, principalmente na raiz seguido por caules e folhas, sendo que pequenas quantidades de Cr são translocadas para as folhas (Sinha et al., 2018).

Algumas espécies de plantas podem ser mais tolerantes ao Cr que outras, a resposta ao estresse de Cr envolve uma rede de vias compartilhadas que estão envolvidas na desintoxicação de Cr, no qual ajudam na tolerância de Cr em certas espécies acumuladoras de Cr. Algumas vias celulares que estão envolvidas nesse processo são: sinalização de ROS, aumento do sistema antioxidante, produção de fitoquelatinas, fitosequestração e compartimentação diferencial que facilita a bioacumulação das células (Sinha et al., 2018).

1.2.11 FERRO

O ferro é o metal de transição mais abundante na crosta terrestre, sendo que em solos aerados o Fe é pouco biodisponível, pois está sempre na forma trivalente no qual se precipita formando hidróxidos e óxidos pouco solúveis que não estão disponíveis para a absorção pelas plantas. O Fe embora seja um micronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, pode em determinadas condições, ser absorvido e acumulado em concentrações consideradas tóxicas ao metabolismo vegetal (Jucoski et al., 2016). Para as plantas absorverem o ferro é necessário estratégias, como por exemplo, a redução do Fe (III), no qual se baseia na acidificação do apoplasto da raiz e rizosfera mediada por ATPases do tipo P. Está acidificação aumenta a solubilidade do Fe (III). Ocorrendo também a liberação de quelantes, onde posteriormente o Fe (III) quelado é reduzido para Fe (II). As cumarinas exsudadas também podem contribuir para a redução do Fe (III) no apoplasto. Após a redução o Fe^{2+} é transportado através da membrana plasmática das células rizodérmicas e corticais por proteínas da família ZIP. Outra estratégia utilizada por monocoiledôneas (gramíneas) inclui a síntese e liberação de fitosideróforos, no qual são ligantes metálicos pertencentes à família do ácido muginéico, facilitando assim a absorção de Fe^{3+} pelas raízes (Andresen et al., 2018).

A toxicidade do Fe em plantas pode causar ROS, devido a interferências com a fotossíntese, levando a elétrons mal transferidos (Andresen et al., 2018; de Lima et al., 2001). O Fe não é um elemento muito biodisponível, porém o estresse causado pelo Fe

pode ocorrer frequentemente em plantas como o arroz, onde a redução de Fe (III) a Fe (II) disponibiliza altas concentrações de Fe para essas plantas. Estudos mostram que testes com cultivares de arroz revelaram que cultivares mais resistentes apresenta maior atividade do sistema antioxidante e retêm mais Fe nas raízes, diminuindo assim a sua toxicidade nas folhas (Andresen et al., 2018).

Em plantas expostas a altas concentrações de Fe podem ocorrer folhas amarelas (diminuição no teor de clorofila), podendo ocorrer clorose, aumento na concentração de ROS e do sistema antioxidante, como uma resposta ao estresse causado pelo Fe. Em condições anaeróbicas, placas de Fe (depósitos de hidróxido férrico) acabam se formando nas superfícies das raízes na tentativa de neutralizar as altas concentrações de Fe. Porém essas placas acabam influenciando a absorção de outros nutrientes (Andresen et al., 2018). Podendo ocorrer amarelecimento e/ou bronzeamento das folhas e escurecimento das raízes, causar severas reduções no crescimento e na produtividade das plantas, além de causar desbalanceamento nutricional, estimulando a deficiência de alguns minerais essenciais tais como, P, Ca, K, Mg e Zn. A maioria dessas alterações nutricionais está ligada à formação da “placa de ferro” na superfície radicular. Essas placas de óxidos e hidróxidos de ferro possuem a capacidade de adsorver diferentes minerais e atuam como barreira à absorção de alguns nutrientes. Em contrapartida, a “placa de ferro” pode atuar como reservatório de alguns nutrientes, aumentando a absorção desses elementos durante períodos de deficiência no meio de crescimento (Jucoski et al., 2016).

Sendo assim os sintomas mais comuns que surgem nas plantas após absorção de altas quantidades de Fe são: redução no crescimento, manchas foliares de cor amarelo/amarronzada que evoluíam para lesões necróticas, diminuição da área foliar e escurecimento das raízes. A produção de massa seca também aumenta conforme o tempo, mesmo com a presença de concentrações tóxicas de Fe (Jucoski et al., 2016).

Jucoski et al., (2016), mostra em seu estudo que plantas jovens de *Eugenia uniflora* com grandes concentrações de Fe em seus tecidos apresentam elevação nos teores deste elemento em todas as partes da planta, principalmente nas raízes, apresentando bronzeamento foliar e escurecimento das raízes. O excesso de Fe reduziu todas as variáveis de crescimento, os teores de pigmentos cloroplastídicos e os teores de P, Zn, Cu e Mn. Além do efeito direto do excesso de Fe, a desordem nutricional resultante está associada aos efeitos restritivos sobre o crescimento vegetativo inicial das plantas de *Eugenia uniflora* L.

Em plantas aquáticas como jacinto d'água (*Eichhornia crassipes*), o Fe é considerado um transtorno porque interfere com a atividade econômica de pesca e recreacional do lago, mas, por outro lado a planta tem-se mostrado um ótimo organismo bioacumulador de metais pesados, incluindo ferro, podendo ser utilizado na despoluição do lago. Já as algas estão entre os organismos aquáticos utilizados como bioindicadores na monitorização de águas marinhas. Metais como, por exemplo, o ferro, procedentes de fontes industriais e da agricultura são frequentemente acumulados em níveis elevados nesses organismos. Estudos mostram pequenas variações sazonais nos níveis de metais pesados nas algas; para as amostras de água verificou-se aumento dos níveis dos metais para as amostras coletadas durante o verão (De Lima et al., 2001).

1.2.12 MANGANÊS

A biodisponibilidade do manganês é determinada pelo potencial de pH e redox. O manganês é absorvido pelas plantas como Mn^{2+} nas células epidérmicas ou corticais da raiz através de diversas proteínas transportadoras. Diante da semelhança físico-química com o Ca^{2+} o Mn^{2+} é capaz de permear canais de Ca^{2+} . Solos com condições alcalinas, oxidativas e bem aerados favorecem a formação de óxidos de Mn, como por exemplo, MnO_2 . Tendo em vista que a prevalência de íons Mn^{2+} aumenta com a diminuição do pH e em solos compactados ou alagados (Andresen et al., 2018).

As plantas absorvem o Mn somente na forma divalente. A toxicidade do Mn sobre as plantas pode afetar o crescimento das plantas, inibição do alongamento da raiz primária. A inibição da raiz pode estar associada ao transporte e síntese de auxina ou hidrólise do conjugado de auxina. Nas folhas o excesso de Mn pode causar clorose e necrose, manchas marrons distintas em folhas mais velhas e em particular no apoplasto da epiderme. Em algumas espécies a toxicidade do Mn pode estar relacionada a processos apoplásticos (processos de oxidação e redução). O Mn também é responsável pela inibição da fotossíntese e ao estresse oxidativo. A alta biodisponibilidade de Mn pode causar diminuição na absorção de Fe para os brotos das plantas, podendo causar clorose bem como a deficiência de Fe (Andresen et al., 2018).

1.2.13 MOLIBDÊNIO

O molibdênio em sua forma ativa é crucial para o metabolismo do nitrogênio e do enxofre, sendo assim de grande importância para as plantas. O Mo possui maior biodisponibilidade em solos alcalinos ($\text{pH} > 6,5$). Os efeitos adversos causados em plantas expostas a altas concentrações de molibdênio são: mudanças de cor nas folhas (vermelho/azul devido ao acúmulo de antocianina, ou amarelo, possivelmente relacionado à degradação da clorofila) (Andresen et al., 2018).

1.2.14 NÍQUEL

As informações sobre a absorção de níquel em plantas é escassa. Em procariotos, a absorção é mediada através de proteínas transportadoras de níquel/cobalto. O níquel em plantas é absorvido pelo sistema de captação de Fe, uma vez que este transportador possui uma gama de substratos para íons divalentes. Nas espécies hiperacumuladoras de Ni, o metal é sequestrado preferencialmente nas células epidérmicas (principalmente nos vacúolos), onde os íons de Ni^{2+} não interferem na fotossíntese e na respiração (Andresen et al., 2018).

Em plantas expostas a altas concentrações de Ni podem ocorrer os seguintes efeitos adversos: menor produção de biomassa, amarelecimento intervinal, inibição da formação da raiz lateral, clorose foliar e desequilíbrio de outros nutrientes. O mecanismo de toxicidade do níquel é principalmente através da ligação de íons Ni a grupos $-\text{SH}$ e interferências com proteínas e enzimas. O Ni pode interferir na fotossíntese, resultado em uma grande limitação da fotossíntese bem como ocasionar a diminuição do número de raízes laterais. O Ni pode ser encontrado em concentrações mais altas nas raízes do que nos brotos, sugerindo um bloqueio de transporte ativo na tentativa de proteger os tecidos fotossintéticos (Andresen et al., 2018).

1.2.15 SELÊNIO

O selênio é um elemento químico no qual é capaz de formar ligações com $-\text{C}$ diretas, ocorrendo assim uma variedade de compostos orgânicos essenciais para algumas espécies de organismos. O Selênio pode existir no solo principalmente na como selenato

(Se VI), selenito (Se IV) e formas orgânicas, embora o selênio elementar também ocorra dependendo do potencial redox do solo. As plantas conseguem absorver o Se como selenato, selenito ou compostos orgânicos, porém não conseguem absorver Se elementar coloidal ou selênios metálicos. Nas plantas o transporte de selenato ocorre através da membrana plasmática com o auxílio de transportadores de sulfato de alta afinidade, já o selenito é transportado por transportadores de fosfato ou entra nas células vegetais passivamente. Em pH mais baixo, o selenito é capaz de entrar nas células da raiz por meio de um canal da aquaporina (Hawrylak-Nowak, 2013).

Diante da exposição de plantas ao selênio este elemento químico pode exercer toxicidade, gerando diferentes efeitos adversos, como por exemplo, redução do crescimento (redução da biomassa e dos brotos), redução das áreas foliares, diminuição nos pigmentos fotossintéticos e aparecimento de clorose. Estudos mostram que o acúmulo de selênio nas partes aéreas de algumas espécies de plantas é maior quando em selenato ao invés de selenito, mostrando que o selenato acumula-se mais nos brotos do que o selenito. Sendo assim o selenato é mais facilmente transportado das raízes e acumulado nos brotos do que o selenito ou o selênio orgânico, devido o selenito ficar mais retido nas raízes, onde é rapidamente convertido em formas orgânicas (Hawrylak-Nowak, 2013).

1.2.16 ZINCO

O zinco é o segundo metal de transição mais abundante nos organismos sendo utilizado como cofator em todas as seis classes de enzimas. O único estado de oxidação biologicamente relevante é 2+. Bem como o Fe o Zn pode ser considerado o íon divalente livre, Zn^{2+} . A absorção de Zn^{2+} nas células da raiz das plantas é mediada principalmente por proteínas da família ZIP. As plantas utilizam como estratégia a liberação de ácido muginéico para a absorção do Fe(II), este mecanismo é capaz de absorver o Zn através de fitosideróforos no qual quela Zn^{2+} (Andresen et al., 2018).

Quando o Zn migra através das células da raiz, não está na sua forma livre, mas sim ligado a ligantes fortes, como por exemplo, a glutatona, metalotioneínas, dentre outros. O carregamento do xilema é realizado pela exportação ativa de Zn para fora do simplasto, mediada por membros da família de ATPases. No xilema ácido, o Zn pode

ser transportado em sua forma livre, porém ligado a ácidos orgânicos (Andresen et al., 2018).

A exposição de plantas a altas concentrações de Zn pode acarretar em redução do crescimento, necrose foliar, clorose foliar, devido à diminuição do conteúdo de clorofila, e até mesmo vermelhidão foliar, devido ao aumento da produção de antocianina. Embora o Zn^{2+} seja um elemento químico inerte redox, ele pode acabar induzindo ROS (Andresen et al., 2018).

1.3 MECANISMOS DE TOXICIDADE EM ANFÍBIOS

1.3.1 ALUMÍNIO

O alumínio é o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, porém não atinge altas concentrações em água neutra, devido sua baixa solubilidade. Entretanto em águas acidificadas a concentração do Al pode atingir níveis agudamente letais para os organismos, tendo em vista que sua solubilidade é aumentada. A toxicidade do Al para os anfíbios e outros organismos é complexa e depende de diversos fatores, como por exemplo, dureza, pH, estágio de desenvolvimento e espécies de anfíbios (Freda, 1991).

Os girinos recém-eclodidos são mais sensíveis à exposição ao Al, seguidos em sensibilidade por embriões e girinos mais velhos. Estudos sugerem que embriões expostos em água enriquecida com Al podem eclodir, porém as larvas tendem a morrer logo após a eclosão. Em embriões, a toxicidade do Al é altamente dependente do pH da água, sendo que em algumas espécies o Al é tóxico apenas em pHs muito baixos, enquanto para outras espécies a toxicidade só se torna evidente em pHs mais elevados. Este fato pode estar relacionado com a especiação do Al ou também com a competição entre o Al e o H^+ por sítios de ligação da membrana epitelial ou vitelina (Freda, 1991).

Alguns dos efeitos adversos observados através da exposição de embriões de anfíbios ao Al podem ser: em pHs muito baixos, os embriões podem parar de se desenvolver logo após a exposição inicial, chamada de mortalidade precoce. Já em pHs mais altos, os embriões podem se desenvolver normalmente porém a membrana vitelina falha em se expandir fazendo com que os embriões em alongamento se tornem fortemente contraídos. Tendo em vista que a principal causa de mortalidade em

