



FUNDAÇÃO  
**renova**

**PLANO DE TRABALHO**

NOVA FASE DO MONITORAMENTO DA BIODIVERSIDADE AQUÁTICA NA REGIÃO DULCÍCOLA,  
COSTEIRA E MARINHA DO ESPÍRITO SANTO

Janeiro/2024

## RESUMO

Este documento apresenta as diretrizes de execução do escopo atualizado da Nova Fase do Monitoramento da Biodiversidade Aquática, considerando a porção do estado do Espírito Santo, e abrangendo os ambientes Dulcícola, Costeiro e Marinho. Este Plano de Trabalho tem como objetivo principal consolidar as atualizações do escopo técnico do monitoramento e fornecer o detalhamento necessário para a elaboração de propostas de execução do monitoramento via edital de pesquisa. O documento apresenta os critérios utilizados na otimização da malha amostral e do escopo, e aponta as metodologias de coleta e análise a serem implementadas a partir das amostras e informações de interesse.

Palavras-chave: Biodiversidade aquática, rio Doce, monitoramento.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	2
1. APRESENTAÇÃO.....	5
2. PREMISSAS .....	5
3. DESCRIÇÃO DO ESCOPO DO PLANO DE TRABALHO .....	1
3.1. AMBIENTE DULCÍCOLA.....	1
3.1.1. ÁGUA.....	3
3.1.2. SEDIMENTO.....	4
3.1.3. MACRÓFITAS.....	5
3.1.4. FITOPLÂNCION.....	6
3.1.5. ZOOPLÂNCION.....	6
3.1.6. PERIFÍTON.....	7
3.1.7. MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS.....	8
3.1.8. ICTIOFAUNA.....	8
3.1.9. ICTIOPLÂNCION.....	9
3.1.10. ECOTOXICOLOGIA - BIOTA.....	10
3.1.11. ENSAIOS DE TOXICIDADE.....	11
3.2. AMBIENTE COSTEIRO.....	13
3.2.1. ÁGUA.....	14
3.2.2. BENTOS DE PRAIA – BIOTA.....	16
3.2.3. SEDIMENTO PRAIAL.....	16
3.2.4. MANGUEZAL.....	17
3.2.4.1. SEDIMENTO.....	18
3.2.4.2. FAUNA.....	19
3.2.4.3. FLORA.....	20
3.2.5. RESTINGA.....	21
3.2.5.1. INVENTÁRIO FLORÍSTICO.....	21
3.2.5.2. MONITORAMENTO ECOFISIOLÓGICO DA VEGETAÇÃO DE RESTINGA.....	21
3.2.5.3. SEDIMENTO.....	22
3.2.6. ECOTOXICOLOGIA – BIOTA.....	23
3.2.7. AVES – ECOTOXICOLOGIA.....	24
3.3. AMBIENTE MARINHO.....	26
3.3.1. ÁGUA.....	28
3.3.2. SEDIMENTO.....	29
3.3.3. FITOPLÂNCION E BACTERIOPLÂNCION.....	30
3.3.4. ZOOPLÂNCION.....	31
3.3.5. ICTIOPLÂNCION.....	31
3.3.6. BENTOS DE FUNDOS INCONSOLIDADOS.....	32
3.3.7. CARCINOFAUNA.....	32
3.3.8. ICTIOFAUNA.....	33
3.3.9. RECRUTAMENTO ICTIOFAUNA.....	34
3.3.10. ECOTOXICOLOGIA – BIOTA.....	34
3.3.11. ENSAIOS DE TOXICIDADE.....	36
3.3.12. FUNDOS RECIFAIS.....	37
3.3.13. TARTARUGAS MARINHAS.....	37
3.3.14. TARTARUGAS MARINHAS - ECOTOXICOLOGIA.....	38
3.3.15. MONITORAMENTO REMOTO DA MEGAFUNA.....	39

<b>4. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>40</b>
<b>5. CRONOGRAMA</b> .....	<b>1</b>
<b>6. EQUIPE TÉCNICA</b> .....	<b>3</b>
<b>ANEXO I - MALHA AMOSTRAL CONSOLIDADA</b> .....	<b>1</b>
<b>ANEXO II – PARÂMETROS ECOTOXICOLÓGICOS ANALISADOS</b> .....	<b>10</b>

## 1. APRESENTAÇÃO

Este documento foi produzido pela Fundação Renova visando a apresentação de diretrizes para a manutenção do monitoramento da Biodiversidade Aquática no contexto da reparação. Para a construção do escopo aqui apresentado, foram definidos alguns critérios e premissas considerando as discussões técnicas realizadas entre a Fundação Renova, empresas mantenedoras e a Câmara Técnica de Conservação e Biodiversidade (“CT-Bio”), além dos resultados dos monitoramentos do PMBA realizados pela FEST (Fundação Espírito Santense de Tecnologia) e UFES (Universidade Federal do Espírito Santo) na porção capixaba em atendimento à Cláusula 165, alínea III, do Termo de Transação e de Ajustamento de Conduta (“TTAC”).

Nesse contexto, o Plano de Trabalho direciona a execução do escopo da Nova Fase do Monitoramento da Biodiversidade Aquática na região Dulcícola, Costeira e Marinha do Espírito Santo (“Nova Fase do Monitoramento”), que objetiva promover o acompanhamento de parâmetros físicos, químicos, biológicos e componentes ecológicos relacionados à biodiversidade aquática ao longo do tempo, contemplados direta ou indiretamente nas ações de reparação e compensação realizadas na região dulcícola capixaba, foz do rio Doce, e região costeira e marinha de influência do Rio Doce, considerando as séries históricas produzidas e validadas anteriormente, para subsidiar as discussões a respeito das tendências ecológicas que serão investigadas.

## 2. PREMISSAS

Para a execução da Nova Fase do Monitoramento, foram estabelecidas premissas acordadas conforme Deliberação CIF nº 726/2023. Dentre as premissas estão o uso de metodologias acreditadas, sempre que possível, e a necessidade de estabelecimento de critérios de validação de dados (QA/QC). Os dados brutos validados devem ser entregues de forma contínua e disponibilizados após fluxo de validação com os órgãos ambientais. Na próxima seção, será apresentado o escopo técnico da Nova Fase do Monitoramento, assim como a nova malha amostral proposta, a qual visará a integração entre os meios físico e biótico considerando as contribuições dos programas de monitoramento anteriores (PMBA, PMQQS e Plano de Manejo de Rejeitos). As entregas serão medidas pelo fornecimento dos laudos laboratoriais, relatórios de atividades de campo e laboratório (processamento das amostras) e fornecimento dos dados brutos validados em formato Excel ou similar. A seguir, algumas especificidades das premissas estabelecidas são apresentadas:

**Abordagem da Nova Fase do Monitoramento:** o escopo do monitoramento envolve o acompanhamento de tendências sobre as comunidades bióticas e seus ecossistemas. Os dados deverão ser apresentados em portal público após validação de QA/QC, em fluxo a ser definido, com disponibilidade de download de chaves selecionadas.

**Área de abrangência:** os impactos na biodiversidade potencialmente associados ao rompimento da barragem de Fundão estão localizados na região da foz e área costeira e marinha de influência do rio Doce. A Nova Fase do Monitoramento deverá ter seu limite norte na região de Itaúnas, enquanto a Área de Proteção Ambiental Costa das Algas (APA Costa das Algas) estabelece o limite sul, de maneira que possibilite o acompanhamento da evolução dos parâmetros sobre influência da bacia do rio Doce. Adicionalmente, a abrangência espacial também considerará a distância de até 25km da costa em pontos cuja profundidade seja inferior a 40m. As exceções à essa regra são pontos dentro da APA Costa das Algas, que podem ter distância superior a 25km de distância da costa e profundidade superior a 40m, desde que estejam dentro da unidade de conservação. Esses parâmetros foram definidos tendo como base os estudos elaborados pelo Programa de Manejo de Rejeitos, principalmente a modelagem aprovada pela Câmara Técnica de Gestão de Rejeitos e Segurança Ambiental (“CT-GRSA”) conforme Deliberação CIF nº 527, de 06 de agosto de 2021, realizada por COPPETEC (20209– para área de maior ocorrência de variações dos parâmetros ecológicos de recuperação – e nas análises de campo realizadas por Golder (2016), que avaliou locais de deposição de lama e rejeitos. Esta área de abrangência possibilitará o acompanhamento das ações do Plano de Ação Integrado para a Recuperação e Conservação da Biodiversidade Aquática da Bacia do Rio Doce e dos Ambientes Costeiro e Marinho (PAI Biodiversidade Aquática – em construção).

**Frequência amostral:** para os ecossistemas marinho e costeiro, será mantida a frequência amostral praticada pelo PMBA. Especificamente para o ambiente dulcícola, a variação observada nos dados permite que a Nova Fase do Monitoramento seja representada por acompanhamentos trimestrais para a maioria dos temas (a única exceção é o tema Ecotoxicologia).

**Principais indicadores:** enfoque em indicadores ecológicos, a níveis de populações e comunidades, e em indicadores ecotoxicológicos relacionados à biodiversidade aquática. Em relação aos indicadores ecotoxicológicos, todos os dados relacionados ao tema Ecotoxicologia, produzidos pelo Programa de Monitoramento Quali-Quantitativo de Água e Sedimento (“PMQQS”), deverão ser integrados aos dados produzidos durante esta Nova Fase do Monitoramento, a fim de subsidiar futuras discussões e interpretações dos dados gerados.

**Comunidades e ecossistemas a serem monitorados:** a biodiversidade aquática será monitorada contemplando os ambientes dulcícola, costeiro e marinho, ressalvadas situações de força maior ou caso fortuito. No ambiente dulcícola, serão monitorados: macrófitas, fitoplâncton, zooplâncton, perifíton, macroinvertebrados bentônicos, ictiofauna e ictioplâncton. No ambiente costeiro, serão monitorados: a comunidade bentônica praial, a carcinofauna e a flora dos manguezais e a flora da restinga. No ambiente marinho, o monitoramento compreenderá: fitoplâncton, zooplâncton, ictioplâncton, bentos de fundo inconsolidado submersos, carcinofauna, ictiofauna, recrutamento da ictiofauna e fundos recifais. Também na região costeira e marinha, serão monitorados grupos de

vertebrados ameaçados de extinção, cujas populações residem ou dependem de áreas impactadas para a reprodução, como é o caso de algumas aves marinhas residentes, das toninhas e das tartarugas marinhas. Em todos os ambientes serão realizadas análises ecotoxicológicas da biota.

**Metodologia utilizada:** com a finalidade de realizar o acompanhamento ao longo do tempo de parâmetros físicos, químicos, biológicos e de componentes ecológicos, as metodologias para coleta de dados serão baseadas nos procedimentos verificados no âmbito do PMBA. As análises dos dados serão focadas na avaliação de tendências e variações históricas e, sempre que possível, serão planejadas para que possam ser comparadas com o maior número possível de dados validados já existentes. Com base no conjunto de dados já fornecidos pelo PMBA, adequações da malha amostral foram realizadas para a presente proposta, conforme as delimitações descritas no tópico “Área de abrangência”.

**Integração com o PMQQS:** no intuito de otimizar as amostragens e análises qualitativas e quantitativas de água e sedimento, será realizada a integração de dados entre a Nova Fase do Monitoramento e o PMQQS, que já realiza coletas mensais destes parâmetros desde julho de 2017. O PMQQS é um Programa de caráter permanente, e possui um rigoroso sistema para a garantia e controle de qualidade (QA/QC). Deste modo, sem nenhum comprometimento da qualidade de informações, as coletas sobre tais temáticas serão realizadas pelo PMQQS, e as informações serão compartilhadas para possíveis análises e integração com os dados gerados pela Nova Fase do Monitoramento. Uma vez que o PMQQS realiza coletas nas mesmas áreas de interesse, fornecendo uma robustez de informação muito maior para os parâmetros de qualidade de água e sedimentos, a Nova Fase do Monitoramento utilizará essas informações para as correlações que se fizerem necessárias. Entretanto, para garantir a integração dos dados do PMQQS, será realizada a coleta de água e sedimento no escopo da Nova Fase do Monitoramento durante o primeiro ano e, após esse período, será avaliada a necessidade ou não de sua continuidade. Para as áreas e ambientes de interesse desta Nova Fase do Monitoramento não contemplados pelo PMQQS, as coletas de água e sedimento seguirão as mesmas metodologias e critérios de Garantia e Controle da Qualidade (QA/QC) do PMQQS (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), em sua versão mais atualizada, seguindo as mesmas premissas de controle de amostragem e validação das informações.

**Divulgação:** é imprescindível que o monitoramento da biodiversidade também torne os dados gerados públicos, como forma de fortalecer a transparência das informações geradas. Para operacionalizar essa iniciativa, que tem por objetivo permitir que os diversos interessados tenham amplo acesso aos dados do monitoramento da biodiversidade e às informações geradas a partir dos dados, é fundamental o envolvimento de profissionais de comunicação, com alguma experiência no tema de comunicação de dados técnicos, além de equipe de TI e especialistas da área de análise de dados de biodiversidade. O portal *web* deverá ter endereço próprio, como o Portal de Monitoramento Hídrico ([www.monitoramentoriodoce.org](http://www.monitoramentoriodoce.org)); que não tenha nome vinculado ao domínio da Fundação Renova

([www.fundacaorenova.org](http://www.fundacaorenova.org)), e o acesso para visualização dos dados e informações deve ser livre, sem solicitação de cadastro. O processo de construção do portal seguirá os mesmos moldes do PMQQS, com a ampla participação e parceria com os membros da CT-Bio, para definição das premissas e conteúdo a ser disponibilizado. Neste sentido, o Grupo de Trabalho para Acompanhamento (“GTA”) da Nova Fase do Monitoramento poderá, também, acompanhar o trabalho de construção do portal.

**Análise integrada:** para promover evolução no modo de explorar os dados e permitir o acompanhamento dos objetivos de reparação de uma forma dinâmica, simplificada e acessível, mas sem excluir a possibilidade de responder demandas específicas que venham a ser importante para os órgãos ambientais no processo de gestão, dois formatos de apresentação dos resultados são consideradas: (1) contínua, via portal e com séries históricas cumulativas, e (2) periódica, apresentando extrapolações das métricas para o período estudado.

O acompanhamento contínuo (1) se dará por meio do Portal de Monitoramento da Biodiversidade. No portal, será possível acompanhar as concentrações dos principais parâmetros físico-químicos e os seus limites na Resolução CONAMA 357/2005, bem como os índices já calculados nos relatórios do PMBA/FEST (IBR Biomarcadores e IBR Bioacumulação). Novos índices que possam futuramente ser propostos serão calculados também para os dados de todo o histórico de monitoramento, permitindo sua contextualização e acompanhamento ao longo das campanhas. Além disso, serão apresentadas métricas ecológicas acerca da estrutura das populações e comunidades, bem como o monitoramento de táxons indicadores de alterações ambientais e variabilidade da diversidade funcional. Todos os indicadores apresentados, se possível, serão analisados para toda a série histórica. O portal deverá ser construído com linguagem e cores acessíveis à população geral, a partir de ferramentas atrativas de apresentação de conteúdo, dentro da possibilidade de cada área de estudo.

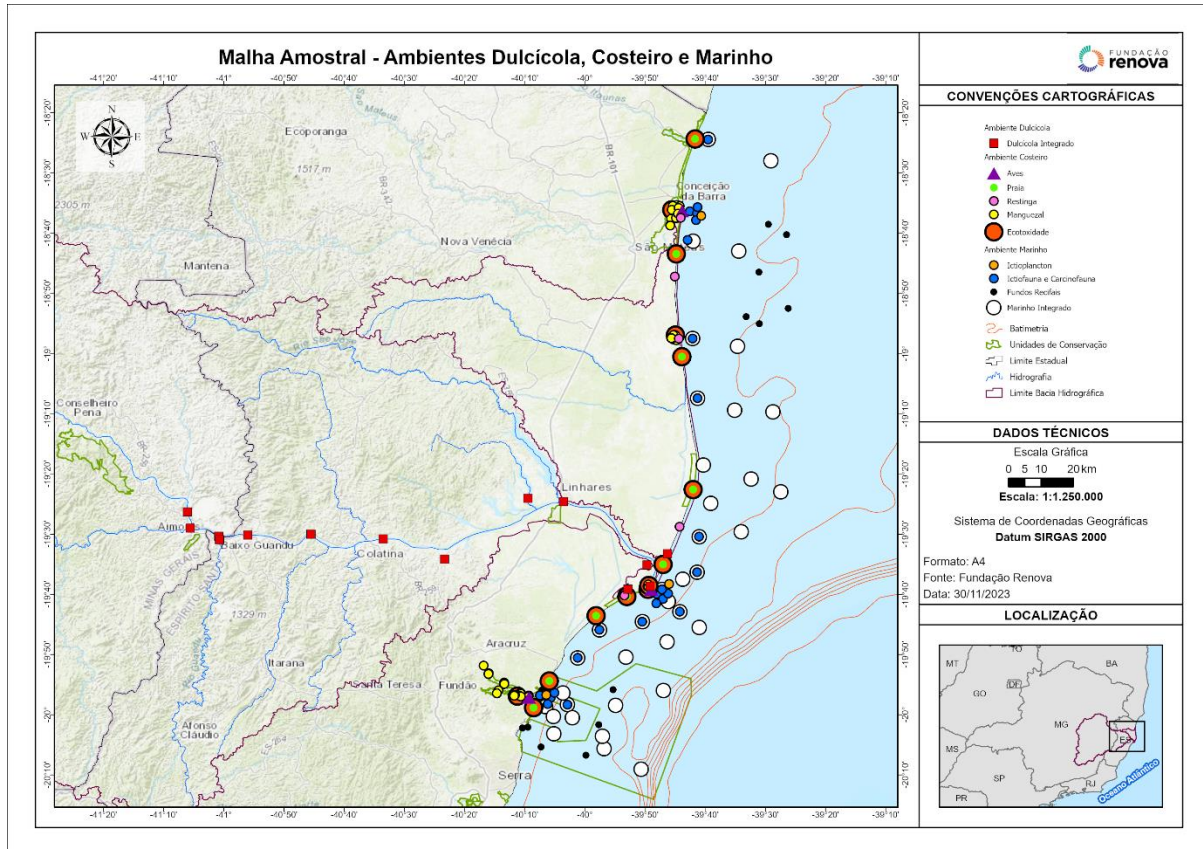
Já o acompanhamento periódico (2) será realizado via boletim informativo de publicação semestral sobre os principais resultados obtidos pela Nova Fase do Monitoramento, gerados a partir da interpretação dos dados da biodiversidade e de seus habitats para o respectivo período. Serão destacadas as extrapolações de concentração dos principais parâmetros físico-químicos e os seus limites na Resolução CONAMA 357/2005. Também, serão apresentados os resultados dos índices já calculados nos relatórios do PMBA/FEST (IBR biomarcadores e IBR Bioacumulação), bem como métricas ecológicas acerca da estrutura das populações e comunidades, e o monitoramento de táxons indicadores alterações ambientais e variabilidade da diversidade funcional. Nesse caso, serão destacadas alterações no padrão histórico de cada métrica. Este boletim deverá apresentar uma análise integrada de todas as matrizes ambientais monitoradas de forma resumida, indicando as principais alterações observadas no período estudado. Para a construção do boletim, deve ser considerado cada tipo de ambiente monitorado: ambiente dulcícola (rios e lagoas), marinho, e costeiro (manguezais, restinga e praia). Por fim, deve ser construído com linguagem e cores acessíveis à população geral, a partir de ferramentas

atrativas de apresentação de conteúdo (infográficos, mapas, esquemas, fluxogramas, etc.), considerando dados sobre os grupos faunísticos e florísticos de interesse. Essa proposta, tem como referência os Boletins de Qualidade da Água, publicados no site da Fundação Renova ([www.fundacaorenova.org/agua/boletins-de-qualidade-da-agua/#area1](http://www.fundacaorenova.org/agua/boletins-de-qualidade-da-agua/#area1)).

Durante o primeiro ano, ainda será realizado um relatório analítico semelhante em formato/conteúdo ao modelo atual, mas com a necessidade de considerar que se trata de um acompanhamento de tendências onde os resultados serão comparados com seu referencial histórico e levando em consideração a otimização de escopo aplicada. Será avaliada a necessidade de continuidade desse modelo dentro da revisão anual planejada, visto que o Boletim poderá substituí-lo.

**Coletas emergenciais:** na ocorrência de eventos climáticos extremos (*e.g.* picos de pluviosidade e vazão hídrica, marés extremas e eventos de ressaca) e acidentes ambientais, coletas adicionais poderão ser realizadas para acompanhar o ambiente após estes fenômenos. Os critérios para enquadramento e classificação de eventos extremos devem acompanhar os gatilhos monitorados no PMQQS (aprovados pela deliberação CIF 17/2016), podendo ser complementados considerando os dados meteoceanográficos e simulações disponíveis. Em eventos extremos com fonte continental, as malhas amostrais dos ambientes dulcícola, costeiro e marinho deverão ser monitoradas e, para eventos de fonte oceânica, as malhas dos ambientes marinhos e costeiro deverão ser acompanhadas. As coletas emergenciais devem ter como foco os organismos mais suscetíveis às mudanças abruptas no ambiente e, para o ambiente dulcícola, devem ser realizadas nas estações que possuem monitoramento automático pelo PMQQS. Diante da não cobertura do PMQQS na região costeira e marinha, correspondente à malha deste monitoramento, critérios de acionamento precisam ser claramente estabelecidos. Demais detalhamentos e premissas destes acionamentos serão discutidos pelo GTA, sendo reavaliados nas revisões anuais.

Na Figura 1 é apresentada a espacialização da malha amostral proposta para a Nova Fase do Monitoramento, contemplando os ambientes e as localidades de interesse. As coordenadas dos pontos/estações amostrais estão listadas na Tabela 5, no Anexo I. Cada ambiente (dulcícola, costeiro e marinho) será detalhado individualmente ao longo da proposta.



**Figura 1.** Mapa de distribuição das estações amostrais dos ambientes de interesse.

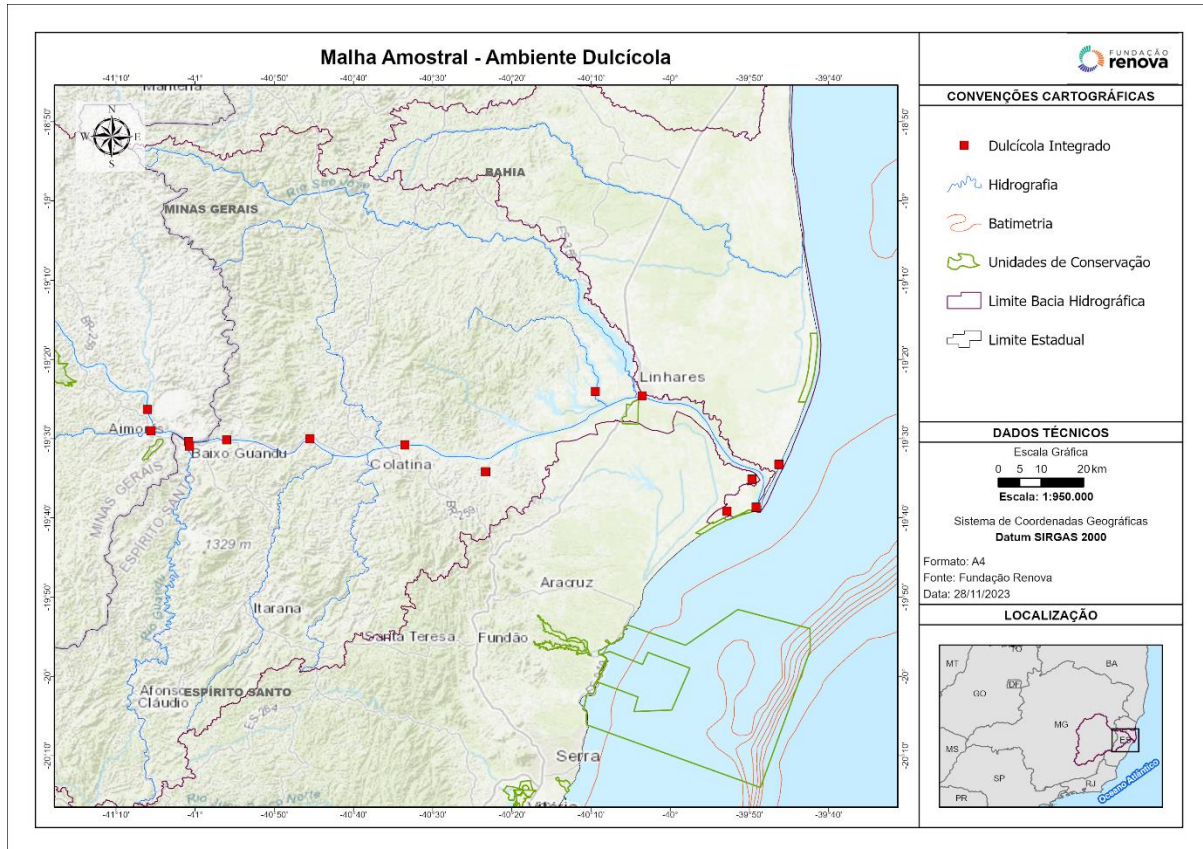
### 3. DESCRIÇÃO DO ESCOPO DO PLANO DE TRABALHO

#### 3.1. AMBIENTE DULCÍCOLA

Serão amostrados 14 pontos/estações seguindo a malha atual do PMQQS: cinco pontos na calha do rio Doce, dois em tributários (Manhuaçu e Guandu), dois em reservatórios (Aimorés e Mascarenhas), e cinco nas lagoas (Lagoa do Areal, Lago do Limão; Laguna Monsarás, Lagoa Nova e Lagoa Cacimbas), além de dois pontos para a malha exclusiva do tema Ensaios de Toxicidade. Desses 14 pontos, apenas o ponto na Lagoa Cacimbas não faz parte do escopo do PMQQS, e deverá passar por revisão integrada junto à revisão programada do PMQQS para definição sobre a manutenção desta localidade, seja a partir da inclusão na malha amostral do PMQQS ou exclusão do ponto no âmbito da Nova Fase do Monitoramento. Todos os temas serão coletados em todos os pontos, de acordo com a frequência estabelecida, exceto o tema Ensaios de Toxicidade, que compartilha apenas dois pontos com a malha proposta. Desse modo, os outros dois pontos da malha desse tema são exclusivos, visando a manutenção do histórico de resultados. A coleta do tema Ecotoxicologia deverá estabelecer o marco em que todos os temas devem coletar simultaneamente (Tabela 1 e Figura 2).

**Tabela 1.** Esforço amostral dos diferentes temas para o ambiente dulcícola.

TEMAS	PONTOS	FREQUÊNCIA
ÁGUA E SEDIMENTO	<b>14</b>	Trimestral
MACRÓFITAS		
FITOPÂNCTON		
ZOOPLÂNCTON		
PERIFÍTON		
ICTIOPLÂNCTON		
ICTIOFAUNA		
MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS		
ECOTOXICOLOGIA – BIOTA		Semestral
ENSAIOS DE TOXICIDADE	<b>4</b>	Semestral



**Figura 2.** Mapa de distribuição das estações amostrais do ambiente dulcícola na Bacia do Rio Doce.

A fim de garantir um melhor controle de qualidade dos parâmetros coletados e analisados, as amostras que envolvem água deverão ser coletadas sempre antes das coletas de amostras de sedimentos e, por último, a coleta de material biológico. Além disso, deve-se seguir a seguinte ordem: amostra para parâmetros microbiológicos → amostras que não podem sofrer aeração → amostras para análises químicas (exceto metais) → amostras para metais dissolvidos → amostras para metais totais → amostras para parâmetros ecotoxicológicos → amostras das comunidades biológicas.

As amostras coletadas pelas equipes da Nova Fase do Monitoramento deverão ser manuseadas e armazenadas conforme as recomendações de preservação, além de contar com identificação adequada e cadeias de custódia ou fichas de campo preenchidas corretamente, com data e horário do recolhimento, além das condições de preservação, acondicionamento e temperatura. Durante o transporte, os responsáveis devem assegurar que as amostras sejam entregues ao laboratório ou instituição parceira sem danos materiais ou físico-químicos, que possam vir a afetar a qualidade analítica e a obtenção de informações de interesse. O compromisso com a conformidade das amostras e de todos os processos envolvendo o monitoramento será de responsabilidade das equipes técnicas designadas para cada linha (ou tema) em execução, e quaisquer intercorrências deverão ser comunicadas imediatamente à Fundação Renova.

### 3.1.1. ÁGUA

#### *Coleta*

As coletas de água deverão ser realizadas a partir da malha amostral disponível para o ambiente (14 pontos), em frequência trimestral. Para cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura da amostra, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez. As coletas deverão seguir as recomendações da ANA & CETESB (2012) e ABNT NBR-15469:2015, de acordo com as diretrizes apresentadas no Capítulo 3 do documento de revisão bianual do PMQQS (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), ou suas atualizações. A seguir uma breve descrição.

O volume de água em cada amostra deverá ser de 250 mL, e cada réplica contará com acidificação a um volume de 3,5 mL de ácido nítrico Suprapur 65%. As amostras de água deverão ser coletadas com o uso de garrafa de Van Dorn de fluxo horizontal, em tamanho adequado às amostragens, e garrafa de Ninskin de fluxo vertical, em tamanho adequado às amostragens em lagoas. Para estações amostrais em ambientes lóticos, a coleta de água superficial deverá ser realizada com garrafa de fluxo horizontal, a 0,30 m de profundidade, voltando-se para montante. Nas lagoas e lagunas, a profundidade máxima do ponto determinará o número de amostras de água a serem coletadas. A aferição da profundidade total deve ser feita com equipamento acústico.

Para os pontos com profundidade igual ou inferior a 3m, será coletada apenas uma amostra de água na subsuperfície (profundidade I) a 0,5m abaixo da superfície. Para os pontos com profundidades maiores que 3m, serão realizadas, no máximo, 3 coletas: (a) Profundidade I (Subsuperficial): coleta a 0,5m abaixo da superfície; (b) Profundidade II (1% da Radiação Fotossintética Ativa - RFA): determinada pela multiplicação da profundidade de transparência (disco) de Secchi por 3 (três); (c) Profundidade III (Fundo): 0,5m acima do fundo. Antes da coleta da amostra na Profundidade III, a profundidade total deverá ser verificada para garantir que perturbações ocasionadas pela movimentação do barco não tenham acontecido.

Para cada profundidade, todas as amostras deverão ser armazenadas adequadamente, em garrafas limpas, identificadas, compatíveis com a amostragem, e devidamente preservadas até o seu processamento.

#### *Análise*

Em amostras de água, deverão ser analisadas, na fração total e dissolvida, a presença de metais e metaloides, sendo eles: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), boro (B), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), estrôncio (Sr), fósforo (P), ferro (Fe), molibdênio

(Mo), manganês (Mn), níquel (Ni), selênio (Se), vanádio (V), e zinco (Zn); sempre com a utilização de metodologias de preparo acreditadas relacionadas à técnica de interesse.

As amostras também deverão ser analisadas quanto aos parâmetros: microbiota total, especiação de Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup>, alcalinidade total, cálcio (rios e lagoas), carbono orgânico total e dissolvido, cianeto livre (rios e lagoas), cloreto total (rios e lagoas), clorofila-*a* e feoftina, *Escherichia coli*, fosfato, fósforo, magnésio (rios e lagoas), nitrato, nitrito, mercúrio, nitrogênio amoniacal total, nitrogênio Kjeldahl total, nitrogênio orgânico (rios e lagoas), condutividade elétrica, cor verdadeira (rios e lagoas), demanda biológica de oxigênio (DBO) (rios e lagoas), oxigênio dissolvido (OD), pH *in situ* e em laboratório, temperatura ambiente (rios e lagoas), dureza total, temperatura da água, transparência da água (lagoas), turbidez *in situ* e no laboratório, potencial redox, profundidade, polifosfatos, potássio dissolvido, sódio dissolvido, sódio total (rios e lagoas), sólidos dissolvidos e suspensos totais, sólidos sedimentáveis (rios e lagoas), sólidos totais (rios e lagoas), sulfato, sulfeto com H<sub>2</sub>S não dissociado e sulfeto total (rios e lagoas). Os valores de referência deverão ser analisados de acordo com os limites dispostos pela resolução CONAMA n° 357/2005.

### 3.1.2. SEDIMENTO

#### *Coleta*

As coletas de sedimento deverão ser realizadas a partir da malha amostral disponível para o ambiente (14 pontos), em frequência trimestral. Para as coletas de sedimento, as amostras deverão ser coletadas com o uso de pegador de fundo do tipo Van Veen ou equipamento equivalente. As amostras deverão ser coletadas de acordo com as especificações contidas no item 3.2.2.3 do documento de Revisão Bianual do PMQQS (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), contemplando o sedimento da superfície (minimamente, os 5 cm superiores).

A massa de sedimento a ser coletada por amostra deverá ser de, no mínimo, 250g, considerando recipientes suficientes para a expansão do material no congelamento. As coletas deverão seguir deverão seguir as recomendações da ANA & CETESB (2012) e ABNT NBR-15469:2015, de acordo com as diretrizes apresentadas no Capítulo 3 do documento de revisão bianual do PMQQS (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023). Todas as amostras deverão ser adequadamente armazenadas e devidamente preservadas e identificadas até o momento de seu processamento. As amostras deverão ser preparadas de acordo com a metodologia EPA 3051A ou EPA 3050B).

#### *Análise*

Em amostras de sedimento, deverão ser analisadas na fração total e na fração biodisponível a presença de metais, metaloides e ametais, sendo eles: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba),

berílio (Be), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), estrôncio (Sr), ferro (Fe), fósforo (P), mercúrio (Hg), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), titânio (Ti), selênio (Se), vanádio (V) e zinco (Zn).

As amostras também deverão ser analisadas quanto aos parâmetros: microbiota total, especiação de As+3 e As+5 (análise semestral – uma análise para a campanha chuvosa, em janeiro, e uma análise para a campanha seca, em agosto ou setembro), carbono orgânico total, fenóis, fósforo total, metilmercúrio (em análise semestral), nitrogênio Kjeldahl total, pH, potencial de oxi-redução (ORP), sólidos (%), silício, teor de umidade (%), distribuição granulométrica (%), bifenilas policlorados (PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Os valores de referência deverão ser analisados de acordo com os limites dispostos na Resolução CONAMA nº 454/2012, quando cabível.

### **3.1.3. MACRÓFITAS**

#### *Coleta*

As coletas de macrófitas deverão ser realizadas trimestralmente, em 14 estações amostrais, a partir de lançamentos aleatórios de um quadrado de 1 m<sup>2</sup>, em cada estação. As estações amostrais e seus lançamentos deverão ser estabelecidas em ambientes lóticos – nas duas margens; e em ambientes lênticos – somente em uma das margens. As plantas que contenham espécimes férteis deverão ter suas amostras coletadas em triplicata, sempre que possível.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análise*

Os espécimes coletados deverão ser triados e identificados a partir de técnicas e bibliografias científicas específicas. Deverão ser analisados parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância, densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), dominância (Simpson), biomassa e composição de espécies; diferenças espaço-temporais apresentadas pelos indicadores ecológicos; fenologia reprodutiva; e a presença de metais e metaloides em raízes e folhas de espécies indicadoras, sendo eles: alumínio (Al), bário (Ba), cádmio (Cd), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), vanádio (V) e arsênio (As).

### 3.1.4. FITOPLÂNCTON

#### *Coleta*

Para a comunidade fitoplânctônica, deverão ser realizadas amostragens trimestrais, em 14 estações amostrais na calha dos rios e nos ecossistemas lacustres. As coletas para análises quali-quantitativas serão feitas na superfície e, para aqueles ecossistemas lacustres com profundidade que excedam 3 metros, também serão coletadas amostras na profundidade de 1% da RFA (ponto de compensação da luz – PC). A determinação da profundidade de 1% da RFA será obtida pela multiplicação da profundidade de transparência (disco) de Secchi por 3 (três). Para as amostras qualitativas, será utilizado o método do arrasto superficial com rede de plâncton de abertura de malha de 20 $\mu$ m, na subsuperfície (aproximadamente 20cm de profundidade), sendo uma amostra por ponto amostral. Para o PC, amostras serão coletadas com garrafa de Van Dorn e filtradas em rede de plâncton. Para o estudo quantitativo do fitoplâncton na calha dos rios, serão coletadas amostras de 100mL de água em cada estação amostral, submergindo o frasco a 20 cm de profundidade e no PC (se for o caso). O material coletado para análises qualitativas deverá ser armazenado em frascos de vidro âmbar (100mL) e fixadas com solução de lugol acético 5%.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análise*

Deverão ser analisados parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância, densidade (fitoplâncton e cianobactérias), riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), dominância (Simpson), equitabilidade (Pielou) e biomassa (concentração de clorofila-*a*).

### 3.1.5. ZOOPLÂNCTON

#### *Coleta*

As coletas deverão ser realizadas trimestralmente em 14 estações amostrais, contemplando ecossistemas aquáticos do baixo rio Doce, como sistemas lacustres (lagos e lagoas) e reservatórios. As amostras destes ambientes deverão ser coletadas em zona litoral (apenas em ambientes lacustres) e limnética (perfil vertical de atenuação luminosa, em todos os ecossistemas). Cada amostragem deverá ser realizada a partir de arrastos horizontais e oblíquos com rede de plâncton compatível, e o conteúdo obtido deverá ser tratado e preservado de acordo com técnicas e procedimentos adequados para estudos com esses organismos.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

### *Análise*

As amostras deverão ser triadas, identificadas e os indivíduos deverão ser contabilizados, e as amostras processadas de acordo com o tipo de análise prevista. Deverão ser realizadas estimativas de densidade e recrutamento, análises de riqueza (taxonômica e funcional) e biomassa do zooplâncton, e determinação da diversidade funcional e da diversidade beta. A avaliação da variação da estrutura da comunidade zooplancônica deverá ser realizada a partir dos resultados disponíveis, e de influências de conjuntos de variáveis temporais, espaciais e ambientais.

## **3.1.6. PERIFÍTON**

### *Coleta*

As coletas de perifíton deverão ser realizadas trimestralmente em 14 estações amostrais, contemplando ecossistemas aquáticos do baixo rio Doce, como sistemas lacustres (lagos e lagoas) e reservatórios. Nos ambientes lóticos, as coletas de perifíton serão realizadas nas margens das estações amostrais. Já para as estações dos ambientes lênticos, deverão ser realizadas coletas na região litorânea. Em cada estação amostral, 3 tipos de substratos serão coletados: seixos, macrófitas aquáticas fixas (enraizadas), e macrófitas aquáticas flutuantes.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

### *Análise*

Além de análises taxonômicas, deverão ser analisados parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância, densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), dominância (Simpson), equitabilidade (Pielou) e biomassa (concentração de clorofila-*a*), além do peso seco (PS) e peso seco livre de cinzas, e contribuição relativa (%) de matéria inorgânica.

### **3.1.7. MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS**

#### *Coleta*

As coletas deverão ser realizadas trimestralmente em 14 estações amostrais, nos trechos de rios e lagos estabelecidos, e deverão contemplar no mínimo três amostras de sedimentos. As amostras deverão ser coletadas com amostradores do tipo draga de Petersen e Eckman. Também, deverão ser aplicados protocolos de classificação rápida de condições ecológicas de habitats nos ambientes lóticos, a fim de compilar e interpretar informações sobre a preservação das condições ecológicas e físicas nas áreas de coleta e subsidiar análises de interesse.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análise*

Os organismos amostrados deverão ser triados e identificados ao menor grupo taxonômico possível. Análises da composição e dos parâmetros ecológicos das comunidades deverão ser realizadas: abundância relativa em grupos mais representativos, densidade, riqueza, diversidade beta, composição em grupos tróficos funcionais; além de análises sobre diferenças espaço-temporais apresentadas pelos indicadores ecológicos.

### **3.1.8. ICTIOFAUNA**

#### *Coleta*

As coletas de peixes do ambiente dulcícola serão realizadas trimestralmente, em 14 estações amostrais localizadas na calha e em afluentes próximos, contemplando um esforço amostral composto por três diferentes metodologias. A primeira metodologia será composta por dois conjuntos, formados por 9 redes de espera que ficarão expostas durante 4 horas (das 16:00h às 20:00h). A segunda metodologia será composta por 10 passadas com redes de arrasto. Já a terceira metodologia será composta por 46 lances de tarrafa.

A coleta dos espécimes para este tema também visa a obtenção de amostras de tecidos para análises previstas no tema Ecotoxicologia. Por isso, em cada estação amostral, a coleta deverá ser compatível com a obtenção de amostras compatíveis com as análises de interesse do tema. Os demais espécimes coletados passarão para o processamento a seguir. No laboratório, os peixes previamente coletados serão pesados e terão seus dados morfométricos coletados. Adicionalmente, estômago e gônadas dos indivíduos serão retirados para análise de conteúdo estomacal e de maturação sexual.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

### *Análise*

Os indivíduos coletados deverão ser identificados ao menor nível taxonômico possível. Também, deverão ser realizadas análises de parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância, densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), equitabilidade (Pielou) e biomassa para espécies nativas e exóticas. Adicionalmente, deverão ser analisadas a diversidade trófica e ecologia reprodutiva das espécies.

## **3.1.9. ICTIOPLÂNCTON**

### *Coleta*

As coletas de ictioplâncton deverão ser realizadas trimestralmente em 14 estações amostrais, em dois turnos de amostragem, a fim de minimizar os efeitos da variação nictemeral do ictioplâncton. O primeiro turno será ao anoitecer (19:00h às 20:00h), e o segundo ao amanhecer (6:00h às 7:00h). Em cada turno de amostragem, deverá ser utilizada uma rede de plâncton acoplado com um fluxômetro. Dependendo da ordem dos rios, a amostragem deverá ser realizada (1) apenas no canal central do curso d'água, (2) em cada uma das margens do curso d'água, ou (3) na parte central e em cada uma das margens do curso d'água. As coletas deverão contemplar uma réplica para cada amostra.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

### *Análise*

As amostras de ovos e larvas de peixes deverão ser triadas em microscópio ótico até o menor nível taxonômico possível. Além disso, as larvas deverão ser enquadradas quanto ao seu estágio de desenvolvimento e deverão ter sua integridade física (deformidades) avaliada. A abundância dos organismos deverá ser padronizada pelo volume de água filtrada, e a densidade de larvas e ovos deverá ser comparada espaço-temporalmente. A partir dos dados gerados, deverão ser calculados parâmetros ecológicos como: abundância, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), equitabilidade (Pielou), além de percentuais de alterações físicas encontradas.

### 3.1.10. ECOTOXICOLOGIA - BIOTA

#### *Coleta*

Para avaliação de parâmetros ecotoxicológicos do fitoplâncton, zooplâncton, crustáceos e peixes, deverão ser realizadas coletas semestrais em 14 estações amostrais. O parâmetro ecotoxicológico comum a todos os táxons analisados será a concentração de metais e metaloides indicados abaixo. Cada táxon a ser analisado deverá considerar uma metodologia diferente de coleta, respeitando as especificações técnicas para cada grupo. Preferencialmente, o material coletado para os temas específicos será utilizado para as análises do tema Ecotoxicologia.

As coletas de fitoplâncton e zooplâncton serão realizadas a partir de 5 arrastos para fitoplâncton e 5 arrastos para zooplâncton (15 min de duração para cada arrasto), em cada estação amostral, para compor as amostras em triplicata.

Para o grupo dos peixes, deverão ser coletados até 10 indivíduos por táxon-alvo (*Cichla* sp., *Pimelodus maculatus*, *Prochilodus* sp. e *Hypostomus affinis*), ou táxon alternativo representante de mesma guilda trófica caso o táxon-alvo não seja coletado (e.g. *Hoplias* sp., *Astyanax lacustris*, *Geophagus* sp., *Gymnotus* spp., *Hoplosternum litoralle*, *Leporinus* sp., *Metynnis maculatus*, *Paralichthys* spp., *Pygocentrus* sp., *Balistes capriscus*, *Tracheolypterus striatulus*, etc). Os indivíduos analisados devem ser maiores de 10cm e não devem ser analisados mais do que 30 indivíduos por estação amostral por campanha. No momento da coleta, seus dados morfométricos e amostra biológica individual de pelo menos 1g de tecido muscular (massa úmida), 0,5g de brânquias (massa úmida) e 0,5g de fígado (massa úmida) deverão ser coletadas, compatíveis com as análises de interesse.

Já para os crustáceos, os espécimes serão coletados utilizando redes de cerco, redes de arrasto e covos e, no momento da coleta, seus dados morfométricos e amostras biológicas deverão ser coletadas, considerando 6 indivíduos por estação amostral e, a depender da espécie, mais indivíduos, visando pelo menos a obtenção de 1g de tecido muscular (massa úmida), 0,5g de brânquias (massa úmida) e 0,5g de hepatopâncreas (massa úmida) por amostra, compatíveis com as análises de interesse.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade e Oxigênio Dissolvido (OD), condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### **Análise**

Para cada táxon e local amostrado, deverão ser feitas análises de metais e metaloides, sendo eles: alumínio (Al), cádmio (Cd), cálcio (Ca), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), magnésio (Mg), mercúrio (Hg), níquel (Ni), potássio (K), sódio (Na), zinco (Zn) e arsênio (As) na sua fração total, além do metilmercúrio (peixes e crustáceos).

De acordo com o táxon de interesse, também deverão ser analisados os seguintes parâmetros ecotoxicológicos: concentração de metalotioneínas (fitoplâncton, zooplâncton, crustáceos, peixes); peroxidação lipídica (fitoplâncton, zooplâncton, crustáceos, peixes); danos de DNA (crustáceos, peixes); atividade de enzimas antioxidantes – superóxido dismutase e catalase (peixes); atividade de enzimas do metabolismo energético – lactato desidrogenase e malato desidrogenase (peixes); danos morfológicos (peixes); e oxidação de proteínas (peixes e crustáceos). Na tabela 6 do Anexo II, estão listadas detalhadamente as análises ecotoxicológicas que serão realizadas em cada um dos componentes biológicos. Para avaliação integrada das tendências, deverão ser considerados igualmente os dados de ecotoxicologia produzidos pelo PMQQS.

### 3.1.11. ENSAIOS DE TOXICIDADE

#### Coleta

A coleta, armazenamento e preparo de água e sedimento para os testes de toxicidade deverão seguir a norma da ABNT NBR 15469, em periodicidade semestral. Os organismos e testes devem ser os seguintes: microalga *Raphidocelis subcapitata* (teste crônico segundo ABNT NBR 12648); microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* (teste semicrônico segundo ABNT NBR 13373); microcrustáceo *Daphnia similis* (teste agudo segundo ABNT NBR 12713 e teste crônico segundo OECD 211); microcrustáceo *Hyalella* sp. (testes agudo e crônico segundo ABNT NBR 15470); e peixe *Danio rerio* (teste agudo em adultos segundo ABNT NBR 15088 e teste crônico em larvas segundo ABNT NBR 15499).

Para a avaliação de toxicidade, devem ser realizadas coletas semestrais nas estações amostrais apresentadas na Tabela 2, a seguir:

**Tabela 2.** Lista de estações para o tema Ensaios de Toxicidade no ambiente dulcícola.

NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Rio Guandu/Trecho alto	RGU 01	288351,08	7828746,17	24S
Calha Rio Doce – Montante do reservatório UHE Mascarenhas/Baixo Guandu-ES	RDO 11	288652,00	7841932,00	24S
Rio Doce - Colatina	RDO 13	328395,12	7839121,87	24S
Calha Rio Doce/Foz- Regência-ES	RDO 16	414104,00	7827660,00	24S

### *Análise*

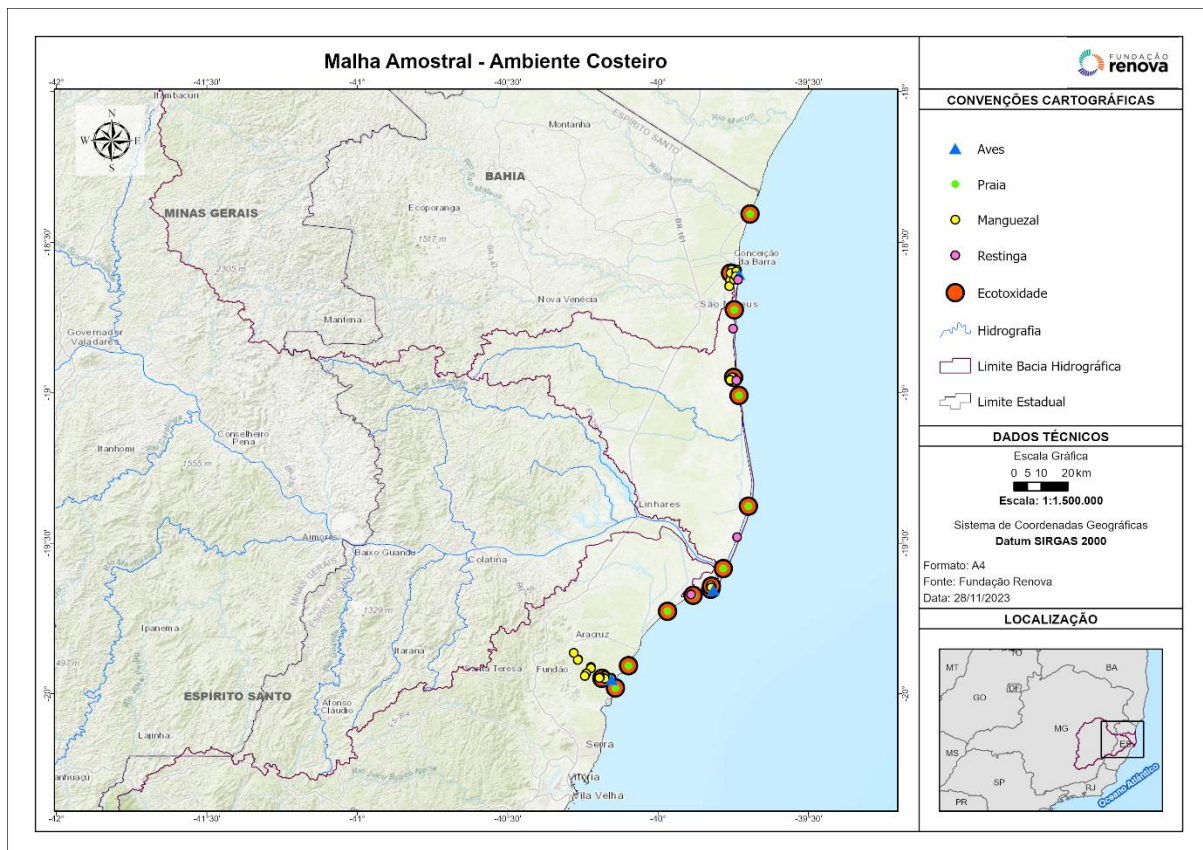
O índice de toxicidade deverá ser calculado considerando a severidade da resposta e a sensibilidade de cada um dos organismos avaliados. Respostas letais possuem maior valor do índice do que respostas subletais. Assim como organismos (ou estágios de desenvolvimento) mais sensíveis também possuem maior valor do que os menos sensíveis. Esses valores devem ser utilizados para classificar as amostras desde não-tóxicas até altamente tóxicas, conforme metodologia apresentada por FEST (2023). O cálculo do índice de toxicidade deverá ser feito para cada estação amostral, e separadamente para cada uma das matrizes (água e sedimento), levando-se em conta a média dos valores de toxicidade conforme metodologia realizada por FEST (2023).

### 3.2. AMBIENTE COSTEIRO

Para o ambiente costeiro, o monitoramento envolverá 5 temas (Tabela 3), sendo Ecotoxicologia da Biota um tema que compartilha a mesma malha amostral com os temas Bentos de Praia e Manguezal (Figura 3).

**Tabela 3.** Esforço amostral dos diferentes temas para o ambiente costeiro.

TEMAS	PONTOS	FREQUÊNCIA
ÁGUA	14	Semestral
BENTOS DE PRAIA	10	
MANGUEZAL	15*	
RESTINGA	5	
ECOTOXICOLOGIA – BIOTA	14	
AVES – ECOTOXICOLOGIA	03	
*68 parcelas		



**Figura 3.** Mapa de distribuição das estações amostrais do ambiente costeiro adjacente à Bacia do Rio Doce, no estado do Espírito Santo.

A fim de garantir um melhor controle de qualidade dos parâmetros coletados e analisados, as amostras que envolvem água deverão ser coletadas sempre antes das coletas de amostras de sedimentos e, por último, a coleta de material biológico. Além disso, deve-se seguir a seguinte ordem: amostra para parâmetros microbiológicos → amostras que não podem sofrer aeração → amostras para análises químicas (exceto metais) → amostras para metais dissolvidos → amostras para metais totais → amostras para parâmetros ecotoxicológicos → amostras das comunidades biológicas.

As amostras coletadas pelas equipes da Nova Fase do Monitoramento deverão ser manuseadas e armazenadas conforme as recomendações de preservação, além de contar com identificação adequada e cadeias de custódia ou fichas de campo preenchidas corretamente, com data e horário do recolhimento, além das condições de preservação, acondicionamento e temperatura. Durante o transporte, os responsáveis devem assegurar que as amostras sejam entregues ao laboratório ou instituição parceira sem danos materiais ou físico-químicos, que possam vir a afetar a qualidade analítica e a obtenção de informações de interesse. O compromisso com a conformidade das amostras e de todos os processos envolvendo o monitoramento será de responsabilidade das equipes técnicas designadas para cada linha (ou tema) em execução, e quaisquer intercorrências deverão ser comunicadas imediatamente à Fundação Renova.

### 3.2.1. ÁGUA

#### *Coleta*

As coletas de água deverão ser realizadas a partir da malha amostral disponível para o tema Ecotoxicologia – Biota (14 pontos), em frequência semestral, e as campanhas deverão ocorrer, preferencialmente, no mesmo ciclo de marés. Para cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura da amostra, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, salinidade, potencial redox e turbidez. As coletas deverão seguir as recomendações da ANA & CETESB (2012) e ABNT NBR-15469:2015, de acordo com as diretrizes apresentadas no Capítulo 3 do documento de revisão bianual do PMQQS (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), ou suas atualizações. A seguir uma breve descrição.

O volume de água em cada amostra deverá ser de 250 mL, e cada réplica contará com acidificação a um volume de 3,5 mL de ácido nítrico Suprapur 65%. As amostras de água deverão ser coletadas com o uso de garrafas de Van Dorn (fluxo horizontal), com capacidade suficiente para uma amostragem completa (sem necessidade de compor amostra). Na zona costeira, a coleta de água na zona costeira deverá ocorrer a 0,15m da lâmina d'água, no qual os dados dos parâmetros de campo serão coletados

*in situ* na camada superficial, enquanto a de fundo ocorrerá a 0,50m da profundidade máxima, evitando que o equipamento encoste no fundo, e provocando assim a suspensão de sedimento. A profundidade máxima do ponto de amostragem deverá ser verificada em campo, com auxílio do ecobatímetro da embarcação, e deverá respeitar a isóbata de 10m.

A perfilagem com sonda multiparâmetros deverá ser realizada em todos os pontos de monitoramento da zona costeira, em intervalos de 1m até o fundo marinho, sempre depois da coleta de água e antes da coleta de sedimentos, a fim de evitar alterações na coluna d'água causadas pela passagem e descarte de sedimentos coletados.

Em estuários, a profundidade total do ponto também será verificada com equipamento acústico portátil e, nos casos em que a profundidade for inferior a 2 metros, não haverá necessidade de realizar perfilagem, e a coleta deverá ocorrer somente a 0,50 m da profundidade máxima. Para estuários com profundidade superior a 2m, uma investigação de condutividade deverá ser realizada, visando a avaliação da estratificação da coluna d'água. Neste caso, serão medidas as condutividades a 0,15 m da lâmina d'água e a 0,50 m da profundidade máxima, e os valores deverão ser anotados como observações da ficha de campo. Quando a estratificação for inferior a  $10.000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , a coleta deverá ser realizada somente a 0,50 m da profundidade máxima e, nesse caso, não haverá necessidade de realização da perfilagem. Destaca-se que amostragem em estuários deverá ser feita, preferencialmente, na segunda metade do ciclo, na maré enchente, até a preamar.

### *Análise*

Em amostras de água, deverão ser analisadas, na fração total e dissolvida, a presença de metais e metaloides, sendo eles: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), boro (B), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), estrôncio (Sr), fósforo (P), ferro (Fe), molibdênio (Mo), manganês (Mn), níquel (Ni), selênio (Se), vanádio (V), e zinco (Zn); sempre com a utilização de metodologias de preparo acreditadas relacionadas à técnica de interesse.

As amostras também deverão ser analisadas quanto aos parâmetros: especiação de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , alcalinidade total, carbono orgânico total e dissolvido, clorofila-*a* e feoftina, *Escherichia coli*, *Enterococcus* (zona costeira e estuarina), fosfato, fósforo, nitrato, nitrito, mercúrio, nitrogênio amoniacal total, nitrogênio Kjeldahl total, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido (OD), pH *in situ* e em laboratório, temperatura da água, turbidez *in situ* e no laboratório, potencial redox, profundidade, dureza total, polifosfatos, potássio dissolvido, sódio dissolvido, sólidos dissolvidos e suspensos totais, sulfato e sulfeto com  $\text{H}_2\text{S}$  não dissociado. Os valores de referência deverão ser analisados de acordo com os limites dispostos pela resolução CONAMA n° 357/2005.

### 3.2.2. BENTOS DE PRAIA – BIOTA

#### *Coleta*

O monitoramento da fauna bentônica de praias (macrofauna e meiofauna) deverá ser realizado semestralmente, em 10 estações amostrais (3 transectos em cada) ao longo do litoral norte do Espírito Santo. As coletas deverão ser realizadas sempre em maré baixa de sizígia, em 4 faixas de praia diferentes: berma (supralitoral), face superior (mesolitoral superior), face inferior (mesolitoral inferior) e antepraia rasa (infralitoral). Em cada faixa de cada estação, deverão ser coletadas uma amostra de cada componente bentônico - uma amostra de macrofauna e uma amostra de meiofauna. Adicionalmente, na parte submersa deverão ser coletadas uma amostra para cada componente bentônico na isóbata de 10 metros. Em cada ponto de cada faixa, deverão ser coletadas amostras em triplicata.

Tanto para a macrofauna como para a meiofauna, deverão ser utilizados coletores cilíndricos e, na isóbata de 10 metros, pegadores de fundo do tipo Van Veen. As coletas para o tema ecotoxicologia devem acontecer simultaneamente, otimizando o uso de material biológico. Para o ambiente praiial, deverá ser realizada coleta para análises do sedimento, conforme descrito a seguir.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análise*

A macrofauna deverá ser triada, e seus organismos deverão ser identificados no menor nível taxonômico possível, e a meiofauna deverá ser identificada ao nível de grandes grupos. Deverão ser analisados parâmetros ecológicos das comunidades encontradas: abundância, densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver) e equitabilidade (Pielou).

### 3.2.3. SEDIMENTO PRAIAL

#### *Coleta*

A coleta do sedimento praiial deverá ser realizada na mesma malha de monitoramento do tema Bentos de Praia (macrofauna e meiofauna bentônica), em 10 estações amostrais (3 transectos em cada), em frequência semestral. Para cada estação amostral na praia emersa, deverão ser coletadas uma amostra de sedimento para cada zona, sendo elas: (a) superficial na berma, (b) face superior e (c) face inferior. E, porção submersa, uma coleta deverá ser realizada no (d) limite praia/antepraia (zona de arrebenção das ondas). A massa de sedimento a ser coletada por amostra deverá ser de, no mínimo, 250g,

considerando recipientes suficientes para a expansão do material no congelamento. Para a obtenção das amostras, deverá ser utilizado um coletor de plástico (colher de polipropileno) para a coleta dos sedimentos superficiais e subsuperficiais. Todas as amostras deverão ser adequadamente armazenadas e devidamente preservadas e identificadas até o momento de seu processamento nos laboratórios parceiros.

As coletas e análises das amostras deverão ser realizadas por laboratórios acreditados nos termos da ABNT NBR-ISO/IEC 17025:2017 junto ao Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Os procedimentos para amostragem de sedimentos deverão seguir as recomendações da ANA & CETESB (2012), e ABNT NBR-15469:2015, NBR-9898:1987 e o Anexo 3 do TR4 do ICMBio. Deverão ser adotadas práticas necessárias para a garantia da qualidade da amostragem de acordo com a ABNT 9898/1987, além de metodologias e certificações previstas no Programa de Garantia e Controle da Qualidade (QA/QC) do PMQQS a partir do documento da segunda revisão bianual do Programa (março 2023) (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), em sua versão mais atualizada.

### *Análise*

Em amostras de sedimento, deverão ser analisadas na fração total e na fração biodisponível a presença de metais, metaloides e ametais, sendo eles: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), berílio (Be), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), estrôncio (Sr), ferro (Fe), fósforo (P), mercúrio (Hg), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), titânio (Ti), selênio (Se), vanádio (V) e zinco (Zn).

As amostras também deverão ser analisadas quanto aos parâmetros: especiação de As+3 e As+5 (análise semestral – uma análise para a campanha chuvosa, em janeiro, e uma análise para a campanha seca, em agosto ou setembro), carbono orgânico total, fenóis, fósforo total, metilmercúrio (em análise semestral), nitrogênio Kjeldahl total, pH, potencial de oxi-redução (ORP), sólidos (%), silício, teor de umidade (%), distribuição granulométrica (%), bifenilas policlorados (PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Os valores de referência deverão ser analisados de acordo com os limites dispostos na Resolução CONAMA nº 454/2012, quando cabível.

### **3.2.4. MANGUEZAL**

As amostragens deverão ser conduzidas semestralmente, em 5 estações amostrais nas regiões estuarinas e suas áreas marinhas adjacentes, com 3 pontos de coleta em cada uma delas. Piraquê-Açu – 3 pontos (19 parcelas), Piraquê-Mirim – 3 pontos (18 parcelas), Rio Doce – 3 pontos (5 parcelas), Barra Nova – 3 pontos (9 parcelas), São Mateus – 3 pontos (17 parcelas).

Para esse ecossistema, deverão ser contempladas coletas de sedimento, de espécimes da carcinofauna, e de folhas da comunidade florística local, além de dados necessários para a composição das análises de interesse.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos das águas superficiais deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e potencial redox.

### **3.2.4.1. SEDIMENTO**

#### *Coleta*

As coletas de sedimento deverão ser realizadas na mesma malha amostral do tema Manguezal. Em cada estação amostral, deverão ser coletadas 6 amostras, contemplando amostras superficiais obtidas nas zonas entremarés, até a profundidade de 5 centímetros (coletores – tubo de PVC). O manuseio, acondicionamento e preservação das amostras deverá ser adequado e compatível com os objetivos do projeto.

A massa de sedimento a ser coletada por amostra deverá ser de, no mínimo, 250g, considerando recipientes suficientes para a expansão do material no congelamento. As coletas e análises das amostras deverão ser realizadas por laboratórios acreditados nos termos da ABNT NBR-ISO/IEC 17025:2017 junto ao Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Os procedimentos para amostragem de sedimentos deverão seguir as recomendações da ANA & CETESB (2012), e ABNT NBR-15469:2015, NBR-9898:1987 e o Anexo 3 do TR4 do ICMBio. Deverão ser adotadas práticas necessárias para a garantia da qualidade da amostragem de acordo com a ABNT 9898/1987, além de metodologias e certificações previstas no Programa de Garantia e Controle da Qualidade (QA/QC) do PMQQS a partir do documento da segunda revisão bianual do Programa (março 2023) (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), em sua versão mais atualizada.

#### *Análise*

Em amostras de sedimento, deverão ser analisadas na fração total e na fração biodisponível a presença de metais, metaloides e ametais, sendo eles: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), berílio (Be), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), estrôncio (Sr), ferro (Fe), fósforo (P), mercúrio (Hg), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), titânio (Ti), selênio (Se), vanádio (V) e zinco (Zn).

As amostras também deverão ser analisadas quanto aos parâmetros: especiação de As+3 e As+5 (análise semestral – uma análise para a campanha chuvosa, em janeiro, e uma análise para a campanha seca, em

agosto ou setembro), carbono orgânico total, fenóis, fósforo total, metilmercúrio (em análise semestral), nitrogênio Kjeldahl total, pH, potencial de oxi-redução (ORP), sólidos (%), silício, teor de umidade (%), distribuição granulométrica (%), bifenilas policlorados (PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Os valores de referência deverão ser analisados de acordo com os limites dispostos na Resolução CONAMA nº 454/2012, quando cabível.

### 3.2.4.2. FAUNA

#### *Coleta*

Para a coleta da fauna, deverão ser estabelecidas parcelas fixas ao longo do gradiente estuarino a ser amostrado, contemplando a divisão de ambientes: inferior (Setor 1), médio (Setor 2) e superior (Setor 3). Em cada estação amostral, deverá ser realizada a contagem e a caracterização de galerias (abertas, fechadas e vazias) de caranguejos guaiamu (*Cardisoma guanhumi*) e uçá (*Ucides cordatus*), além da medição da abertura de cada galeria (contemplando maior e menor largura), e da coleta de informações sobre a presença ou ausência de atividades biogênicas (rastros, dejetos ou movimentação de substrato).

Também, deverá ser realizada a captura e soltura de caranguejo guaiamu (*C. guanhumi*) com o uso de armadilhas do tipo ratoeira, instaladas na entrada de galerias. Em cada captura, dados como o sexo e biometria dos indivíduos deverão ser coletados. Os caranguejos uçá (*U. cordatus*) também deverão ser capturados e soltos, de maneira aleatória, a partir de técnica de braceamento. Em cada captura, dados como o sexo e biometria dos indivíduos deverão ser coletados.

Dados reprodutivos das espécies *C. guanhumi* e *U. cordatus* serão obtidos a partir da coleta de dez fêmeas ovígeras de cada espécie, durante o período reprodutivo. Em cada coleta, deverão ser realizadas biometria, pesagem e contagem de ovos. Para *U. cordatus*, devem ser coletadas fêmeas nos estuários dos rios Piraquê-Açu, Piraquê-Mirim, Mariricu (Barra Nova) e São Mateus; as fêmeas de *C. guanhumi*, devido ao seu status de espécie ameaçada de extinção, devem ser coletadas apenas na foz do Rio Doce.

#### *Análise*

A partir dos dados das galerias e da atividade da comunidade, deverão ser analisadas a densidade de indivíduos e a estrutura populacional de *Ucides cordatus* e *Cardisoma guanhumi*, além da diferença da densidade de indivíduos entre os períodos em cada estuário e da obtenção da largura média da carapaça de *Ucides cordatus* através dos menores diâmetros das galerias. A partir das capturas dos espécimes, deverão ser determinadas a largura média do cefalotórax, razão sexual, avaliação do período de reprodução, distribuição de frequência das classes de tamanho (mm), fecundidade, áreas de distribuição e mapeamento de habitats, além de análises integradas sobre a densidade e tamanho médio da carapaça das duas espécies para cada estuário nas estações chuvosa e seca.

### 3.2.4.3. FLORA

#### *Coleta*

A coleta de informações sobre a estrutura da vegetação deverá ser realizada seguindo a metodologia de Schaeffer-Novelli e Cintrón (1986), além de contemplar coletas de tecido vegetal para análises específicas.

Para o levantamento de dados, deverão ser determinadas parcelas isoladas para a identificação das espécies a partir dos indivíduos presentes. Durante a coleta, dados sobre a estrutura geral da comunidade deverão ser compilados em campo, considerando a altura (m) individual, diâmetro (cm) dos troncos à altura do peito (DAP), e números de troncos por indivíduo.

A coleta de folhas deverá ser realizada para indivíduos das espécies *Talipariti pernambucense*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle*, de acordo com a distribuição e ocorrência de populações em diferentes ambientes ao longo da malha amostral. Para a coleta de folhas visando a análise de metais e da atividade antirradicalar, as coletas deverão ser realizadas manualmente, a partir da retirada de 20 folhas maduras completamente expandidas de cada indivíduo. Em cada parcela amostrada, deverão ser amostrados 5 indivíduos, totalizando cerca de 40 g de material foliar coletado. Para a coleta de folhas visando a análise de pigmentos, 5 folhas deverão ser coletadas de cada indivíduo, contemplando as mesmas características morfológicas. Todas as amostras deverão ser adequadamente acondicionadas, preservadas e identificadas, a fim de garantir a rastreabilidade e a conservação das amostras obtidas até o momento de preparação do material em laboratórios parceiros envolvidos no projeto.

#### *Análise*

Análises de parâmetros da comunidade e de seu desenvolvimento estrutural deverão ser realizadas por estação, contemplando: riqueza de espécies, densidade (troncos), dominância, altura do dossel com base nos três indivíduos mais altos, altura média do dossel, DAP médio, área basal (individual e total), relação tronco/indivíduo.

Análises da atividade fotossintética, pigmentos fotossintetizantes e análise foliar das espécies *Talipariti pernambucense*, *Laguncularia racemosa*, *Rhizophora mangle* deverão ser realizadas, além de medições da produtividade primária (fluorescência da clorofila-*a* e assimilação de CO<sub>2</sub>), análise da atividade antirradicalar e concentração elementar de metais e metaloides nas folhas [nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), sódio (Na), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), cobre (Co) boro (B), chumbo (Pb) e alumínio (Al)].

### 3.2.5. RESTINGA

#### 3.2.5.1. INVENTÁRIO FLORÍSTICO

##### *Coleta*

O inventário florístico e da estrutura e fenologia da vegetação de restinga deverá ser realizado anualmente, em 5 estações amostrais: Regência (REBIO Comboios), Cacimbas, Barra Nova, Aldeia do Coco e Conceição da Barra.

Seguindo o monitoramento das formações herbácea e arbustiva realizado por FEST (2023), os métodos utilizados deverão ser o de parcelas alternadas (estrutura da comunidade), método de intercepto de linha (estrutura da vegetação), e de caminhar aleatório (nas áreas das linhas e parcelas - inventário florístico). Informações como a dinâmica das fitofisnomias, contemplando a identificação dos indivíduos (quando possível), número de indivíduos, frequência, cobertura, altura de cada indivíduo, CAP (Circunferência à Altura do Peito), habitat, estádios de floração e de frutificação, e demais observações pertinentes, deverão ser coletadas.

Para auxiliar em identificações mais precisas, partes de espécimes férteis observados poderão ser coletados, de um indivíduo por espécie, em cada fitofisnomia, respeitando a quantidade de 5 ramos férteis (com folhas, flores e/ou frutos). Todos os espécimes coletados deverão ser depositados em herbário para aproveitamento e rastreabilidade do material. Além disso, as espécies encontradas deverão ser registradas por fotografias e georreferenciadas.

##### *Análise*

O inventário e caracterização da estrutura da comunidade deverá ser analisado quanto aos parâmetros: Frequência Absoluta (FA), Frequência Relativa (FR), Dominância Absoluta (DoA), Dominância Relativa (DoR), Valor de Importância (VI), índices de Densidade Linear e Cobertura Linear, diversidade (Shannon-Weaver) e Índice de Sørensen.

#### 3.2.5.2. MONITORAMENTO ECOFISIOLÓGICO DA VEGETAÇÃO DE RESTINGA

##### *Coleta*

As coletas de estruturas vegetais deverão ser realizadas semestralmente nas cinco estações amostrais, incluindo as formações herbáceas e arbustivas, e contemplando indivíduos das espécies-chave selecionadas. As amostras deverão ser realizadas em triplicata, e cada tratamento deverá ser composto por cinco indivíduos, monitorados *in situ*.

### *Análise*

Deverão ser analisadas a quantificação da produtividade primária, a assimilação fotossintética (dados das trocas gasosas e fluorescência de clorofila), clorofila de amostras foliares; teores dos pigmentos, carboidratos, componentes estruturais e outros componentes do metabolismo primário e secundário; além de estresse oxidativo (enzimas do sistema antioxidante e respostas do sistema antioxidante não enzimático); e extensão de danos celulares [aldeído malônico (Malondialdeído - MDA)] via substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

### **3.2.5.3. SEDIMENTO**

#### *Coleta*

As amostras do solo presente nas duas formações vegetais (herbácea e arbustiva) deverão ser coletadas semestralmente, nas 5 estações amostrais delimitadas para o tema Restinga. Em cada estação, deverão ser coletadas amostras de solo com 20 cm de profundidade, e em quantidade suficiente para análises em triplicata.

A massa de sedimento a ser coletada por amostra deverá ser de, no mínimo, 250g, considerando recipientes suficientes para a expansão do material no congelamento. As coletas e análises das amostras deverão ser realizadas por laboratórios acreditados nos termos da ABNT NBR-ISO/IEC 17025:2017 junto ao Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Os procedimentos para amostragem de sedimentos deverão seguir as recomendações da ANA & CETESB (2012), e ABNT NBR-15469:2015, NBR-9898:1987 e o Anexo 3 do TR4 do ICMBio. Deverão ser adotadas práticas necessárias para a garantia da qualidade da amostragem de acordo com a ABNT 9898/1987, além de metodologias e certificações previstas no Programa de Garantia e Controle da Qualidade (QA/QC) do PMQQS a partir do documento da segunda revisão bianual do Programa (março 2023) (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), em sua versão mais atualizada.

#### *Análise*

Em amostras de sedimento, deverão ser analisadas na fração total e na fração biodisponível a presença de metais, metaloides e ametais, sendo eles: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), berílio (Be), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), estrôncio (Sr), ferro (Fe), fósforo (P), mercúrio (Hg), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), titânio (Ti), selênio (Se), vanádio (V) e zinco (Zn).

As amostras também deverão ser analisadas quanto aos parâmetros: especiação de As+3 e As+5 (análise semestral – uma análise para a campanha chuvosa, em janeiro, e uma análise para a campanha seca, em agosto ou setembro), carbono orgânico total, fenóis, fósforo total, metilmercúrio (em análise semestral),

nitrogênio Kjeldahl total, pH, potencial de oxi-redução (ORP), sólidos (%), silício, teor de umidade (%), distribuição granulométrica (%), bifenilas policlorados (PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Os valores de referência deverão ser analisados de acordo com os limites dispostos na Resolução CONAMA nº 454/2012, quando cabível.

### 3.2.6. ECOTOXICOLOGIA – BIOTA

#### *Coleta*

Para todos os grupos faunísticos de interesse, as coletas de ecotoxicologia serão realizadas semestralmente. Para a fauna invertebrada, deverão ser consideradas 14 estações amostrais, localizadas entre Aracruz e São Mateus, no litoral norte do Espírito Santo. Para os caranguejos e bentos de praia, as coletas serão executadas conjuntamente com as 10 estações amostrais já previstas para o Bentos de Praia. Técnicas de triagem manual do sedimento deverão ser aplicadas para a coleta de poliqueta (visando a coleta 6 indivíduos por estação); anfípodas e o isópoda *Excirolana* sp. (visando 5 *pools* por estação, e no mínimo 5 indivíduos de cada grupo por *pool*). A partir de coleta manual, deverão ser coletados caranguejos da espécie *Ocypode quadrata* (6 indivíduos por estação).

Para as análises de ecotoxicidade de fauna invertebrada em manguezal, deverão ser utilizadas 4 estações amostrais, uma no encontro do Piraquê-Açu com o Piraquê-Mirim, outra na foz do rio Doce, uma no rio Mariricu (Barra Nova) e uma no rio São Mateus. Para o estuário do Piraquê-Açu serão coletados no mínimo 6 indivíduos de cada uma das seguintes espécies: guaiamum (*Cardisoma guanhumi*), uçá (*Ucides cordatus*), e aratu (*Goniopsis cruentata*). Já nos estuários dos rios Doce, Mariricu (Barra Nova) e São Mateus, devido à dificuldade de coleta do caranguejo uçá e visando uma menor pressão do monitoramento sobre esta população, deverão ser coletados apenas indivíduos das espécies guaiamum (*Cardisoma guanhumi*) e aratu (*Goniopsis cruentata*). No primeiro ciclo de revisão do monitoramento, deverão ser avaliadas se as respostas do caranguejo aratu (*G. cruentata*) são similares às outras duas espécies na intenção de que apenas esta espécie mais comum seja usada como indicador de ecotoxicidade – evitando a coleta de material biológico das espécies ameaçadas ou quase ameaçada de extinção em nível nacional e ameaçadas na bacia do rio Doce.

Para todos os indivíduos coletados, dados biométricos deverão ser compilados, e as amostras biológicas de interesse deverão contemplar (por amostra) pelo menos 1g de tecido muscular (massa úmida), 0,5g de brânquias (massa úmida) e 0,5g de hepatopâncreas (massa úmida), sendo compatíveis com as análises de interesse para o grupo.

### *Análise*

Para cada táxon, deverão ser analisadas as concentrações de metais e metaloides, sendo eles: alumínio (Al), cádmio (Cd), cálcio (Ca), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), magnésio (Mg), mercúrio (Hg), níquel (Ni), potássio (K), sódio (Na), zinco (Zn) e arsênio (As) na sua fração total; também deverão ser analisados as frações orgânicas e inorgânicas (especificação) dos elementos arsênio (As) e mercúrio (Hg) em peixes e crustáceos (metodologia EPA 6020A).

De acordo com o táxon de interesse, também deverão ser analisados os seguintes parâmetros ecotoxicológicos: concentração de metalotioneínas (poliquetas, anfípodas, isópodas, crustáceos); peroxidação lipídica (poliquetas, anfípodas, isópodas, crustáceos); e danos de DNA (crustáceos). Na Tabela 6 no Anexo II estão listadas detalhadamente as análises ecotoxicológicas que serão realizadas em cada um dos componentes biológicos.

### **3.2.7. AVES – ECOTOXICOLOGIA**

#### *Coleta*

Para as amostras de aves, deverão ser considerados ambientes costeiro-marinhos, representados pela foz do rio Doce – Linhares (ES), foz do Rio Piraquê-açú – Aracruz (ES), e foz do rio São Mateus. A malha amostral para o grupo será exclusiva, contemplando 03 estações amostrais no total, representadas por 06 redes cada, e distribuídas entre os ambientes de interesse. As coletas serão realizadas semestralmente.

As coletas deverão ser realizadas a partir da captura dos espécimes com redes de neblina, com malha de 20 mm ou 35 mm, instaladas em diferentes áreas com auxílio de hastes de alumínio e cordas. Para a amostragem geral, deverão ser coletados até 20 espécimes para cada um dos três ambiente de interesse, ou seja, um máximo de 60 espécimes por ano, levando em conta todos os pontos de amostragem e as estações do ano.

Para todos os indivíduos coletados, dados biométricos, informações sobre muda das penas, idade e sexo deverão ser compilados, e as amostras biológicas de interesse deverão contemplar a coleta de sangue, penas de contorno e penas em crescimento.

#### *Análise*

Para o táxon, deverão ser analisadas as concentrações de metais e metaloides, sendo eles: alumínio (Al), cálcio (Ca), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), magnésio (Mg), mercúrio (Hg), níquel (Ni), potássio (K), sódio (Na), zinco (Zn) e arsênio (As) na sua fração total; também deverão ser analisadas as frações orgânicas e inorgânicas (especificação) dos elementos arsênio (As) e mercúrio (Hg) (metodologia EPA 6020A).

As análises envolvendo a quantificação de organobromados e organoclorados foram desconsideradas da presente proposta conforme o disposto no quadro de alterações metodológicas do Plano de Trabalho do sétimo aditivo da FEST em 2022. A justificativa apresentada indica que "A exclusão das análises de contaminantes orgânicos nas amostras de aves costeiras está associada à percepção, por parte de outros temas do PMBA/Fest, de que não existe correlação dos níveis destes contaminantes com a composição e presença do rejeito de minério. Além disso, o preparo e análise das amostras demandam um tempo bastante grande e um custo muito elevado." Esta mesma justificativa foi enviada à CTBio, no documento de proposta técnica encaminhado em 17 de outubro de 2023.

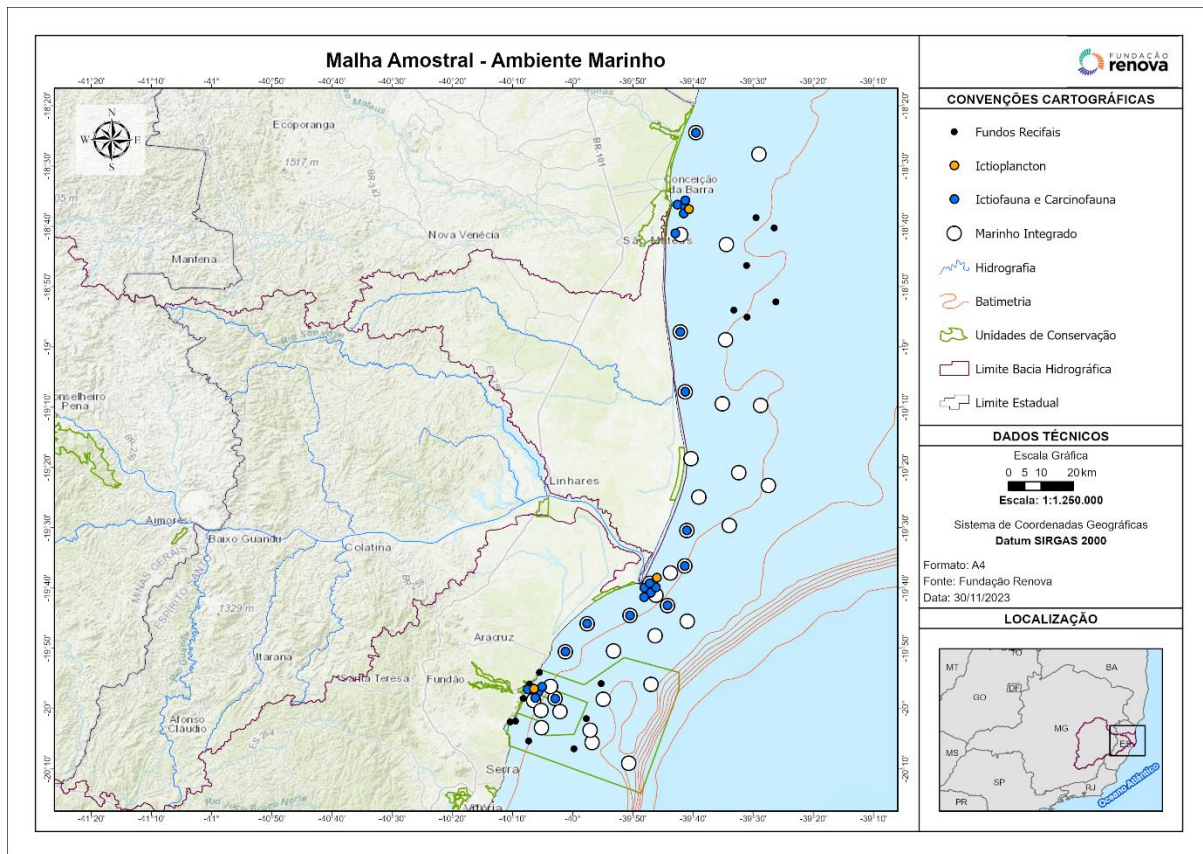
### 3.3. AMBIENTE MARINHO

Quatorze temas farão parte do escopo da Nova Fase do Monitoramento no ambiente marinho (Tabela 4), sendo seis deles com malha totalmente compartilhada em 37 pontos (Água, Sedimento, Fitoplâncton e Bacterioplâncton; Zooplâncton; Ictioplâncton; e Bentos de Fundos Inconsolidados). Estes pontos estão distribuídos em 3 áreas de estudo: APA Costa das Algas; Foz do rio Doce; e Norte. Para esses pontos, deverão ser adicionadas coletas de água e sedimento, com metodologia compatível ao PMQQS, já que são pontos não previstos nesse Programa. Outras sete malhas envolvendo as mesmas áreas de estudo correspondem aos temas: Carcinofauna e Ictiofauna; Recrutamento Ictiofauna; Fundos Recifais; Tartarugas Marinhas; Monitoramento Remoto da Megafauna; Ecotoxicologia – Biota e Ensaio de Toxicidade.

As coletas para o tema de Ecotoxicologia deverão ocorrer na malha amostral do seu respectivo grupo biológico, e também abrange os pontos para coleta do tema Ensaio de Toxicidade. Por exemplo, a coletas de zooplâncton para as análises ecotoxicológicas acontecerão na malha amostral do tema Zooplâncton; já as coletas de tecido muscular de peixe acontecerão na malha amostral do tema Carcinofauna e Ictiofauna (Figura 4). A coleta de Ecotoxicologia estabelece o marco em que todos os temas com frequência trimestral devem coletar simultaneamente.

**Tabela 4.** Esforço amostral dos diferentes temas para o ambiente marinho.

TEMAS	PONTOS	FREQUÊNCIA
ÁGUA E SEDIMENTO	<b>37</b>	Trimestral
FITOPLÂNCTON E BACTERIOPLÂNCTON		
ZOOPLÂNCTON		
ICTIOPLÂNCTON		
BENTOS DE FUNDOS INCONSOLIDADOS		
CARCINOFAUNA	<b>24</b>	Trimestral
ICTIOFAUNA		
RECRUTAMENTO ICTIOFAUNA	<b>27</b>	Trimestral
ECOTOXICOLOGIA – BIOTA	<b>48</b>	Semestral
ENSAIOS DE TOXICIDADE	<b>5</b>	Semestral
FUNDOS RECIFAIS	<b>16</b>	Anual
TARTARUGAS MARINHAS	Comboios a Guriri	Diário*
MONITORAMENTO REMOTO DA MEGAFUNA	<b>3</b>	Mensal
*apenas no período reprodutivo		



**Figura 4.** Mapa de distribuição das estações amostrais do ambiente marinho, contemplando os estados do Espírito Santo.

A fim de garantir um melhor controle de qualidade dos parâmetros coletados e analisados, as amostras que envolvem água deverão ser coletadas sempre antes das coletas de amostras de sedimentos e, por último, a coleta de material biológico. Além disso, deve-se seguir a seguinte ordem: amostra para parâmetros microbiológicos → amostras que não podem sofrer aeração → amostras para análises químicas (exceto metais) → amostras para metais dissolvidos → amostras para metais totais → amostras para parâmetros ecotoxicológicos → amostras das comunidades biológicas.

As amostras coletadas pelas equipes da Nova Fase do Monitoramento deverão ser manuseadas e armazenadas conforme as recomendações de preservação, além de contar com identificação adequada e cadeias de custódia ou fichas de campo preenchidas corretamente, com data e horário do recolhimento, além das condições de preservação, acondicionamento e temperatura. Durante o transporte, os responsáveis devem assegurar que as amostras sejam entregues ao laboratório ou instituição parceira sem danos materiais ou físico-químicos, que possam vir a afetar a qualidade analítica e a obtenção de informações de interesse. O compromisso com a conformidade das amostras e de todos os processos envolvendo o monitoramento será de responsabilidade das equipes técnicas designadas para cada linha

(ou tema) em execução, e quaisquer intercorrências deverão ser comunicadas imediatamente à Fundação Renova.

### 3.3.1. ÁGUA

#### *Coleta*

As coletas de água deverão ser realizadas a partir da malha amostral disponível para o ambiente (37 pontos), em frequência trimestral, e as campanhas deverão ocorrer, preferencialmente, no mesmo ciclo de marés. Para cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura da amostra, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, salinidade, potencial redox e turbidez. As coletas deverão seguir as recomendações da ANA & CETESB (2012) e ABNT NBR-15469:2015, de acordo com as diretrizes apresentadas no Capítulo 3 do documento de revisão bianual do PMQQS (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), ou suas atualizações. A seguir uma breve descrição.

O volume de água a ser amostrado por réplica deverá ser de 250 mL, e cada réplica contará com acidificação a um volume de 3,5 mL de ácido nítrico Suprapur 65%. As amostras de água deverão ser coletadas com o uso de garrafas de Van Dorn (fluxo horizontal), com capacidade suficiente para uma amostragem completa (sem necessidade de compor amostra). A coleta de água deverá ocorrer a 0,15m da lâmina d'água, no qual os dados dos parâmetros de campo serão coletados *in situ* na camada superficial, enquanto a de fundo ocorrerá a 0,50 m da profundidade máxima, evitando que o equipamento encoste no fundo, e provocando assim a suspensão de sedimento. A profundidade máxima do ponto de amostragem deverá ser verificada em campo, com auxílio do ecobatímetro da embarcação.

A perfilagem com sonda multiparâmetros deverá ser realizada em todos os pontos de monitoramento, em intervalos de 1m até o fundo marinho, sempre depois da coleta de água e antes da coleta de sedimentos, a fim de evitar alterações na coluna d'água causadas pela passagem e descarte de sedimentos coletados.

Nos locais de amostragem, uma investigação de condutividade deverá ser realizada, visando a avaliação da estratificação da coluna d'água. Neste caso, serão deverão ser medidas as condutividades a 0,15m da lâmina d'água e a 0,50m da profundidade máxima, e os valores deverão ser anotados como observações da ficha de campo. Quando a estratificação for inferior a  $10.000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , a coleta deverá ser realizada somente a 0,50m da profundidade máxima e, nesse caso, não haverá necessidade de realização da perfilagem.

### *Análise*

Em amostras de água, deverão ser analisadas, na fração total e dissolvida, a presença de metais e metaloides, sendo eles: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), boro (B), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), estrôncio (Sr), fósforo (P), ferro (Fe), molibdênio (Mo), manganês (Mn), níquel (Ni), selênio (Se), vanádio (V), e zinco (Zn); sempre com a utilização de metodologias de preparo acreditadas relacionadas à técnica de interesse.

As amostras também deverão ser analisadas quanto aos parâmetros: microbiota total, especiação de Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup>, alcalinidade total, carbono orgânico total e dissolvido, clorofila-*a* e feoftina, *Escherichia coli*, *Enterococcus*, fosfato, fósforo, nitrato, nitrito, mercúrio, nitrogênio amoniacal total, nitrogênio Kjeldahl total, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido (OD), pH *in situ* e em laboratório, temperatura da água, dureza total, turbidez *in situ* e no laboratório, potencial redox, profundidade, polifosfatos, potássio dissolvido, sódio dissolvido, sólidos dissolvidos e suspensos totais, sulfato e sulfeto com H<sub>2</sub>S não dissociado. Os valores de referência deverão ser analisados de acordo com os limites dispostos pela resolução CONAMA n° 357/2005.

### **3.3.2. SEDIMENTO**

#### *Coleta*

As coletas de sedimento deverão ser realizadas a partir da malha amostral disponível para o ambiente (37 pontos), em frequência trimestral. A massa de sedimento a ser coletada deverá ser de, no mínimo, 250g, considerando recipientes suficientes para a expansão do material no congelamento, e em triplicata. As amostras de sedimento deverão ser coletadas com o uso de pegador do tipo Petersen, ou equivalente, com área amostral mínima de 0,1m<sup>2</sup>. As amostras deverão ser coletadas de acordo com as especificações contidas no item 3.2.3.2 do documento de Revisão Bianual do PMQQS (FUNDAÇÃO RENOVA, 2023), contemplando uma amostra de, pelo menos, 10cm de profundidade, a fim de evitar que a subamostra tenha entrado em contato com o fundo do amostrador.

#### *Análise*

Em amostras de sedimento, deverão ser analisadas na fração total e na fração biodisponível a presença de metais, metaloides e ametais, sendo eles: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), berílio (Be), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), estrôncio (Sr), ferro (Fe), fósforo (P), mercúrio (Hg), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), titânio (Ti), selênio (Se), vanádio (V) e zinco (Zn).

As amostras também deverão ser analisadas quanto aos parâmetros: microbiota total, especiação de As+3 e As+5 (análise semestral – uma análise para a campanha chuvosa, em janeiro, e uma análise para a campanha seca, em agosto ou setembro), carbono orgânico total, fenóis, fósforo total, metilmercúrio (em análise semestral), nitrogênio Kjeldahl total, pH, potencial de oxi-redução (ORP), sólidos (%), silício, teor de umidade (%), distribuição granulométrica (%), bifenilas policlorados (PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Os valores de referência deverão ser analisados de acordo com os limites dispostos na Resolução CONAMA nº 454/2012, quando cabível.

### **3.3.3. FITOPLÂNCTON E BACTERIOPLÂNCTON**

#### *Coleta*

As amostragens deverão ser realizadas trimestralmente, em 37 estações amostrais distribuídas por toda malha. As coletas serão realizadas em duas profundidades: na superfície (para análises qualitativas e quantitativas), e no fundo (para análises quantitativas). Para as coletas na superfície, deverá ser utilizada garrafa oceanográfica. Já para as coletas de fundo, as amostras deverão ser obtidas a partir de arrastos verticais de rede de plâncton. Para análise e caracterização taxonômica e das comunidades do bacterioplâncton e fitoplâncton, as amostras também deverão ser filtradas a bordo.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análises*

Os organismos coletados deverão ser identificados até o menor nível taxonômico possível e quanto às características morfológicas e morfométricas. Análises qualitativas e quantitativas deverão ser realizadas para as comunidades utilizando microscópio óptico e bibliografia especializada (como o banco de dados internacional ALGAEBASE <<http://www.algaebase.org/>>). Técnicas complementares como a citometria de fluxo e sequenciamento genético deverão ser utilizadas para a identificação morfológica, sem comprometimento do prazo para identificação dos organismos.

Também, deverão ser realizadas análises de parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância; densidade total, nano e microfitoplâncton; riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), equitabilidade (Pielou) e biomassa.

### 3.3.4. ZOOPLÂNCTON

#### *Coleta*

Deverão ser realizadas coletas trimestrais em 37 estações amostrais, distribuídas desde Itaúnas até a região da APA Costa das Algas, no estado do Espírito Santo. Serão realizados arrastos verticais estratificados no período noturno, utilizando rede apropriada para coleta do zooplâncton, seguindo: (i) em profundidades de até 30 metros: arrasto do fundo até metade da profundidade e, posteriormente, da metade até a superfície; (ii) profundidades superiores a 30 metros: arrasto do fundo até 30m e, posteriormente, de 30 metros até a superfície.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análise*

As amostras deverão ser triadas e identificadas ao menor nível taxonômico possível. Também, deverão ser realizadas análises de parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância (absoluta e relativa), densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), equitabilidade (Pielou) e biomassa.

### 3.3.5. ICTIOPLÂNCTON

#### *Coleta*

Deverão ser realizadas coletas trimestrais em 37 estações amostrais, distribuídas ao longo da costa norte do Espírito Santo. As coletas deverão ser realizadas no período noturno, utilizando redes de nêuston e bongô com fluxômetro acoplados, a fim de calcular o volume de água filtrada.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análises*

As amostras de larvas e ovos de peixes deverão ser triadas e identificadas até o menor nível taxonômico possível. As larvas deverão ser enquadradas quanto ao seu estágio de desenvolvimento e deverão ter sua integridade física (deformidades) avaliada. Também, deverão ser realizadas análises de parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância, densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), equitabilidade (Pielou) e biomassa.

### **3.3.6. BENTOS DE FUNDOS INCONSOLIDADOS**

#### *Coleta*

As amostragens de bentos de fundos inconsolidados (zona infralitoral), deverão ser realizadas trimestralmente em 37 estações amostrais, contemplando as regiões da APA Costa da Algas até Itaúnas. As coletas deverão ser realizadas com a utilização de amostrador de fundo do tipo Van Veen, apropriado para este tipo de ambiente. Em laboratório, a fauna bentônica deverá ser quantificada, triada, e identificada de acordo com a classificação taxonômica.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análise*

Os registros de indivíduos do táxon Mollusca e suas partes deverão ser analisados priorizando espécimes íntegros em que seja possível a análise de tecido mole; podendo também considerar o aproveitamento de estruturas disponíveis como vestígios, conchas e valvas inteiras; a fim de gerar observações e inferências sobre a dinâmica da comunidade biológica.

Também, deverão realizadas análises de parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância, densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), equitabilidade (Pielou), dominância (Simpson) e biomassa.

### **3.3.7. CARCINOFAUNA**

#### *Coleta*

A coleta de crustáceos deverá ser realizada trimestralmente, em 24 estações amostrais, na região marinha adjacente aos estuários dos rios Doce, Piraquê-Açu e São Mateus e em áreas marinhas vizinhas. Na região marinha adjacente à foz do rio Doce haverá 05 estações amostrais. Já na região marinha adjacente à foz do rio Piraquê-Açu, haverá outras 05 estações amostrais. Por sua vez, na região marinha adjacente à foz do rio São Mateus, haverá 04 estações amostrais. Além dessas estações amostrais, haverá mais 10 estações amostrais adicionais ao longo da área de monitoramento.

As coletas deverão ser realizadas com redes de arrasto de fundo, e cada estação amostral deverá contar com quantidade de arrastos compatível com os objetivos estabelecidos, com no mínimo três arrastos de cinco minutos cada. A coleta dos espécimes para este tema também visa a obtenção de amostras de

tecidos para análises previstas no tema Ecotoxicologia. Por isso, em cada estação amostral, a coleta deverá ser compatível com a obtenção de amostras compatíveis com as análises de interesse do tema.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

### *Análise*

Os crustáceos coletados deverão ser identificados até o menor nível taxonômico possível, e seus dados e observações gerais deverão ser compilados e analisados, como dados morfométricos e peso dos espécimes, densidade, biomassa e reprodução.

## **3.3.8. ICTIOFAUNA**

### *Coleta*

A coleta de peixes deverá ser realizada trimestralmente, em 24 estações amostrais, na região marinha adjacente aos estuários dos rios Doce, Piraquê-Açu e São Mateus e em áreas marinhas vizinhas. Na região marinha adjacente à foz do rio Doce haverá 5 estações amostrais. Já na região marinha adjacente à foz do rio Piraquê-Açu, haverá outras 5 estações amostrais. Por sua vez, na região marinha adjacente à foz do rio São Mateus, haverá 04 estações amostrais. Além dessas, haverá mais 10 estações amostrais adicionais ao longo da área de monitoramento.

As coletas deverão ser realizadas com redes de arrasto de fundo, e cada estação amostral deverá contar com quantidade de arrastos compatível com os objetivos estabelecidos, com pelo menos três arrastos de cinco minutos cada. A coleta dos espécimes para este tema também visa a obtenção de amostras de tecidos para análises previstas no tema Ecotoxicologia. Por isso, em cada estação amostral, a coleta deverá ser compatível com a obtenção de amostras compatíveis com as análises de interesse do tema. Os demais espécimes coletados passarão para o processamento a seguir. No laboratório, os peixes previamente coletados serão pesados e terão seus dados morfométricos coletados. Adicionalmente, as gônadas dos indivíduos serão retiradas para análise de maturação sexual.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

### *Análise*

Para as coletas de peixes, os organismos deverão ser identificados até o menor nível taxonômico possível, pesados, e terão seus dados morfométricos coletados. Também, deverão ser realizadas análises de parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância, densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), equitabilidade (Pielou) e biomassa.

A partir das informações geradas, deverão ser analisadas diferenças espaço-temporais significativas entre a estrutura e os parâmetros ecológicos das comunidades, além da análise morfológica das gônadas e da ecologia reprodutiva de peixes estuarinos/marinhos.

### **3.3.9. RECRUTAMENTO ICTIOFAUNA**

#### *Coleta*

As coletas envolvendo o recrutamento larval de peixes deverão ser realizadas trimestralmente em 3 regiões: uma na área marinha adjacente ao estuário do rio Doce, uma na área marinha adjacente ao estuário rio Piraquê-Açu e uma na área marinha adjacente ao estuário do rio São Mateus. Em cada região, haverá 09 estações amostrais, totalizando 27 estações amostrais (09 estações amostrais x 03 regiões). Deverão ser utilizadas armadilhas luminosas para coletas de pós-larvas de peixes, e os parâmetros físico-químicos e meteoceanográficos deverão ser coletados *in loco*.

No momento de cada coleta, parâmetros físico-químicos deverão ser medidos *in situ* com o uso de sondas multiparâmetros, visando o levantamento de informações como pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez.

#### *Análise*

Os organismos coletados deverão ser identificados até o menor nível taxonômico possível, e observações gerais, dados morfométricos e o peso dos espécimes serão coletados. Também, deverão ser realizadas análises de parâmetros ecológicos a partir dos dados gerados: abundância, densidade, riqueza, diversidade (Shannon-Weaver), equitabilidade (Pielou), dominância (Simpson) e biomassa.

### **3.3.10. ECOTOXICOLOGIA – BIOTA**

#### *Coleta*

As coletas para análises ecotoxicológicas deverão ser realizadas semestralmente em 48 estações amostrais, localizadas ao longo da foz do rio Doce e região costeira adjacente. As coletas para análises

ecotoxicológicas deverão ser realizadas concomitantemente às coletas do seu respectivo grupo biológico. Nos casos em que essa coincidência de esforços não seja possível devido a questões metodológicas, os esforços deverão ser duplicados. Das 61 estações amostrais possíveis há 37 estações de coletas dos temas Fitoplâncton e Zooplâncton e 24 estações são de coleta dos temas Carcinofauna e Ictiofauna. Dessas 61 estações amostrais possíveis existem 13 estações amostrais coincidentes, por isso a quantidade final de estações amostrais é de 48. Preferencialmente, o material coletado para os temas específicos (considerando Fitoplâncton, Zooplâncton, Carcinofauna e Ictiofauna) será utilizado para as análises do tema Ecotoxicologia.

Idealmente, as amostras de fitoplâncton e zooplâncton deverão ser provenientes da coleta realizada para os temas Fitoplâncton e Zooplâncton, respectivamente: fitoplâncton (5 amostras por ponto de coleta, sendo cada amostra constituída por pools de, no mínimo, 3 arrastos diferentes com duração entre 10 e 15 min); zooplâncton (5 amostras por ponto de coleta, sendo cada amostra constituída por pools de, no mínimo, 3 arrastos diferentes com duração entre 10 e 15 min). Já os crustáceos serão coletados utilizando redes de cerco, redes de arrasto e covos e, no momento da coleta, seus dados morfométricos e amostras biológicas deverão ser coletadas, considerando um pool de indivíduos por ponto de coleta e por espécie, visando pelo menos 1g de tecido muscular (massa úmida), 0,5g de brânquias (massa úmida) e 0,5g de hepatopâncreas (massa úmida), em triplicata, e compatíveis com as análises de interesse.

A partir das metodologias empregadas, deverão ser coletados até 6 indivíduos por táxon-alvo ou táxon alternativo representante de mesma guilda trófica (e.g. *Conodon nobilis*, *Paralichthys* spp., *Balistes capriscus*, *Cynoscion* sp., *Micropogonias furnieri*, *Lutjanos* sp., além do bagre, cabeção/cabeça dura, carapicu/carapeba, cocorota, Maria Luiza, michole, palombeta, papa-terra, sardinha, trilha, voador e xerelete) desde que os espécimes tenham mais de 10cm. No total, em cada estação amostral poderão ser coletados até cinco táxons, representados por até 30 indivíduos - até 15 carnívoros e até 15 onívoros. No momento da coleta, seus dados morfométricos e amostras biológicas de pelo menos 1g de tecido muscular (massa úmida), 0,5g de brânquias (massa úmida) e 0,5g de fígado (massa úmida) deverão ser coletadas, sendo compatíveis com as análises de interesse. Como as coletas do tema Ecotoxicologia deverão ter periodicidade semestral e a periodicidade dos temas dos grupos biológicos são trimestrais, o material para a Ecotoxicologia virá de coletas alternadas.

### **Análise**

Para cada táxon e local amostrado, deverão ser analisados a concentração dos seguintes metais e metalóides: alumínio (Al), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), magnésio (Mg), mercúrio (Hg), níquel (Ni), zinco (Zn) e arsênio (As) na sua fração total. Também, deverão ser analisados as frações orgânicas e inorgânicas (especiação) dos elementos arsênio (As) e mercúrio (Hg) em peixes e crustáceos (metodologia EPA 6020A).

De acordo com o táxon de interesse, também deverão ser analisados os seguintes parâmetros ecotoxicológicos: concentração de metalotioneínas (fitoplâncton, zooplâncton, crustáceos, peixes); peroxidação lipídica (fitoplâncton, zooplâncton, crustáceos, peixes); danos de DNA (crustáceos, peixes); atividade de enzimas antioxidantes – superóxido dismutase e catalase (peixes); atividade de enzimas do metabolismo energético – lactato desidrogenase e malato desidrogenase (peixes); danos morfológicos (peixes); e oxidação de proteínas (peixes e crustáceos). Na Tabela 6 no Anexo II estão listadas detalhadamente as análises ecotoxicológicas que serão realizadas em cada um dos componentes biológicos.

As análises envolvendo os corais e hidrocorais foram desconsideradas da presente proposta, já que estas eram executadas apenas nos pontos amostrais localizados em Abrolhos, que não mais fazem parte da malha amostral atual.

### **3.3.11. ENSAIOS DE TOXICIDADE**

#### *Coleta*

A coleta, armazenamento e preparo de água e sedimento para os testes de toxicidade devem seguir a norma da ABNT NBR 15469, em periodicidade semestral. Os organismos e testes devem ser os seguintes: microalga *Thalassiosira pseudonana* (teste crônico segundo ABNT NBR 16181); crustáceo *Nitokra* sp (teste crônico segundo Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil, 2002); equinodermo *Echinometra lucunter* (teste agudo segundo Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil, 2022 e teste crônico segundo ABNT NBR 15350); e peixe *Poecilia vivipara* (teste agudo segundo OECD 203)

Para a avaliação de toxicidade, devem ser realizadas coletas semestrais nas seguintes estações amostrais: SD 01; SDN 30; CA1; CA2; e DEG1 (para as coordenadas, vide malha amostral do tema “Marinho Integrado”).

#### *Análise*

O índice de toxicidade deverá ser calculado considerando a severidade da resposta e a sensibilidade de cada um dos organismos avaliados. Respostas letais possuem maior valor do índice do que respostas subletais. Assim como organismos (ou estágios de desenvolvimento) mais sensíveis também possuem maior valor do que os menos sensíveis. Esses valores devem ser utilizados para classificar as amostras desde não-tóxicas até altamente tóxicas, conforme metodologia apresentada por FEST (2023). O cálculo do índice de toxicidade deverá ser feito para cada estação amostral e separadamente para cada uma das matrizes (água e sedimento), levando-se em conta a média dos valores de toxicidade conforme metodologia realizada por FEST (2023).

### **3.3.12. FUNDOS RECIFAIS**

#### *Coleta*

Serão amostradas duas grandes áreas: A (Recifes Esquecidos – 06 estações amostrais) e B (APA Costa das Algas e REVIS Santa Cruz – 10 estações amostrais). Em ambas as áreas serão realizadas fotoquadrados em parcelas fixas para acompanhamento da dinâmica da assembleia bêntica recifal. Na área A as parcelas serão marcadas por pinos metálicos, e na área B as parcelas são realizadas com base nas coordenadas geográficas devido à inviabilidade de instalação de pinos metálicos nesses recifes.

Em cada estação amostral serão realizadas 10 parcelas no topo dos recifes (região mais horizontal e bem iluminada). Caso seja possível, outras 10 parcelas poderão ser amostradas na parede dos recifes (região mais inclinada e sombreada). As amostragens nas paredes recifais ocorrerão nas áreas A e em alguns recifes da área B, de acordo com o que atualmente vem sendo amostrado (FEST, 2023).

Cada parcela será composta por 15 imagens, totalizando uma área de cerca de 1m<sup>2</sup>. Metodologias alternativas (a exemplo de pirâmide acrílica preenchida com água limpa) poderão ser empregadas desde que sejam amostradas área similar e com mesmo esforço analítico (FEST, 2023).

#### *Análise*

As imagens serão analisadas para se estimar o percentual de cobertura de cada táxon/categoria. Em cada imagem, serão utilizados 30 pontos aleatórios. Os organismos abaixo de cada ponto aleatório serão identificados em grandes grupos (por exemplo esponja, zoantídeo, algas calcárias articuladas, algas calcárias incrustantes). Já corais e algas serão identificados ao menor grupo taxonômico possível. Em seguida, para cada parcela, será estimado o percentual de cobertura de cada táxon/categoria. Como as amostragens ocorrem em parcelas fixas, há um maior controle da heterogeneidade espacial.

### **3.3.13. TARTARUGAS MARINHAS**

#### *Coleta*

Para o monitoramento de tartarugas, toda a malha amostral (de Comboios a Guriri) deverá ser percorrida pela equipe, das 20:00h às 4:00h, durante todo o período reprodutivo. Deverão ser localizadas todas as ocorrências reprodutivas, e coletadas informações como data, localização, praia e quilômetro. Assim, os tipos de ocorrência [Com Desova (CD), Sem Desova (SC), Meia Lua (ML) ou Não Determinado (ND)] deverão ser registrados, e todos os ninhos encontrados serão devidamente identificados e marcados.

Nos casos em que houver identificação de risco para os ninhos por erosão da praia, estes deverão ser transferidos. Nas localidades em que exista a possibilidade de predação animal, os ninhos deverão ser protegidos com telas. Para coleta de dados de incubação e avaliação de impactos, todos os ninhos deverão ser escavados após a eclosão, para identificação da espécie, número de filhotes nascidos, natimortos e ovos não viáveis.

As fêmeas encontradas no momento da desova deverão ser devidamente contidas para coleta de dados biométricos e avaliação da saúde geral, além de marcadas para posterior análise, procedimento que deverá ser realizado sempre após a postura dos ovos.

### *Análise*

Os indivíduos encontrados deverão ser quantificados, identificados a nível de espécie, e terão seus dados biométricos analisados. Também, deverão ser analisados o número de desovas, intervalo internidal, deslocamento internidal, e intervalo de remigração. Para a distribuição e monitoramento espaço-temporal dos ninhos, deverão ser analisados os números de ninhos em análise espacial.

Para os parâmetros de incubação dos ninhos, deverão ser analisados o tempo de incubação, taxa de eclosão, número de ovos, natimortos e ovos não eclodidos, além de análises do histórico dos ninhos.

## **3.3.14. TARTARUGAS MARINHAS - ECOTOXICOLOGIA**

### *Coleta*

Para as análises de ecotoxicologia das tartarugas marinhas, será utilizada a mesma malha amostral do tema de Tartarugas Marinhas. Durante o monitoramento reprodutivo das tartarugas marinhas na Foz do Rio Doce, em Linhares (ES) (setembro a abril), também ocorrerá a coleta de material para as análises ecotoxicológicas de *Caretta caretta*. Já para *Chelonia mydas* juvenis, a coleta de material acontecerá por busca ativa ou com uso de rede de espera de nylon com malha de 8cm, 6m de largura e 200m de comprimento (SANTOS, 2005) na região da APA Costa das Algas. A rede será lançada a partir de um barco motorizado e fixada ao fundo com âncora a uma distância de 30 a 200 metros da praia. Após armada, a rede será monitorada continuamente para evitar lesões nos animais que forem capturados. O tempo de esforço será variável (de 4 a 6 horas diárias), a depender das condições climáticas e oceanográficas.

Após a coleta dos espécimes, serão realizadas medidas biométricas (comprimento curvilíneo da carapaça e largura curvilínea da carapaça, ambos dados em centímetros) e avaliações da saúde geral de cada indivíduo (presença e intensidade de fibropapilomatose, parasitas e epibiontes), de acordo com as metodologias utilizadas pelo Projeto TAMAR/ICMBio. Em seguida, será realizada a coleta sanguínea por venopunção de até 30 indivíduos diferentes por espécie, por temporada reprodutiva. A coleta será

realizada com seringas descartáveis e agulhas hipodérmicas (40 x 1.2mm), obtendo-se um volume de 10mL, ou 0,1% do peso vivo do indivíduo. Em seguida, as amostras serão devidamente acondicionadas em tubos contendo heparina lítica, específicos para análises de elementos traço. O material será armazenado resfriado (4 a 8°C) até seu processamento inicial. Nesse processamento inicial, serão retirados 1mL de sangue total das amostras de cada indivíduo (hemograma), e o restante do sangue será centrifugado para obtenção do plasma. O plasma será armazenado em alíquotas de 2mL em criotubos plásticos e armazenadas em nitrogênio líquido para posterior análise bioquímica e de contaminantes.

### *Análise*

O hemograma deverá ser realizado em um intervalo de até 06 horas após a coleta das amostras. Durante o hemograma, deverão ser analisados hematócrito, eritrócitos, leucócitos, trombócitos e hemoglobina. Além do hemograma, serão analisados os seguintes parâmetros bioquímicos: glicose, colesterol, triglicerídeos, proteínas totais, albumina, globulinas, ureia, ácido úrico, cálcio, fósforo, ferro, magnésio, sódio, potássio, aspartatoaminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e creatinofosfoquinase. Com relação aos contaminantes, serão dosados elementos traços (cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), mercúrio (Hg), zinco (Zn) e arsênio (As)), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e bifenilas policloradas (PCBs).

## **3.3.15. MONITORAMENTO REMOTO DA MEGAFUNA**

### *Coleta*

O monitoramento da megafauna deverá ser realizado mensalmente, com a utilização de drones, a partir de 3 estações de decolagem. Nas estações de decolagem (a) Foz do rio Doce e (b) Reserva Biológica de Comboios – Linhares serão realizados dois transectos em cada estação. Já na estação de decolagem (c) Piraquê-Açu será realizado um transecto. As campanhas deverão abranger um período de 8 dias, sendo pelo menos 6 dias de coletas efetivas (6 réplicas). Em cada campanha, será utilizado somente uma estação de decolagem por dia. O padrão de voo deverá ser definido baseado na maior probabilidade de detecção da megafauna, considerando a maior área de varredura possível.

As coletas de dados comportamentais da megafauna da região em periodicidade mensal deverão ser continuadas pela importância ecológica das espécies e pela vulnerabilidade de alguns grupos de cetáceos existentes na região, como as toninhas (*Pontoporia blainvillei*).

### *Análise*

Os vídeos obtidos e os dados do início e do final dos avistamentos deverão ser analisados, e a posição geográfica e as observações sobre comportamento (deslocamento, alimentação e interação) deverão ser

compiladas. Para os grupos de toninha (*Pontoporia blainvillei*), os indivíduos deverão ser identificados e classificados entre adultos, jovens e filhotes, e o número de indivíduos será contabilizado.

#### 4. REFERÊNCIAS

ANA, CETESB. Agência Nacional de Águas, Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Guia nacional de coleta de preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. Brasília, DF: ANA, São Paulo: CETESB, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICA (ABNT). **NBR-15.469:2015. Ecotoxicologia - Coleta, preservação e preparo de amostras**. 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR-9.898:1987. Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores**. 1987.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR-ISO/IEC 17025:2017. Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração**. 2017.

COMITÊ INTERFEDERATIVO (IBAMA). Deliberação CIF nº 726, de 29 de setembro de 2023. **Aprovar as premissas elencadas na Nota Técnica nº 8/2023/CTBio/DIBIO/ICMBio para a nova fase do monitoramento da biodiversidade aquática na porção capixaba na bacia do rio Doce e zona costeiro – marinha**. 2023.

COORDENAÇÃO DE PROJETOS, PESQUISAS E ESTUDOS TECNOLÓGICOS (COPPETEC). Sobre sedimentos depositados na zona costeira adjacente à foz do Rio Doce, após a ruptura da barragem da Samarco em 05/11/2015. P5 – **Relatório de processos sedimentológicos conexos ao Rio Doce e aos rios adjacentes**. 2020.

FEST. Fundação Espírito-santense de Tecnologia. **4º Relatório Anual do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I – Porção Capixaba do Rio Doce e Região Marinha e Costeira Adjacente**. RT-43/JUN 23. Vitória, 2023.

FUNDAÇÃO RENOVA. **Programa de Monitoramento Quali-Quantitativo Sistemático de Água e Sedimento – PMQQS**: Segunda revisão bianual do PMQQS. Acesso em: 08 jan. 2024. 2023.

ICMBio - Termo de Referência 04/2016 - Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática - **Anexo III (Físico/Químico) - Estudo e Monitoramento Ambiental no Rio Doce, Área Estuarina e Marinha (Área Ambiental 1)** - (SEI 0502083). 2016.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA 454/2012. **Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional**. 2012.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA 357/2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. 2005.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRON, G. **Guia para estudo de áreas de manguezal; estrutura, função e flora**. São Paulo: *Caribbean Ecological Research*. Acesso em: 08 jan. 2024. 1986.



ATIVIDADE	ANO 1				ANO 2				ANO 3
	1º Trimestre	2º Trimestre	3º Trimestre	4º Trimestre	1º Trimestre	2º Trimestre	3º Trimestre	4º Trimestre	2º Trimestre
Coleta - tema ecotoxicologia									
Coleta - tema aves - ecotoxicologia									
AMBIENTE MARINHO	Coleta - tema água								
	Coleta - tema sedimento								
	Coleta - tema fitoplâncton e bacterioplâncton								
	Coleta - tema zooplâncton								
	Coleta - tema ictioplâncton								
	Coleta - tema bentos de fundo inconsolidado								
	Coleta - tema carcinofauna								
	Coleta - tema ictiofauna								
	Coleta - tema recrutamento da ictiofauna								
	Coleta - tema ecotoxicologia								
	Ensaio de toxicidade								
	Coleta - tema fundos recifais								
	Coleta - tema tartarugas marinhas <sup>1</sup>								
	Coleta - tema tartarugas marinhas - ecotoxicologia <sup>1</sup>								
	Monitoramento remoto da megafauna <sup>2</sup>								
	Relatório consolidado								

1 – Para os temas **Tartarugas Marinhas e Tartarugas Marinhas - Ecotoxicologia**, as coletas serão realizadas durante a desova das mesmas (entre outubro e janeiro).

2 – Para o tema **Monitoramento Remoto da Megafauna**, as coletas de informação deverão ocorrer mensalmente, conforme detalhado no escopo apresentado.

## 6. EQUIPE TÉCNICA

<b>NOME</b>	<b>FORMAÇÃO</b>	<b>FUNÇÃO</b>	<b>CONSELHO DE CLASSE</b>
Andreza Malini Gonçalves	Engenheira Ambiental	Engenheiro	CREA-ES 038911/D
MSc. Bárbara Jardim	Bióloga	Especialista	CRBio 049.845/D
Dr. Cristiano Macedo Pereira	Biólogo	Biólogo	CRBio 059.966/D
MSc. Fernanda Souza Sá	Bióloga	Biólogo	CRBio 123.824/D
Jade Huguenin Rios	Bióloga	Biólogo	CRBio 115.601/D
MSc. Leandro Fernandes Antônio Santos	Biólogo	Analista de Biodiversidade	CRBio 096.582/D
MSc. Leticia de Moraes	Bióloga	Analista de Biodiversidade	CRBio 078.058/D
Dra. Laila Medeiros	Bióloga	Coordenadora de Proteção e Monitoramento da Biodiversidade	CRBio 078.002/D

## ANEXO I - MALHA AMOSTRAL CONSOLIDADA

**Tabela 5.** Pontos selecionados para o monitoramento no âmbito da Nova Fase do Monitoramento da Biodiversidade Aquática-ES.

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Lagoa do Areal	LAL 01	413160,00	7834176,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Lago do Limão/Colatina-ES	LLM 03	354343,00	7835576,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Laguna Monsarás	LMN 02R	419112,00	7837679,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Lago Nova	LNV 02R	378452,00	7854394,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Calha Rio Doce – Montante do reservatório UHE Mascarenhas/Baixo Guandu-ES	RDO 11	288652,00	7841932,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Calha Rio Doce/Colatina-ES	RDO 12	315465,00	7842870,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Calha Rio Doce/Marilândia-ES	RDO 14	336475,00	7841654,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Calha Rio Doce/Linhares-ES	RDO 15	388815,00	7853452,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Calha Rio Doce/Foz – Regência-ES	RDO 16	414104,00	7827660,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Rio Guandu/Trecho baixo	RGU 02	288882,00	7840869,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Rio Manhuaçu/Aimorés-MG	RMH 01	280324,00	7844339,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Calha Rio Doce – Reservatório UHE Aimorés/Aimorés-MG	UHE AIM	279464,00	7849282,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Reservatório de Mascarenhas	UHE MAS	297074,00	7842409,00	24S
Dulcícola	Dulcícola Integrado	Lagoa Cacimbas	E27	407671,76	7826729,95	24S
Dulcícola	Ensaio de Toxicidade	Rio Guandu/Trecho alto	RGU 01	288351,08	7828746,17	24S
Dulcícola	Ensaio de Toxicidade	Calha Rio Doce – Montante do reservatório UHE Mascarenhas/Baixo Guandu-ES	RDO 11	288652,00	7841932,00	24S
Dulcícola	Ensaio de Toxicidade	Rio Doce - Colatina	RDO 13	328395,12	7839121,87	24S
Dulcícola	Ensaio de Toxicidade	Calha Rio Doce/Foz-Regência-ES	RDO 16	414104,00	7827660,00	24S
Costeiro	Praia	Praia Formosa	S2	380536,40	7790273,35	24S
Costeiro	Praia	Putiri	S3	385022,40	7798481,80	24S
Costeiro	Praia	Terra Indígena	S5	398483,47	7818548,41	24S
Costeiro	Praia	ReBio Comboios	S6	407367,12	7824486,82	24S
Costeiro	Praia	Regência	S7	413510,75	7826720,79	24S
Costeiro	Praia	Povoação	N1	417849,32	7834367,56	24S

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Costeiro	Praia	Degredo	N2	426483,79	7857327,48	24S
Costeiro	Praia	Barra Nova	N4	423038,22	7898015,07	24S
Costeiro	Praia	Guriri	N5	421281,58	7929487,64	24S
Costeiro	Praia	Itaúnas	N6	426653,00	7964715,00	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 1 bosque tipo bacia margem direita	PA1BD	379124,19	7793995,48	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 1 bosque tipo bacia margem esquerda	PA1BE	376553,05	7794732,31	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu - Ponto 1 - Margem Direita	PA1D	378964,20	7793649,70	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu - Ponto 1 - Margem Esquerda	PA1E	376704,70	7794597,60	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 1 bosque tipo franja margem direita	PA1FD	378971,59	7793638,06	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 1 bosque tipo franja margem esquerda	PA1FE	376742,42	7794613,93	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 2 bosque tipo bacia margem direita	PA2BD	371946,89	7797915,69	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 2 bosque tipo bacia margem esquerda	PA2BE	371891,85	7797403,26	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu - Ponto 2 - Margem Direita	PA2D	371964,80	7797909,00	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu - Ponto 2 - Margem Esquerda	PA2E	371980,90	7797448,10	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 2 bosque tipo franja margem direita	PA2FD	371936,48	7797890,15	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 2 bosque tipo franja margem esquerda	PA2FE	371991,08	7797482,93	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 3 bosque tipo bacia margem direita	PA3BD	367476,49	7800700,30	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 3 bosque tipo bacia margem esquerda	PA3BE	367357,49	7800473,25	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu - Ponto 3 - Margem Direita	PA3D	367471,60	7800705,10	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu - Ponto 3 - Margem Esquerda	PA3E	367375,80	7800515,30	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 3 bosque tipo franja margem direita	PA3FD	367404,07	7800709,00	24S

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 3 bosque tipo franja margem esquerda	PA3FE	367371,83	7800517,01	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Açu ponto 3 margem esquerda	PA4E	365952,93	7803065,54	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 1 bosque tipo bacia margem direita	PM1BD	376203,21	7793956,99	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 1 bosque tipo bacia margem esquerda	PM1BE	376848,40	7793623,48	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim - Ponto 1 - Margem Direita	PM1D	376309,00	7793983,60	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim - Ponto 1 - Margem Esquerda	PM1E	376851,30	7793635,20	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 1 bosque tipo franja margem direita	PM1FD	376316,31	7793978,59	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 1 bosque tipo franja margem esquerda	PM1FE	376810,33	7793689,28	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 2 bosque tipo bacia margem direita	PM2BD	375114,68	7794137,10	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 2 bosque tipo bacia margem esquerda	PM2BE	374867,81	7793889,60	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim - Ponto 2 - Margem Direita	PM2D	375113,20	7794139,00	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim - Ponto 2 - Margem Esquerda	PM2E	374873,10	7793894,00	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 2 bosque tipo franja margem direita	PM2FD	375063,29	7794099,73	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 2 bosque tipo franja margem esquerda	PM2FE	374895,27	7793904,08	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 3 bosque tipo bacia margem direita	PM3BD	370295,64	7795510,20	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 3 bosque tipo bacia margem esquerda	PM3BE	369877,92	7794574,94	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim - Ponto 3 - Margem Direita	PM3D	370303,60	7795515,30	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim - Ponto 3 - Margem Esquerda	PM3E	369873,10	7794581,70	24S
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 3 bosque tipo franja margem direita	PM3FD	370309,38	7795481,99	24S

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Costeiro	Manguezal	Piraquê-Mirim ponto 3 bosque tipo franja margem esquerda	PM3FE	369839,68	7794615,34	24S
Costeiro	Manguezal	Rio Doce	RD BASE	413358,40	7827619,00	24S
Costeiro	Manguezal	Rio Doce	RD1E	413687,10	7827397,50	24S
Costeiro	Manguezal	Rio Doce	RD2D	413807,30	7827576,20	24S
Costeiro	Manguezal	Rio Doce ponto 3 margem direita	RD3D	413544,61	7828226,49	24S
Costeiro	Manguezal	Rio Doce ponto 3 margem esquerda	RD3E	413695,00	7827415,00	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 1 bosque tipo bacia margem esquerda	BN1BE	420761,53	7903921,28	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 1 margem esquerda	BN1E	421542,89	7903032,86	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 1 bosque tipo franja margem esquerda	BN1FE	420801,17	7903823,10	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 2 bosque tipo bacia margem direita	BN2BD	420738,05	7904742,32	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 2 margem direita	BN2D	421123,05	7904620,71	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 2 bosque tipo franja margem direita	BN2FD	420534,20	7904620,94	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 3 bosque tipo bacia margem direita	BN3BD	419860,19	7903776,93	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 3 margem direita	BN3D	419897,57	7903718,64	24S
Costeiro	Manguezal	Barra Nova ponto 3 bosque tipo franja margem direita	BN3FD	419975,06	7903679,37	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 1 bosque tipo bacia margem direita	SM1BD	422124,23	7944276,91	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 1 bosque tipo bacia margem esquerda	SM1BE	421854,18	7941718,75	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 1 margem direita	SM1D	422048,45	7941607,44	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 1 margem esquerda	SM1E	421262,13	7944458,93	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 1 bosque tipo franja margem direita	SM1FD	422213,23	7944160,36	24S

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 1 bosque tipo franja margem esquerda	SM1FE	422008,36	7941670,07	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 2 bosque tipo bacia margem esquerda	SM2BE	420749,60	7941993,40	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 2 margem direita	SM2D	421171,85	7940505,25	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 2 margem esquerda	SM2E	420206,74	7944203,11	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 2 bosque tipo franja margem direita	SM2FD	419732,89	7940290,39	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 2 bosque tipo franja margem esquerda	SM2FE	419912,13	7942997,71	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 3 bosque tipo bacia margem direita	SM3BD	419445,78	7938182,64	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 3 bosque tipo bacia margem esquerda	SM3BE	421161,80	7940513,82	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 3 margem esquerda	SM3E	421913,39	7943584,45	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 3 bosque tipo franja margem direita	SM3FD	419486,60	7938162,64	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 3 bosque tipo franja margem esquerda	SM3FE	421143,07	7940508,70	24S
Costeiro	Manguezal	São Mateus ponto 4 margem esquerda	SM4E	421718,11	7941843,88	24S
Costeiro	Restinga	APA Conceição da Barra	E1	422526,00	7940536,00	24S
Costeiro	Restinga	Aldeia do Coco	E3	420873,00	7922548,00	24S
Costeiro	Restinga	Barra Nova	E4	422123,00	7903558,00	24S
Costeiro	Restinga	Cacimbas/Linhares	E6	422598,00	7845937,00	24S
Costeiro	Restinga	REBIO Comboios/Linhares	E7	406676,00	7824791,00	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Praia Formosa	S2	380536,40	7790273,35	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Putiri	S3	385022,40	7798481,80	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Terra Indígena	S5	398483,47	7818548,41	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	ReBio Comboios	S6	407367,12	7824486,82	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Regência	S7	413510,75	7826720,79	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Povoação	N1	417849,32	7834367,56	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Degredo	N2	426483,79	7857327,48	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Barra Nova	N4	423038,22	7898015,07	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Guriri	N5	421281,58	7929487,64	24S

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Costeiro	Ecotoxicologia	Itaúnas	N6	426653,00	7964715,00	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Rio_Piraqueacu_PAM	PAM	375807,78	7793773,70	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Foz_de_Regencia_FRG	FRG	413724,67	7827888,28	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	Barra_Nova	BN2D	421123,05	7904620,71	24S
Costeiro	Ecotoxicologia	São_Mateus	SM2FE	419912,13	7942997,71	24S
Costeiro	Aves - Ecotoxicologia	Praia de Guriri	AE01	422853,00	7942873,00	24S
Costeiro	Aves - Ecotoxicologia	Foz do rio Doce	AE02	414413,00	7826875,00	24S
Costeiro	Aves - Ecotoxicologia	Foz do rio Piraquê-Açu	AE03	379150,00	7793642,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 01	384043,00	7790616,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 02	390338,00	7791253,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 03	404235,00	7791153,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 04	418100,00	7795785,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 05	386405,00	7782339,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 06	401063,00	7777853,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 07	411733,00	7771576,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 08	388985,00	7794893,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 09	386303,00	7787608,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 13	391745,00	7787276,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CA 15	400470,00	7781684,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SD 01	417558,00	7826708,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SD 02	419392,00	7823040,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SD 03	422769,00	7819937,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SD 04	428467,00	7815169,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDN 12	431683,00	7853129,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDN 13	428269,00	7842923,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDN 20	423532,00	7829898,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDN 29	440573,00	7844443,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDN 30	427721,00	7832036,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDS 13	399459,00	7814269,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDS 19	393211,00	7805649,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDS 20	411879,00	7816813,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDS 30	407209,00	7805922,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		SDS 35	419179,00	7810649,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		BN 02	426147,00	7903598,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		BS 01	427648,00	7885331,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		BS 02	449603,00	7881227,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CB 01	426113,00	7933431,00	24S

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Marinho	Marinho Integrado		DEG 01	429405,00	7864890,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		DEG 02	451968,00	7856730,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		ITA 01	430449,00	7964547,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		ITA 03	448863,00	7958069,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		CB 03	439477,00	7930422,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		BN 03	439301,00	7901222,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		BS 03	438444,00	7881636,00	24S
Marinho	Marinho Integrado		DEG 03	443321,00	7860563,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_1	427561,70	7942247,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_2	428067,20	7942226,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_3	428558,40	7942195,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_4	427548,00	7941766,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_5	428042,80	7941738,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_6	428519,70	7941699,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_7	427502,40	7941278,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_8	428010,90	7941222,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC2_9	428516,40	7941197,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_1	418951,00	7828145,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_2	419159,00	7828602,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_3	419390,00	7829045,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_4	419420,00	7827938,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_5	419632,00	7828396,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_6	419833,00	7828849,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_7	419921,00	7827704,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_8	420127,00	7828164,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTI_9	420289,00	7828652,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_1	384185,00	7794216,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_2	384417,00	7793738,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_3	384583,00	7793288,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_4	384662,00	7794461,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_5	384877,00	7794020,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_6	385049,00	7793527,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_7	385071,00	7794652,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_8	385352,00	7793992,00	24S
Marinho	Recrutamento		LTC1_9	385408,00	7793560,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SM03	425158,04	7942550,97	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SM04	427286,99	7941979,61	24S

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SM05	427435,48	7943853,64	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SM06	426992,08	7939870,95	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		ITA01	430449,00	7964547,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		CB01	424570,00	7933756,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		BN02	426147,00	7903598,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		BS01	427648,00	7885331,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SDN13	428269,00	7842923,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SDN30	427720,96	7832036,13	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SD03	422769,00	7819937,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SDS20	411879,00	7816813,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		PA03	382331,00	7794035,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		PA04	385460,00	7793323,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		PA05	386549,00	7794865,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		PA06	384598,00	7791417,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		RD03	416012,00	7825335,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		RD04	417877,00	7823800,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		RD05	419357,00	7825443,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		RD06	415948,00	7822434,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		CA 02	390338,00	7791253,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SDS19	393211,00	7805649,00	24S

AMBIENTE	TEMA	NOME DA ESTAÇÃO	CÓDIGO	UTM_X*	UTM_Y*	FUSO
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SDS13	399459,00	7814269,00	24S
Marinho	Ictiofauna e carcinofauna		SD 01	417558,00	7826708,00	24S
Marinho	Fundos Recifais	Esquecido Fundo	B1	453960,00	7912880,00	24S
Marinho	Fundos Recifais	Esquecido Norte	B2	448159,00	7938657,00	24S
Marinho	Fundos Recifais	Esquecido Central	B3	445417,00	7924032,00	24S
Marinho	Fundos Recifais	Esquecido Sul	B4	441760,00	7910356,00	24S
Marinho	Fundos Recifais	Esquecido Norte 2	B5	453462,00	7935451,00	24S
Marinho	Fundos Recifais	Esquecido Sul 2	B6	445611,00	7908254,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D1	389258,00	7794986,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D2	403603,00	7795890,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D5	399394,00	7785130,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D9	382787,00	7778220,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D10	395830,00	7775868,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D14	385672,00	7799202,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D15	382849,00	7795631,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D17	381099,00	7791203,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D19	378876,00	7784259,00	24S
Marinho	Fundos Recifais		D21	377309,00	7783971,00	24S
Marinho	Monitoramento Remoto		1	414092,55	7826436,44	24S
Marinho	Monitoramento Remoto		2	405046,20	7823240,30	24S
Marinho	Monitoramento Remoto		3	381053,94	7794646,91	24S

\*Datum SIRGAS 2000.

## ANEXO II – PARÂMETROS ECOTOXICOLÓGICOS ANALISADOS

**Tabela 6.** Biomarcadores selecionados para compor as análises dos dados gerados pelo monitoramento no âmbito da Nova Fase do Monitoramento da Biodiversidade Aquática-ES para o tema Ecotoxicologia nos ambientes dulcícola, costeiro e marinho.

<b>DULCÍCOLA</b>	
Fitoplâncton	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Zooplâncton	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Brânquias de camarões	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Hepatopâncreas de camarões	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito) Oxidação de proteínas (PCO)
Músculo de camarões	Oxidação de proteínas (efeito) Danos no DNA (sítios AP)
Brânquias de peixes	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito) Oxidação de proteínas (PCO) Atividades enzimáticas (CAT, SOD e LDH) Histopatologia Danos no DNA (sítios AP)
Fígado de peixe	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito) Oxidação de proteínas (efeito) Atividades enzimáticas (CAT, SOD e LDH) Histopatologia
Músculo de peixes	Oxidação de proteínas (efeito) Danos no DNA (sítios AP)
Água e sedimento	Análise da microbiota total
<b>COSTEIRO</b>	
Poliquetas, anfípodas e isópodas	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Brânquias de caranguejos	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Hepatopâncreas de caranguejos	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito) Oxidação de proteínas (PCO)
Músculo de caranguejos	Oxidação de proteínas (PCO) Danos no DNA (sítios AP)
Aves	Concentrações de alumínio (Al), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), mercúrio (Hg), níquel (Ni), zinco (Zn) e arsênio (As) na sua fração total
<b>MARINHO</b>	

Fitoplâncton	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Zooplâncton	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Brânquias de camarões	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito)
Hepatopâncreas de camarões	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito) Oxidação de proteínas (PCO)
Músculo de camarões	Oxidação de proteínas (efeito) Danos no DNA (sítios AP)
Brânquias de peixes	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito) Oxidação de proteínas (PCO) Atividades enzimáticas (CAT, SOD e LDH) Histopatologia Danos no DNA (sítios AP)
Fígado de peixes	Concentração de metalotioneínas (exposição) Peroxidação lipídica (efeito) Oxidação de proteínas (PCO) Atividades enzimáticas (CAT, SOD e LDH) Histopatologia
Músculo de peixes	Oxidação de proteínas (efeito) Danos no DNA (sítios AP)
Água e sedimento	Análise da microbiota total