



Plano de Trabalho

Programa de Monitoramento da fauna terrestre
na bacia do rio Doce



FUNDAÇÃO
renova

agosto de 2021

SUMÁRIO

ÍNDICE DE QUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
APRESENTAÇÃO.....	ix
1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo Principal.....	11
2.2. Objetivos Específicos	12
3. DADOS DA CONSULTORIA.....	14
4. DADOS DA CONTRATANTE.....	14
5. ÁREA DE ESTUDO.....	15
6. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
6.1. Desmontagem das trilhas RAPELD	20
6.1. Planejamento prévio	20
6.2. Vistoria, seleção, implantação e manutenção dos Sítios Amostrais.....	20
6.3. Métodos de amostragem	21
6.3.1. Insetos.....	21
6.3.1.1. Pergunta 3 - Está ocorrendo contaminação por elementos químicos e consequentes danos em espécies de invertebrados e de pequenos vertebrados (anfíbios, répteis, roedores e marsupiais) que estão em contato direto com o rejeito? 21	
6.3.1.2. Pergunta 5 - Qual a magnitude espaço-temporal dos impactos crônicos (persistentes ou recorrentes) da presença da mancha de rejeitos sobre a diversidade e características de insetos terrestres?	23
6.3.1.3. Pergunta 13 - Quais os efeitos das ações de restauração e recuperação das áreas impactadas sobre a diversidade de invertebrados?	26
6.3.1.4. Pergunta 16 - A regeneração dos ambientes degradados pelo rompimento da barragem e dos ambientes em restauração na bacia está restaurando a funcionalidade dos ecossistemas e permitindo o retorno de processos ecológicos executados por espécies de insetos, mamíferos e aves?.....	28
6.3.2. Mastofauna terrestre (pequenos mamíferos)	32
6.3.3. Mastofauna voadora (morcegos)	35
6.3.3.1. Pergunta 16 - A regeneração dos ambientes degradados pelo rompimento da barragem e dos ambientes em restauração na bacia está restaurando a funcionalidade dos ecossistemas e permitindo o retorno de processos ecológicos executados por espécies de insetos, mamíferos e aves?.....	35
6.3.4. Herpetofauna.....	37
6.3.4.1. Pergunta 3 - Está ocorrendo contaminação por elementos químicos e consequentes danos em espécies de invertebrados e de pequenos vertebrados (anfíbios, répteis, roedores e marsupiais) que estão em contato direto com o rejeito? 37	

6.3.4.2.	Pergunta 6 - Áreas diretamente afetadas pelo rejeito apresentam menor abundância do cágado-de-barbichas (<i>Phrynosops geoffroanus</i>) do que áreas não afetadas, como sugerem os dados da Avaliação Ecológica Rápida? Caso a abundância seja de fato menor em áreas diretamente afetadas, haverá aumento na abundância dessa espécie ao longo de 9 anos, em função das supostas melhorias nas condições ambientais da bacia?	43
6.3.4.3.	Pergunta 7 - Existem riachos, que tiveram vegetação ripária, calha e margens completamente descaracterizadas pela passagem da onda de rejeito, que abrigam populações de <i>Hydromedusa maximiliani</i> em seus trechos localizados a montante da área diretamente afetada? Trechos de riachos recuperados e que abrigam indivíduos a montante da área diretamente afetada serão utilizados por <i>Hydromedusa maximiliani</i> em dez anos, na medida em que houver uma melhoria da sua qualidade ambiental em função do processo de restauração ambiental?	44
6.3.4.4.	Pergunta 14 - Como o processo de recuperação e restauração ecológica de habitats afeta a composição da comunidade de anfíbios e répteis Squamata ao longo do tempo?	46
6.3.5.	Avifauna	50
6.3.5.1.	Pergunta 8 - Existem diferenças entre as comunidades da avifauna de áreas afetadas pela deposição de rejeito e em áreas de floresta não submetidas a este estressor? Se sim, quais são estas diferenças?	50
6.3.5.2.	Pergunta 9- Existem diferenças na diversidade funcional da avifauna em áreas afetadas pela deposição de rejeito e em áreas de floresta não submetidas a este estressor? Se sim, quais são estas diferenças?	50
6.3.5.3.	Pergunta 15 - Existem diferenças nos padrões de sucessão entre as comunidades da avifauna de áreas afetadas pela deposição de rejeito em processo de restauração e em áreas de floresta não submetidas a este estressor em diferentes escalas da paisagem?.....	51
6.3.5.1.	Pergunta 16 - A regeneração dos ambientes degradados pelo rompimento da barragem e dos ambientes em restauração na bacia está restaurando a funcionalidade dos ecossistemas e permitindo o retorno de processos ecológicos executados por espécies de insetos, mamíferos e aves?.....	51
6.4.	Análise de dados	52
6.4.1.	Análises para levantamento da suficiência amostral e riqueza de espécies ...	53
6.4.2.	Métrica de composição de espécies	53
6.4.3.	Análises com o objetivo de responder à pergunta de qual o efeito espacial do rompimento da barragem de Fundão – comparação das métricas obtidas entre os fragmentos alvo e referência ao longo da calha do rio dentro de um mesmo ano de amostragem.....	54
6.4.4.	Análises com o objetivo de responder à pergunta de qual o efeito espaço-temporal do rompimento da barragem de Fundão – avaliação da evolução temporal dos padrões observados nos fragmentos amostrados ao longo da calha do rio.	55
6.4.5.	Dados secundários	55
6.4.6.	Status Populacional e Endemismo	56
6.5.	Coleta, eutanásia e depósito de espécimes coletados.....	57
7.	EQUIPE TÉCNICA	58

8. CRONOGRAMA.....	63
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
ANEXO I – CRONOGRAMAS	70
ANEXO II – CARTA DE ACEITE DAS INSTITUIÇÕES DEPOSITÁRIAS	73
ANEXO III – DOCUMENTAÇÃO DA EQUIPE TÉCNICA	74

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Resumo quantitativo do esforço amostral para a coleta de insetos para as perguntas 3 e 5 durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.	26
Quadro 2. Resumo quantitativo do esforço amostral para a coleta de insetos durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	28
Quadro 3. Potenciais pontos amostrais (lagoas/brejos) sugeridos para a avaliação de contaminação, danos, malformações e desvios de simetria em girinos em áreas afetadas (alvo) e de referência durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	37
Quadro 4. Potenciais pontos amostrais (lagoas/brejos) alternativos sugeridos para a avaliação de contaminação, danos, malformações e desvios de simetria em girinos em áreas afetadas e de referência para o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	41
Quadro 5. Localização dos trechos do monitoramento populacional do cágado-de-barbichas <i>Phrynops geoffroanus</i> no alto rio Doce durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	44
Quadro 6. Potenciais tributários para o monitoramento de <i>Hydromedusa maximiliani</i> durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	45
Quadro 7. Potenciais pontos amostrais (trechos de riacho) sugeridos para a avaliação dos efeitos da restauração espontânea e recuperação de riachos diretamente afetados na estrutura da comunidade de anfíbios durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	47
Quadro 8. Equipe de coordenação técnica para Avaliação e Monitoramento da Fauna Terrestre nos Estados de Minas Gerais e Espírito Santo.....	59
Quadro 9. Cronograma executivo para a atividade de desmontagem da infraestrutura RAPELD usada na primeira fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 10. Cronograma executivo para a atividade de vistoria e montagem da nova infraestrutura de campo a ser usada na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..	71
Quadro 11. Cronograma executivo para as atividades do grupo de abelhas (pergunta 5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71

Quadro 12. Cronograma executivo para as atividades do grupo de besouros (pergunta 5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 13. Cronograma executivo para as atividades do grupo de odonata (pergunta5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 14. Cronograma executivo para as atividades do grupo de borboletas (pergunta5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 15. Cronograma executivo para as atividades do grupo de formigas (pergunta5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 16. Cronograma executivo para as atividades do grupo de abelhas (perguntas 13 e 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 17. Cronograma executivo para as atividades do grupo de besouros (perguntas 13 e 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 18. Cronograma executivo para as atividades do grupo de borboletas (perguntas 13 e 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 19. Cronograma executivo para as atividades do grupo de formigas (perguntas 13 e 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 20. Cronograma executivo para as atividades do grupo de borboletas (pergunta 16) a serem usadas na próxima fase do estudo Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 21. Cronograma executivo para as atividades do grupo de aves (pergunta 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	71
Quadro 22. Cronograma executivo para as atividades do grupo de pequenos mamíferos não voadores (pergunta 3) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..	72
Quadro 23. Cronograma executivo para as atividades do grupo de morcegos (pergunta 16; redes-neblina) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	72

Quadro 24. Cronograma executivo para as atividades do grupo de morcegos (pergunta 16; experimento de germinação) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..	72
Quadro 25. Cronograma executivo para as atividades do grupo da herpetofauna (pergunta 3 e 14, experimento de lagos) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..	72
Quadro 26. Cronograma executivo para as atividades do grupo da herpetofauna (pergunta 14, experimento de riachos) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..	72
Quadro 27. Cronograma executivo para as atividades do grupo de quelônios (pergunta 7) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	72
Quadro 28. Cronograma executivo para as atividades do grupo da herpetofauna (pergunta 14) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	72
Quadro 29. Cronograma executivo para as atividades do grupo da avifauna (pergunta 9) a serem usadas na próxima fase do estudo Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	72
Quadro 30. Cronograma executivo para as atividades do grupo da avifauna (pergunta 15) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Áreas de Interesse para Monitoramento da Biodiversidade Terrestre no Trecho Fundão-Candongá – Área 1, a serem amostradas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	16
Figura 2. Áreas de Interesse para Monitoramento da Biodiversidade Terrestre no Trecho Fundão-Candongá – Área 2, a serem amostradas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	17
Figura 3. Áreas de Interesse para Monitoramento da Biodiversidade Terrestre no Trecho Fundão-Candongá – Área 3, a serem amostradas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	18
Figura 4. Mapa com Sítios Potenciais para Monitoramento em Ilhas Fluviais e Restingas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..	19
Figura 5. Representação esquemática da disposição dos métodos de amostragens de insetos nas unidades amostrais (transecto) do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	22
Figura 6. Representação esquemática da disposição dos métodos de amostragens de insetos nas unidades amostrais (parcelas de 30 x 30 m) durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	28
Figura 7. Exemplo de imagem digital de folha atacada por insetos mastigadores a serem aplicadas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.	30
Figura 8. Localização dos potenciais pontos amostrais (lagoas/brejos) sugeridos para a avaliação de contaminação, danos, malformações e desvios de simetria em girinos em áreas afetadas e de referência para serem usadas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	40
Figura 9. Localização dos potenciais pontos amostrais (trechos de riacho) sugeridos para a avaliação dos efeitos da restauração espontânea e recuperação de riachos diretamente afetados na estrutura da comunidade de anfíbios durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.....	49

APRESENTAÇÃO

Neste documento é apresentado o Plano de Trabalho para o estudo de fauna que comporá a execução do **Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.**, para a **Fundação RENOVA**, sediada no município de Belo Horizonte, Minas Gerais.

1. INTRODUÇÃO

O rompimento da barragem de rejeitos de Fundão, de propriedade da Samarco S.A., localizada no Complexo Industrial de Germano, em Mariana, MG, no dia 5 de novembro de 2015, resultou no despejo de ca. 45 milhões de m³ de água e rejeito ao longo dos cursos d'água da bacia do rio Doce (GOLDER ASSOCIATES, 2016a). O arrasto mecânico da mancha de rejeitos destruiu vegetação nativa, áreas de atividade agropecuária, estruturas físicas, distritos e vilas, provocando a morte de 19 pessoas (SÁNCHEZ et al., 2018). À medida que avançava pelos cursos d'água na bacia do rio Doce, boa parte do rejeito foi se depositando nas margens ao longo do trecho entre a barragem e o reservatório de Candonga (Usina Hidroelétrica Risoleta Neves) e a pluma remanescente seguiu pelo leito do rio Doce, atingindo o oceano.

Em março de 2016, como forma de otimizar a gestão sobre a situação do ambiente e das populações afetadas, foram desenvolvidos junto às autoridades ambientais planos e procedimentos em resposta aos impactos ambientais resultantes do rompimento da barragem de Fundão, que gerou o Termo de Transação e Ajustamento de Conduta (TTAC), sendo a **Fundação RENOVA** a principal responsável por sua implantação, condução e monitoramento. Entre as diversas cláusulas do TTAC, a cláusula 168 diz respeito à identificação e caracterização dos impactos sobre as espécies terrestres ameaçadas de extinção. Tal caracterização foi realizada pela empresa **Golder Associates Brasil Consultoria e Projetos Ltda.**, que elaborou o estudo Avaliação de Impacto sobre as Espécies Terrestres Ameaçadas de Extinção (GOLDER ASSOCIATES, 2016b), aprovado parcialmente em agosto de 2017 pelo Comitê Inter Federativo (CIF), que solicitou a apresentação de Plano de Trabalho para elaboração do Plano de Ação (PA) para conservação da fauna e flora terrestre.

Uma das etapas do Programa de Monitoramento, previsto no TTAC, foi a realização da Avaliação Ecológica Rápida (AER), executada conforme Parecer Técnico do IBAMA, seguindo a metodologia RAPELD para o monitoramento de vertebrados, invertebrados, vegetação e solos. O primeiro ano da Avaliação Ecológica Rápida realizou duas campanhas, uma na estação seca e outra na chuvosa autorizado pela ABIO nº 10/2018-CGBIO/DBFLO processo nº 02001.001896/2018-05. As campanhas produziram um extenso banco de dados sobre fauna e flora nos blocos amostrados ao longo da bacia do rio Doce (BICHO DO MATO MEIO AMBIENTE LTDA., 2020).

Ao final de 2019 foi realizado o **Workshop de Avaliação dos Resultados do primeiro ano do Monitoramento**. Ficou claro durante o workshop que os resultados obtidos durante a AER não foram capazes de responder às perguntas originais e que, tal como previsto no TTAC seria necessário reavaliar os princípios, as perguntas, a metodologia e os indicadores do monitoramento da biodiversidade terrestre.

Em dezembro de 2019 foi realizado o **“Workshop para Definição de Indicadores de Resultados da Biodiversidade dos Programas 28 e 30”** tendo como principais objetivos: o alinhamento do conceito de Indicadores de Biodiversidade; a validação das premissas e dos critérios para construção de Indicadores de Biodiversidade dos Programas 28 e 30 (PG28 e PG30); a construção de indicadores para os Programas; e a criação de consensos para construção do mapa de indicadores.

Em virtude dos resultados e da discussão relacionada ao relatório da Avaliação Ecológica Rápida e do Workshop de definição de Indicadores do PG30, a **Fundação RENOVA** solicitou ao **Instituto Ekos Brasil** a elaboração do novo Programa Monitoramento da Biodiversidade Terrestre, que foi aprovado em maio de 2021 por meio da NT03/2021.

Paralelamente a este processo, a 3ª campanha de monitoramento de fauna aconteceu durante a estação chuvosa (nos meses de fevereiro e março de 2020) autorizado pelas ABIOs nº 15/2019, 1/2020, 2/2020, 3/2020, 4/2020, 5/2020, 6/2020, 7/2020, 8/2020, 9/2020, 10/2020 e 11/2020-CGBIO/DBFLO, quando as atividades foram paralisadas por conta da pandemia do COVID19. Em virtude de um cenário mais amenizado e o avanço da campanha de vacinação as atividades de monitoramento serão retomadas, respeitando os protocolos de segurança e, agora, a luz do novo programa de monitoramento da biodiversidade terrestre. Portanto, este Plano de Trabalho versa sobre a execução do programa de monitoramento remodelado pela equipe do **Instituto Ekos Brasil** e aprovada pelo CTBio/CIF em junho de 2021 por meio da Deliberação CIF 517 e a seguir estão apresentados o detalhamento metodológico, dados da equipe executora e cronograma para obtenção da Autorização de Captura, Manejo e Transporte de Material Biológico (ABIO).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Principal

Este programa tem como objetivo geral abordar três questões principais:

1. Quais os impactos persistentes ou recorrentes do evento sobre as espécies da fauna e flora terrestre da bacia do rio Doce, qual a magnitude, a abrangência espacial e temporal destes impactos?
2. Há tendência de aumento de condições ambientais favoráveis para o restabelecimento de populações de animais e plantas e dos processos ecológicos afetados pelo rompimento da barragem?
3. As ações de restauração, recuperação e compensação da bacia do rio Doce estão levando ao aumento na abundância, distribuição ou riqueza de espécies ou grupos funcionais ameaçados, sensíveis ou chave, nos diferentes contextos afetados?


2.2. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste programa consistem em responder às perguntas abaixo. No entanto, para escopo de fauna, o qual esse plano se propõe a investigar as perguntas 1, 2, 4, 11 e 12 não estão contempladas.


- 1) Qual a magnitude, abrangência espacial e temporal dos impactos decorrentes da presença de contaminantes sobre a flora terrestre da bacia do rio Doce?
- 2) Quais concentrações de contaminantes na vegetação poderiam ser consideradas como vetores de impacto biológico (danos)?
- 3) Está ocorrendo contaminação por elementos químicos e consequentes danos em espécies de invertebrados e de pequenos vertebrados (anfíbios, répteis, roedores e marsupiais) que estão em contato direto com o rejeito?
- 4) Qual o efeito do rompimento da barragem e consequente derramamento de rejeitos que avançaram sobre a vegetação natural, na redução de florestas, na alteração da diversidade (taxonômica, filogenética e funcional), na estrutura e funcionamento das comunidades vegetais remanescentes que receberam rejeito, tendo como base o contexto original da paisagem regional?
- 5) Qual a magnitude espaço-temporal dos impactos crônicos (persistentes ou recorrentes) da presença da mancha de rejeitos sobre a diversidade e características de insetos terrestres?
- 6) Áreas diretamente afetadas pelo rejeito apresentam menor abundância do cágado-de-barbichas (*Phrynops geoffroanus*) do que áreas não afetadas, como sugerem os dados da Avaliação Ecológica Rápida? Caso a abundância seja de fato menor em áreas

- diretamente afetadas, haverá aumento na abundância dessa espécie ao longo de 9 anos, em função das supostas melhorias nas condições ambientais da bacia?
- 7) Existem riachos, que tiveram vegetação ripária, calha e margens completamente descaracterizadas pela passagem da onda de rejeito, que abrigam populações de *Hydromedusa maximiliani* em seus trechos localizados a montante da área diretamente afetada? Trechos de riachos recuperados e que abrigam indivíduos a montante da área diretamente afetada serão utilizados por *Hydromedusa maximiliani* em dez anos, na medida em que houver uma melhoria da sua qualidade ambiental em função do processo de restauração ambiental?
 - 8) Existem diferenças entre as comunidades da avifauna de áreas afetadas pela deposição de rejeito e em áreas de floresta não submetidas a este estressor? Se sim, quais são estas diferenças?
 - 9) Existem diferenças na diversidade funcional da avifauna em áreas afetadas pela deposição de rejeito e em áreas de floresta não submetidas a este estressor? Se sim, quais são estas diferenças?
 - 10) A presença da mancha de rejeitos nas margens dos cursos d'água afeta a composição e estrutura da comunidade de pequenos mamíferos nos fragmentos impactados?
 - 11) É possível detectar uma mudança ambientalmente positiva na estrutura e composição da paisagem natural na bacia do rio Doce ao longo do tempo?
 - 12) A restauração florestal planejada ou realizada no domínio espacial do PG30, como compensação da destruição oriunda do rompimento da barragem, vai conseguir restaurar a biodiversidade (taxonômica, filogenética e funcional), incluindo as espécies ameaçadas, sensíveis ou chaves, a estrutura, o funcionamento e o provimento de serviços ecossistêmicos, tendo os ecossistemas naturais mais conservados (estágio médio e avançado de regeneração) como referência?
 - 13) Quais os efeitos das ações de restauração e recuperação das áreas impactadas sobre a diversidade de invertebrados?
 - 14) Como o processo de recuperação e restauração ecológica de habitats afeta a composição da comunidade de anfíbios e répteis Squamata ao longo do tempo?
 - 15) Existem diferenças nos padrões de sucessão entre as comunidades da avifauna de áreas afetadas pela deposição de rejeito em processo de restauração e em áreas de floresta não submetidas a este estressor em diferentes escalas da paisagem?
 - 16) A regeneração dos ambientes degradados pelo rompimento da barragem e dos ambientes em restauração na bacia está restaurando a funcionalidade dos ecossistemas e permitindo o retorno de processos ecológicos executados por espécies de insetos, mamíferos e aves?

3. DADOS DA CONSULTORIA

EMPRESA RESPONSÁVEL PELOS ESTUDOS TÉCNICOS	
Razão Social	Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda. 
Endereço	Rua Eclipse 133 - Santa Lúcia. Belo Horizonte/ MG CEP 30360-540
Telefone	(31) 3312-4374
Inscrição Estadual	Isenta
CNPJ	08.314.527/0001-00
Responsável Técnica	Edeltrudes M. Valadares Calaça Câmara Bióloga MSc. CRBio 8619/4-D
E-mail	tudy@bichodomato.net.br

4. DADOS DA CONTRATANTE

EMPRESA CONTRATANTE	
Razão Social	Fundação Renova 
Endereço	Av. Getúlio Vargas, 671. Bairro Funcionários, Belo Horizonte- MG CEP 30112-021
Telefone	(31) 98461-7546
Inscrição Estadual	Isenta
CNPJ	25.135.507/0001-83
Responsável pelo Projeto	Juliana Oliveira Lima Bióloga CRBio 57508/04
E-mail	juliana.lima@fundacaorenova.org

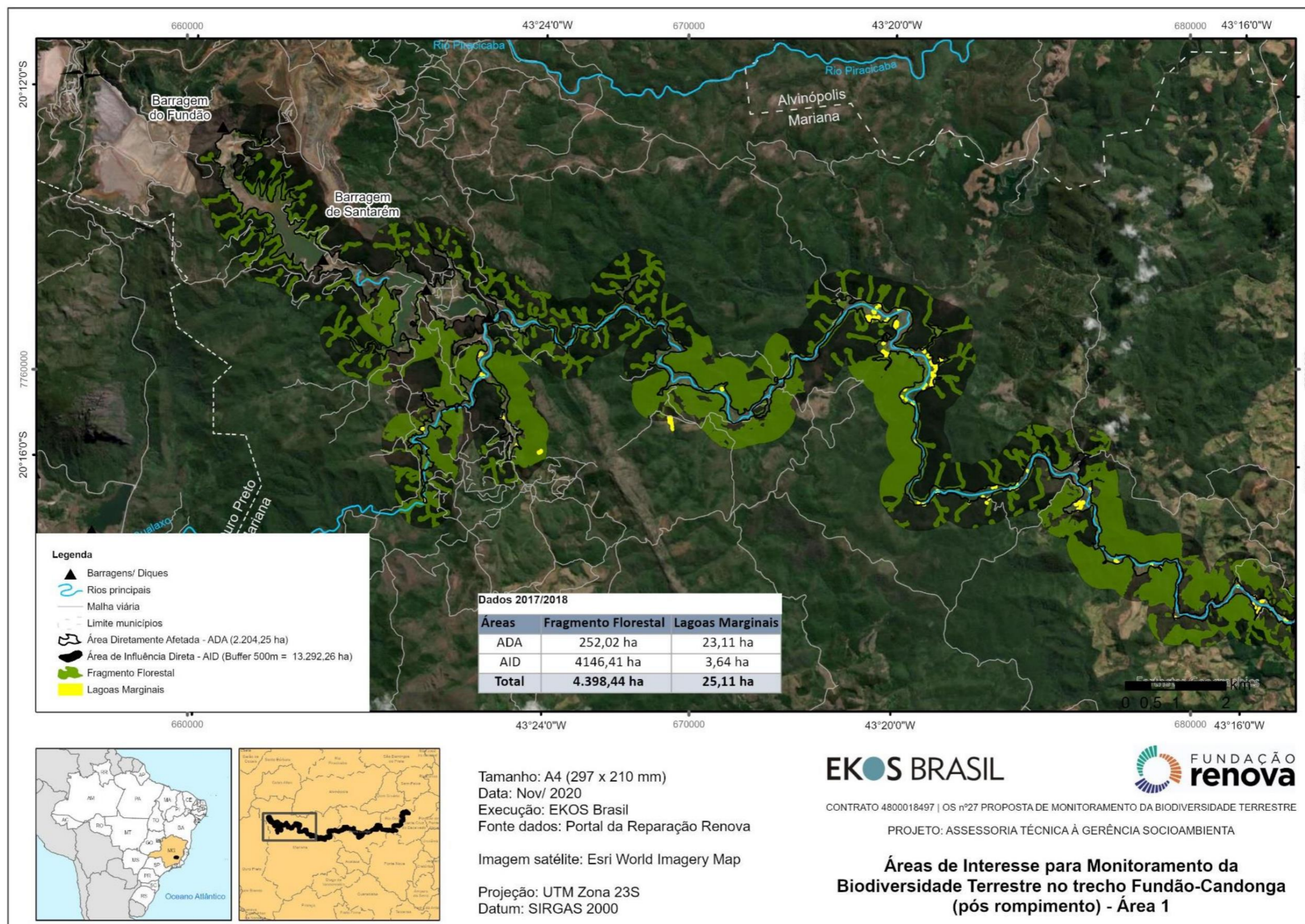
5. ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo deste monitoramento estará principalmente concentrada ao longo do rio Doce, próximo aos municípios de Barra Longa, Mariana e Ponte Nova, em MG; e Aracruz, Conceição da Barra, Linhares e São Mateus, no ES. A maior concentração de áreas de amostragem está na região de MG, nas áreas do rio Doce até a Usina Hidrelétrica Risoleta Neves (ou UHE Candonga; **Figura 1, Figura 2, Figura 3**). No ES as amostragens se concentrarão nas ilhas fluviais e restingas próximas a foz do rio Doce (**Figura 4**).

As definições dos limites das ADAs e AIDs se dão caso-a-caso, observando as especificidades territoriais, e especificidades de atividades que causam impactos. No caso dos impactos associados ao rompimento da barragem de Fundão, observa-se claramente duas configurações de dispersão dos impactos: 1) uma de natureza linear, que corresponde aos impactos do rejeito ao longo das calhas e margens dos cursos d'água a jusante da barragem de Fundão. E, nesse caso, destaca-se o trecho localizado entre a barragem de Fundão (situada no complexo minerador de Germano, da Samarco) e o barramento principal da UHE Candonga, que conteve em seu respectivo reservatório grande parte do rejeito liberado na bacia; e 2) uma de natureza radial, que corresponde aos impactos associados a atividades de reparação e compensação ambiental que estão sendo implementadas em fragmentos territoriais ao longo da bacia. Nesse sentido, para fins de monitoramento dos impactos persistentes e recorrentes na fauna e flora terrestre recomenda-se duas abordagens de definição espacial das ADAs e AIDs, de modo a contemplar as especificidades das dispersões linear e radial dos impactos.

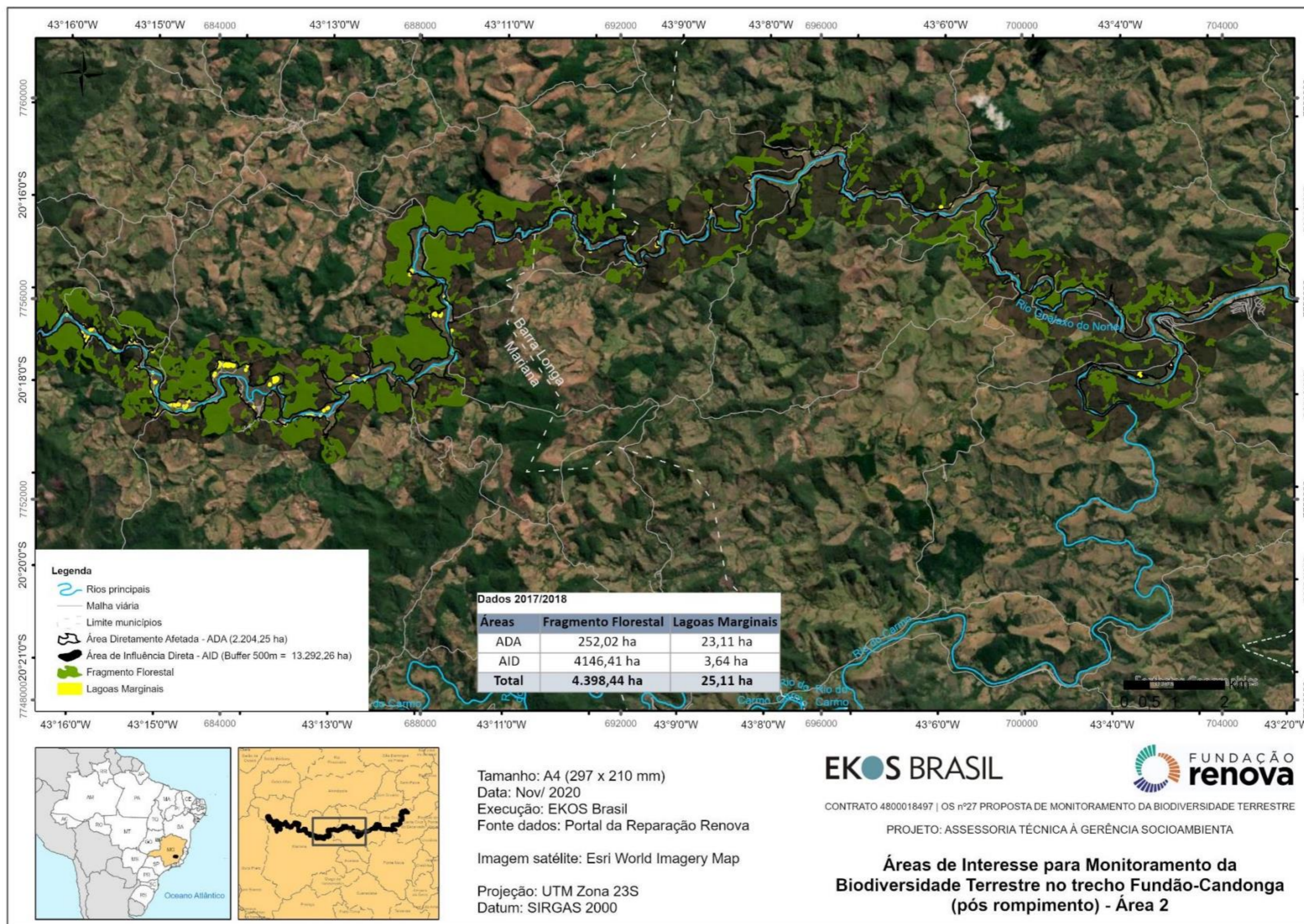
Os limites das ADAs correspondem aos limites das áreas dos cursos d'água e respectivas porções territoriais marginais diretamente afetados pelo rejeito (no trecho Fundão - UHE Risoleta Neves), bem como pelas porções das propriedades que estão em processo de restauração ambiental (fragmentos territoriais). As AIDs, que foram e são potencialmente impactadas por material particulado, ruídos, obras auxiliares, etc., correspondem às áreas adjacentes situadas a até 500 m da ADA no trecho Fundão - UHE Risoleta Neves, ou 500 m das ADAs relacionadas aos fragmentos territoriais em recuperação ambiental. Tais valores (*i.e.*, 500 m) refletem valores comumente utilizados e recomendados para as avaliações de impactos biofísicos de grandes projetos (CETESB, 2019). Cumpre salientar que os impactos diretos e indiretos tendem a apresentar um comportamento de gradiente, tendendo a perder magnitude à medida que se afasta da área diretamente afetada (SÁNCHEZ, 2015).

Figura 1. Áreas de Interesse para Monitoramento da Biodiversidade Terrestre no Trecho Fundão-Candonga – Área 1, a serem amostradas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



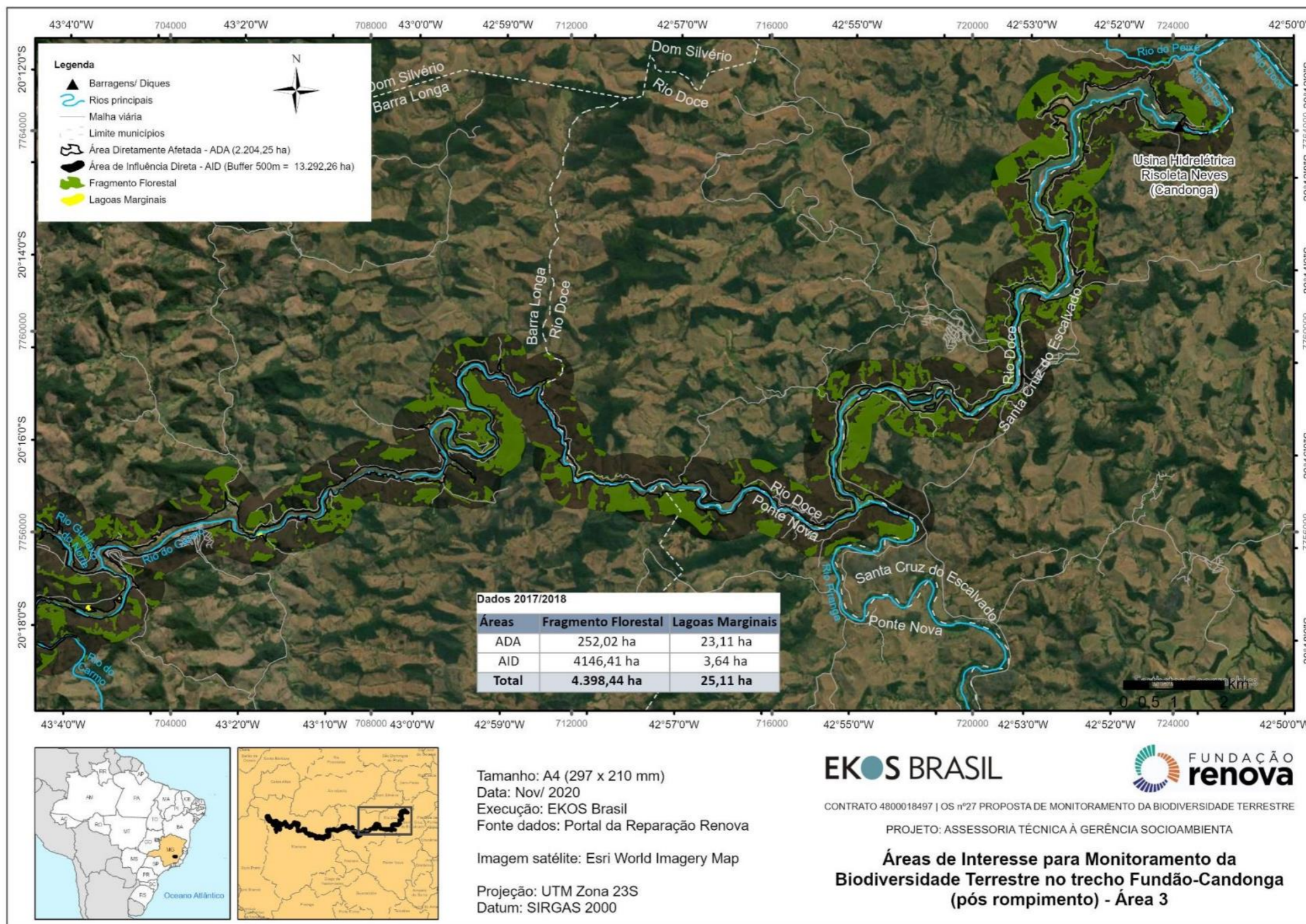
Fonte: Ekos Brasil, 2020

Figura 2. Áreas de Interesse para Monitoramento da Biodiversidade Terrestre no Trecho Fundão-Candonga – Área 2, a serem amostradas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



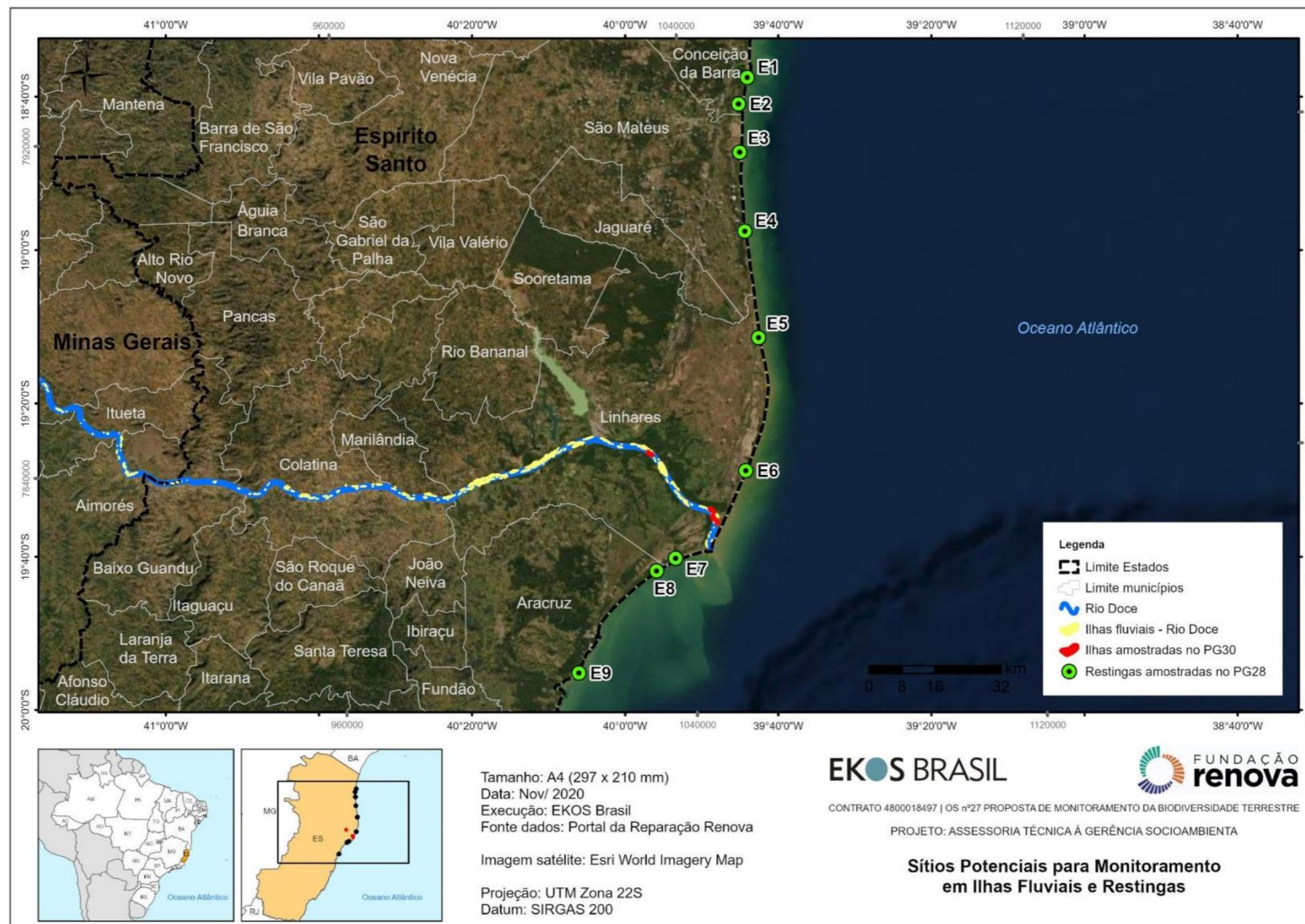
Fonte: Ekos Brasil, 2020

Figura 3. Áreas de Interesse para Monitoramento da Biodiversidade Terrestre no Trecho Fundão-Candonga – Área 3, a serem amostradas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



Fonte: Ekos Brasil, 2020

Figura 4. Mapa com Sítios Potenciais para Monitoramento em Ilhas Fluviais e Restingas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



Fonte: Ekos Brasil, 2020

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1. Desmontagem das trilhas RAPELD

A **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** realizará uma campanha de campo para desmontagem de todos os módulos RAPELD instalados na primeira fase do monitoramento. Os materiais que puderem ser reaproveitados serão utilizados nas campanhas vigentes e aqueles que não, serão adequadamente descartados (**ANEXO I, Quadro 9**).

6.1. Planejamento prévio

A fase de planejamento do estudo será feita anteriormente a qualquer visita técnica às áreas de estudo. Esta fase será realizada com base em imagens aéreas da localidade-alvo do estudo, apontadas no **Novo Programa de Monitoramento**. O número de áreas a serem visitadas seguirá integralmente as definições deste novo programa.

6.2. Vistoria, seleção, implantação e manutenção dos Sítios Amostrais

A **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** realizará uma campanha prévia para reconhecimento, definição e implantação das unidades amostrais indicadas no **Novo Programa de Monitoramento** (Ekos Brasil, 2020).

A **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** fará o contato com os proprietários dos fragmentos florestais que serão amostrados ou gestores de unidades de conservação para alinhamento quanto às datas em que as atividades serão conduzidas em cada área (**ANEXO I, Quadro 10**). **Essa campanha será acompanhada por um integrante da equipe de diálogo da Fundação RENOVA.** Nos casos em que o proprietário não permitir a execução das atividades previstas, ou que o trabalho seja impossibilitado por outras questões de força maior, a **Fundação RENOVA** será informada imediatamente para avaliar os procedimentos a serem adotados. Caso haja, dificuldades de alocação das unidades amostrais que impliquem em alterações desta proposta a CTBio, IBAMA e GAT serão imediatamente comunicados.

A equipe da **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** ainda realizará a manutenção periódica das unidades amostrais para permitir a plena condução das atividades. Findada a campanha de instalação das unidades amostrais, os dados de posicionamento geográfico (em formato específico) e a planilha de coordenadas serão enviadas à **Fundação RENOVA** para validação.

6.3. Métodos de amostragem

O programa de monitoramento está todo detalhado no documento emitido pelo grupo de especialistas da EKOS Brasil (EKOS BRASIL, 2020). A **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** executará integralmente métodos e delineamento experimental definidos neste documento, bem como suas alterações propostas e aprovadas em sessão plenária juntamente a CTBio. A seguir, os métodos de amostragem, estão apresentados por grupo de fauna, de forma a dar maior clareza da metodologia e esforço amostral que serão executados.

6.3.1. Insetos

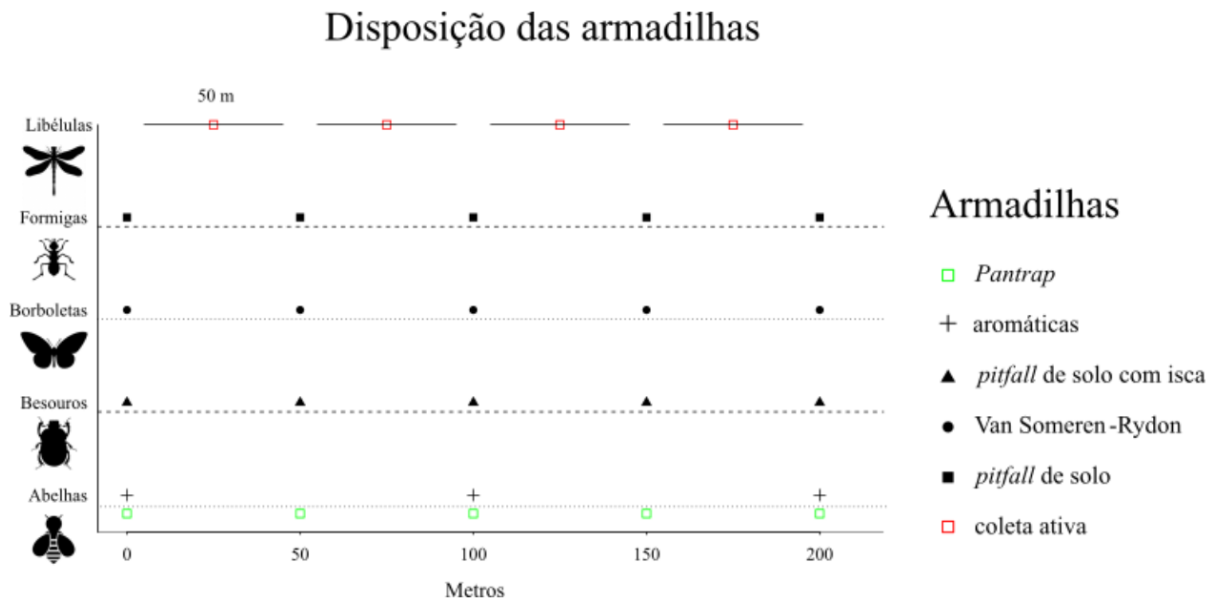
6.3.1.1. Pergunta 3 - Está ocorrendo contaminação por elementos químicos e consequentes danos em espécies de invertebrados e de pequenos vertebrados (anfíbios, répteis, roedores e marsupiais) que estão em contato direto com o rejeito?

Nos 40 fragmentos florestais, 20 FA e 20 FR (dentro do *buffer* de 300 m), serão instaladas parcelas de coleta (**Figura 1, Figura 2, Figura 3**). Em cada fragmento, serão realizadas amostragens de insetos utilizando dois transectos como unidades amostrais, sendo um transecto na borda e outro transecto no interior do fragmento, distante pelo menos 100 m da borda. Cada transecto possui uma extensão de 200 m (**Figura 5**). Os transectos nos fragmentos-alvo (PFA) serão dispostos paralelamente à margem do rio com a presença do rejeito. Os transectos das áreas de referência (FFR) estarão distantes pelo menos 500 m das áreas PFA.

Para as análises de contaminantes, serão utilizados insetos de espécies generalistas de três guildas alimentares distintas, as libélulas, besouros escarabaeíneos e abelhas. Os métodos específicos para cada grupo estão descritos no item a seguir (**Pergunta 5**). Serão consideradas espécies generalistas de habitat aquelas amostradas com pelo menos 30 indivíduos por fragmento, considerando-se todos os transectos de cada fragmento como réplicas dos tratamentos e cada fragmento como unidade amostral.

O monitoramento terá periodicidade anual, durante as estações chuvosas e com duração inicial de dois anos. Caso seja verificada uma maior concentração de metais em insetos nos trechos impactados, quando comparados aos trechos de referência, o monitoramento desses parâmetros deverá continuar anualmente, por 10 anos. Caso não seja verificada a contaminação ou danos teciduais em indivíduos amostrados nos trechos alvo, o projeto será encerrado ao final do segundo ano.

Figura 5. Representação esquemática da disposição dos métodos de amostragens de insetos nas unidades amostrais (transecto) do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



6.3.1.1.1. Análise de contaminantes

As amostras biológicas dos animais capturados durante as campanhas de estudo serão analisadas quanto a seu conteúdo de metais pesados e elementos-traço por laboratório certificado, utilizando o padrão metodológico estabelecido no termo de referência da Cláusula 165 do TTAC, celebrado no bojo do Processo 69758-61.2015.4.01.3400 (IBAMA, 2016). As amostras serão processadas e analisadas quanto às concentrações de metais conforme protocolo descrito no **Termo de Referência 4** (IBAMA, 2015). Após análise e parecer da equipe técnica da **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** e solicitação de alteração ao **IBAMA** pela **Fundação RENOVA**, foi aprovado através da Nota Técnica nº 17/2018 (MMA/ICMBIO, 2018) que a determinação das concentrações de As, Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Mn e Zn devem ser feitas em triplicata, pelo método de ICP-MS. A análise da concentração de Hg nestas amostras será feita pelo método de vapor frio.

Os invertebrados serão analisados através da composição de amostras com vários indivíduos completos de uma mesma espécie para atingir a massa necessária para a análise. Dos vertebrados, Anuros e Squamata têm amostras de músculo analisadas, pequenos mamíferos são estudados a partir de amostras de fígado. Os demais detalhamentos de métodos e procedimentos obrigatoriamente adotados são detalhados no Parecer Técnico nº 01/2017 (IBAMA-COREC, 2017).

Usaremos literatura específica para determinar os valores de referência de cada metal pesado, baseando-nos em estudos que realizaram bioensaios com os grupos de organismos abordados neste estudo. Na ausência de valores específicos para determinado grupo, a pesquisa bibliográfica é direcionada para organismos próximos taxonomicamente (*i.e.*, do mesmo grupo). Os resultados serão apresentados em função dos valores de referência e em relação à sua variância dentro das amostras dos diferentes grupos, já que não são passíveis de testes de hipótese específicos.

6.3.1.2. Pergunta 5 - Qual a magnitude espaço-temporal dos impactos crônicos (persistentes ou recorrentes) da presença da mancha de rejeitos sobre a diversidade e características de insetos terrestres?

Para essa questão, as amostragens serão realizadas também em 40 sítios amostrais, podendo ser os mesmos 20 fragmentos-alvo, mas os fragmentos de referência serão utilizados fora do *buffer* de 500 m (**Figura 1, Figura 2, Figura 3**). A metodologia será a mesma utilizada para responder à **Pergunta 3**.

Em cada sítio amostral 30 indivíduos de espécies generalistas de cada um dos subgrupos serão coletados para avaliação da qualidade nutricional. Já para a análise de assimetria flutuante serão utilizadas libélulas e borboletas. A avaliação da qualidade nutricional dos insetos terrestres pode ser feita por diversas medidas que refletem a conversão de recursos em biomassa, o acúmulo de recursos em reservas de lipídeos e a razão entre músculos torácicos e tamanho corporal (PEIXOTO; BENSON, 2011). Assim, variações na qualidade nutricional de insetos podem refletir investimentos diferenciais de recursos que permitem avaliar a saúde de espécies que se desenvolvem em áreas sob diferentes graus de impacto, como áreas com a presença da mancha de rejeitos.

Para a determinação do conteúdo lipídico dos indivíduos coletados, cada espécime será seco em estufa a 60°C por 48h, caso o peso não estabilize os espécimes devem retornar para a estufa por mais 24h. Espécies diminutas serão agrupadas em grupos de 5 ou 10 indivíduos, amostrados em um mesmo transecto. Após a secagem, os indivíduos serão transferidos para envelopes de papel vegetal (de peso pré-determinado) e pesados em balança de precisão. Para as análises de borboletas e libélulas, as asas devem ser destacadas cuidadosamente para as medidas de assimetria flutuante e o tórax e abdômen de cada indivíduo devem ser pesados, depois de retirar as pernas, em balança de precisão (10-5 mg). Imediatamente após a pesagem, os indivíduos devem ser acondicionados em vidros ou frascos contendo 5 mL de clorofórmio por 48h. Após esse período, o tórax e abdômen serão novamente acondicionados

em estufa seca, a 60°C por 48h, pesados novamente em balança de precisão. Para os demais grupos (abelhas, besouros escarabaeíno e formigas) não existe a necessidade de destacar as asas ou pernas. O conteúdo lipídico é calculado como a diferença em peso seco antes e depois da extração com o clorofórmio (LEE; RAUBENHEIMER; SIMPSON, 2004; PEIXOTO; BENSON, 2011; PORTELA SALOMÃO et al., 2018).

A assimetria flutuante (AF) representa pequenas variações aleatórias na simetria de caracteres bilaterais e tem sido um parâmetro amplamente usado como medida de instabilidade de desenvolvimento em plantas e animais (BEASLEY; BONISOLI-ALQUATI; MOUSSEAU, 2013). Organismos que se desenvolvem em ambientes de menor estresse ambiental são capazes de corrigir erros aleatórios no desenvolvimento (KOZLOV; ZVEREVA, 2017) e, assim, não são produzidos desvios do eixo de simetria bilateral. Com o aumento das pressões antrópicas ou do estresse ambiental, aumenta a probabilidade de instabilidades ou erros de desenvolvimento, que podem ser mensurados como desvios da simetria (BEASLEY; BONISOLI-ALQUATI; MOUSSEAU, 2013). Dessa forma, a AF representa uma ferramenta eficiente para o monitoramento da saúde de plantas e animais sob pressões antrópicas ou mesmo estresse ambiental (ALVES-SILVA; SANTOS; CORNELISSEN, 2018; BEASLEY; BONISOLI-ALQUATI; MOUSSEAU, 2013; HENRIQUES; CORNELISSEN, 2019).

As comunidades serão amostradas inicialmente por cinco (5) anos, e as campanhas ocorrerão anualmente na estação chuvosa. Após cinco (5) anos, avaliar a base de dados e a perspectiva dos efeitos da presença do rejeito, podendo-se estender este prazo.

Abelhas (Hymenoptera): as abelhas serão amostradas por dois métodos complementares, armadilhas *Pantrap* e aromáticas (**Figura 5; Quadro 11**).

Pantrap - em cada transecto de 200 m, serão dispostos 05 conjuntos de armadilhas do tipo *Pantrap*, distanciadas 50 m entre si, totalizando 19.200 armadilhas*hora (40 SA*5 armadilhas*2 transectos*48h) por campanha.

Aromáticas - em cada um dos transectos serão instalados três kits de armadilhas aromáticas, distantes 100 m entre si. Cada kit será composto por 08 garrafas pet, sendo cada uma com uma essência diferente (acetato de benzila, cinamato de metila, cineol [eucalipitol]), escatol, eugenol, salicilato de metila, vanilina e β -ionona). Após 24h todas as armadilhas serão vistoriadas, e todos os indivíduos amostrados serão transferidos para um tubo *Falcon* preparado e etiquetado para receber a amostra. Após 24 h (totalizando 48 h) o procedimento será repetido. Finalmente as armadilhas serão recolhidas. Sendo assim, o esforço total a ser

realizado será de 92.160 armadilhas*hora (40 SA*3 kits*8 garrafas*2 transectos*48h) por campanha.

Besouros escarabaeíneos (Coleoptera, Scarabaeinae): em cada transecto serão dispostas 5 armadilhas de queda do tipo *pitfall* de solo, distanciadas 50 m entre si. As armadilhas serão iscadas com fezes de porco e humana e permanecerão abertas por 48h. posteriormente as armadilhas serão retiradas, o material coletado, preparado e encaminhado para avaliação em laboratório. O esforço amostral por campanha será de 19.200 armadilhas*horas (40 SA*5 armadilhas*2 transectos*48h; **Quadro 12**).

Libélulas (Odonata: Zygoptera e Anisoptera): cada transecto será dividido em 4 segmentos ("*stretches*") de 50 m, e cada segmento é amostrado por aproximadamente 15min. A coleta ativa dos espécimes será feita com rede entomológica do tipo puçá, confeccionada em tecido tipo voal (ou tecido resistente) e cabo inoxidável. A coleta será feita em dias ensolarados, entre 10:00h e 14:30h, calculando-se o esforço amostral por hora. O esforço amostral total por campanha será de 4.800min (40 SA*2 transectos*4 segmentos*15min) ou 40h (**Quadro 13**).

Borboletas frugívoras (Lepidoptera, Nymphalidae): em cada unidade amostral (transecto) serão 4 armadilhas do tipo Van Someren-Rydon (VSR), distanciadas entre si 50 m. As armadilhas serão iscadas e permanecerão em campo por 3 dias consecutivos (até 72h), com revisões das armadilhas em intervalos de 24h para remoção dos espécimes aprisionados. O esforço realizado por campanha será de 23.040 armadilhas*horas (40 SA*2 transectos*4 armadilhas*72h; **Quadro 14**).

Formigas (Hymenoptera, Formicidae): em cada parcela serão dispostas cinco armadilhas de queda do tipo *pitfall* de solo distanciados 50 m entre si. As armadilhas permanecerão instaladas por dois dias (48h), posteriormente as armadilhas serão retiradas e o material coletado é triado. O esforço amostral por campanha será de 28.800 (40 SA*2 transectos* 5 armadilhas*48h; **Quadro 15**).

As amostragens serão anuais durante a estação chuvosa por dois anos. Caso seja verificada uma maior concentração de metais em insetos nos sítios impactados, quando comparados aos sítios de referência, o monitoramento desses parâmetros continuará anualmente, por 10 anos.

Em resumo, o esforço amostral empregado nos 20 Fragmentos-alvo e 20 Fragmentos-referência, por grupo, e por pergunta ficará da seguinte forma, apresentada no **Quadro 1**.

Quadro 1. Resumo quantitativo do esforço amostral para a coleta de insetos para as perguntas 3 e 5 durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

Grupo Taxonômico	Dispositivo	Esforço	Amostra mínima	
			Pergunta 3	Pergunta 5
Libélulas	Rede entomológica	15 minutos * 4 trechos de riachos * 40 fragmentos	30 Ind	NA
Formigas	<i>Pitfalls</i>	48h * 5 armadilhas * 40 fragmentos	30 Ind	NA
Borboletas	Armadilhas VSR	72h * 5 armadilhas * 40 fragmentos	30 Ind	NA
Besouros	<i>Pitfalls</i>	48h * 5 armadilhas * 40 fragmentos	30 Ind	NA
Abelhas	<i>Pan trap</i>	48h * 5 armadilhas * 40 fragmentos	30 ind	NA
Abelhas	Armadilhas aromáticas	48h * 3 armadilhas * 40 fragmentos		

Legenda: Ind – indivíduos por espécie generalista; NA – Não aplicável, sem limite pré-estabelecido.

6.3.1.3. Pergunta 13 - Quais os efeitos das ações de restauração e recuperação das áreas impactadas sobre a diversidade de invertebrados?

Serão amostrados 60 sítios amostrais, sendo 20 sítios em áreas de restauração ativa diretamente sobre a faixa de rejeito, 20 sítios de restauração ativa fora da faixa de depósito de rejeito, mas dentro da área diretamente afetada (*buffer* de 300 m) e 20 sítios de fragmentos de florestas remanescentes de referência.

Em cada sítio amostral será alocada uma parcela de 30 x 30 m (**Figura 6**). Os métodos específicos para cada grupo possuem poucas diferenças em relação aos métodos das Perguntas 3 e 5, a saber:

Abelhas (Hymenoptera): as abelhas serão amostradas por dois métodos complementares, armadilhas *Pantrap* e aromáticas (**Quadro 16**).

Pantrap - em cada parcela serão dispostos quatro conjuntos de armadilhas do tipo *Pantrap*, distanciadas 50 m entre si. Totalizando 11.520 armadilhas*hora (60 SA*4 armadilhas*48h) por campanha.

Aromáticas - na região central de cada parcela será instalado um kit de armadilha aromática. O kit será composto por oito garrafas pet, sendo cada uma com uma essência diferente (acetato de benzila, cinamato de metila, cineol (eucalipitol), escatol, eugenol, salicilato de metila, vanilina e β -ionona).

Após 24h todas as armadilhas serão vistoriadas, e todos os indivíduos amostrados serão transferidos para um tubo *Falcon* devidamente preparado e etiquetado para receber as amostras. Após 24h (totalizando 48h) o procedimento será repetido. Finalmente as armadilhas serão recolhidas. Sendo assim, o esforço total a ser realizado será de 23.040 armadilhas*hora (60 SA*1 kit*8 garrafas*48h) por campanha.

Besouros escarabaeíneos (Coleoptera, Scarabaeinae): em cada parcela serão dispostas 4 armadilhas de queda do tipo *pitfall* de solo, em cada vértice da parcela. As armadilhas serão iscadas com fezes de porco e humana e permanecerão abertas por 48h. O esforço realizado por campanha será de 11.520 armadilha*hora (60 SA*4 armadilhas*48h; **Quadro 17**).

Borboletas frugívoras (Lepidoptera, Nymphalidae): em cada parcela serão dispostas cinco armadilhas do tipo Van Someren-Rydon (VSR), distanciadas entre si 50 m. As armadilhas serão iscadas e permanecerão em campo por 3 dias consecutivos (até 72h), com revisões das armadilhas em intervalos de 24h para remoção dos espécimes aprisionados. O esforço realizado por campanha será de 14.400 armadilha*hora (40 SA*5 armadilhas*72h; **Quadro 18**).

Formigas (Hymenoptera, Formicidae): em cada parcela serão dispostas cinco armadilhas de queda do tipo *pitfall* de solo distanciados 50 m entre si. As armadilhas permanecerão instaladas por dois dias (48 h), posteriormente as armadilhas serão retiradas e o material coletado é triado. O esforço amostral por campanha será de 9.600 (40 SA* 5 armadilhas*48h) (**Quadro 19**).

Em resumo, o esforço amostral empregado nos 20 Fragmentos-alvo e 20 Fragmentos-referência, por grupo, e por pergunta ficará da seguinte forma, apresentada no **Quadro 2**.

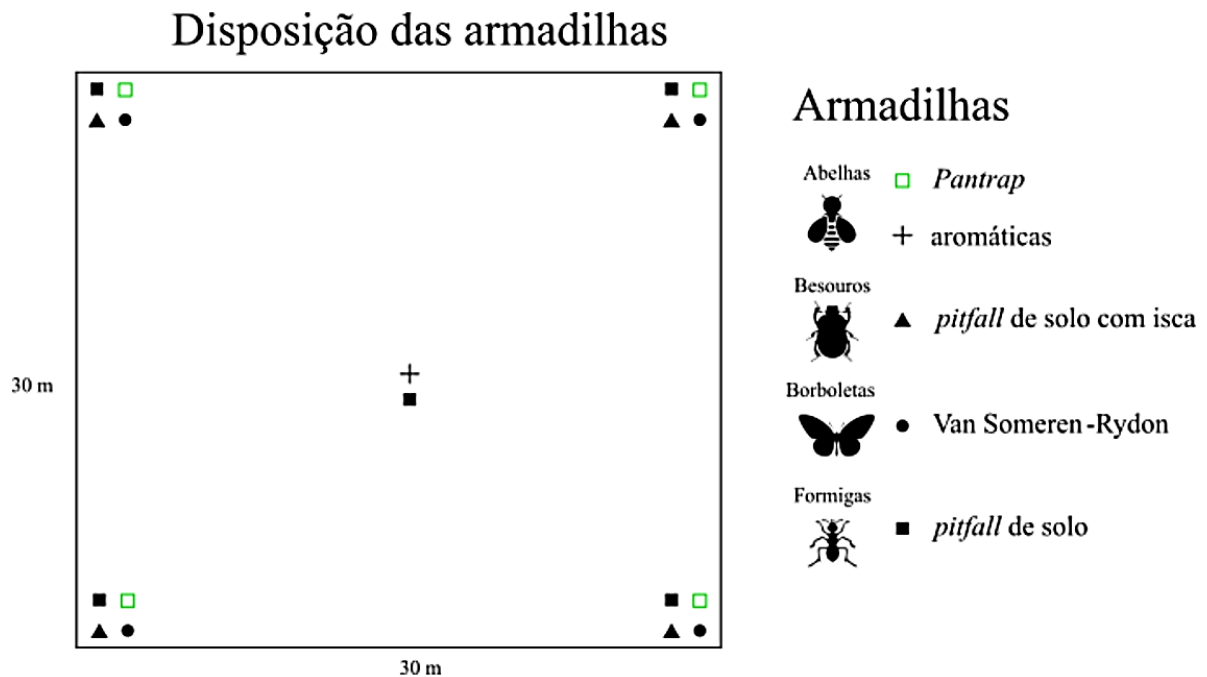
As campanhas ocorrerão anualmente na estação chuvosa. Após 10 anos, será avaliada a base de dados e a perspectiva dos efeitos da restauração ecológica e também a necessidade de extensão desse prazo.

Quadro 2. Resumo quantitativo do esforço amostral para a coleta de insetos durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

Grupo Taxonômico	Dispositivo	Esforço
Formigas	<i>Pitfalls</i>	48h * 5 armadilhas * 60 fragmentos
Borboletas	Armadilhas VSR	72h * 5 armadilhas * 60 fragmentos
Besouros	<i>Pitfalls</i>	48h * 4 armadilhas * 60 fragmentos
Abelhas	<i>Pan trap</i>	48h * 4 armadilhas * 60 fragmentos
Abelhas	Armadilhas aromáticas	48h * 1 armadilha * 60 fragmentos

Legenda: Ind – indivíduos por espécie generalista; NA – Não aplicável, sem limite pré-estabelecido.

Figura 6. Representação esquemática da disposição dos métodos de amostragens de insetos nas unidades amostrais (parcelas de 30 x 30 m) durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



6.3.1.4. Pergunta 16 - A regeneração dos ambientes degradados pelo rompimento da barragem e dos ambientes em restauração na bacia está restaurando a funcionalidade dos ecossistemas e permitindo o retorno de processos ecológicos executados por espécies de insetos, mamíferos e aves?

A malha amostral para responder a esta pergunta será a mesma utilizada para a Pergunta 13. O monitoramento será anual, sempre na estação chuvosa. Contudo, a amostragem para

avaliar herbivoria por insetos acontecerá no final da estação chuvosa, quando as plantas normalmente apresentam insetos herbívoros em abundância.

6.3.1.4.1. Herbivoria por insetos

Em cada um dos 60 sítios amostrais, será marcada uma parcela permanente de 50x50 m. Em cada parcela, serão amostrados 25 indivíduos (5 réplicas de 5 espécies) de plantas lenhosas, com diâmetro na altura do peito (DAP) maior ou igual 5 mm, altura até 2,5 m e distantes pelo menos 2 m entre si (**Quadro 19 e Quadro 20**).

Os indivíduos serão plaqueteados e a cada campanha 50 folhas ao acaso serão coletadas, totalizando aproximadamente 75 mil folhas por campanha. Cada folha será devidamente numerada. As folhas serão secas em estufa a 45°C por até 72h. Após a secagem, as folhas serão digitalizadas em *scanner* de mesa, utilizando-se escala milimétrica (exemplo: régua plástica) para referência de tamanho (**Figura 7**).

Para a determinação do nível de herbivoria por insetos mastigadores nas folhas, as imagens serão tratadas em *softwares* para a determinação da porcentagem de área foliar perdida após o ataque de insetos herbívoros. Serão utilizados o uso de ImageJ® por Schneider et al. (2012) ou BioLeaf© por Machado et al. (2016). Cada folha será avaliada, calibrada em mm e a área foliar total (em mm²) será determinada contornando-se a área da folha, após preenchimento de bordas perdidas por herbivoria. A área consumida por insetos será determinada nas imagens das folhas através da soma das áreas perdidas medindo-se as remoções individuais em cada lâmina foliar. A porcentagem de herbivoria (H) será determinada para cada planta, segundo a equação:

$$H = \left(\frac{\sum \text{áreas perdidas}}{\text{área foliar total}} \right) * 100$$

Como métrica para avaliação da herbivoria (H) será usada a porcentagem média de remoção de área foliar, por espécie de planta, por parcela. As 50 folhas por planta serão usadas como réplicas dos indivíduos e os 5 indivíduos como réplicas das espécies de plantas.

Figura 7. Exemplo de imagem digital de folha atacada por insetos mastigadores a serem aplicadas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



Fonte: Novo Programa de Monitoramento (EKOS BRASIL, 2020).

6.3.1.4.2. Predação de lagartas artificiais por artrópodes e vertebrados

Para a determinação da predação nos 60 sítios amostrais, será determinada a porcentagem de predação em modelos artificiais confeccionados em plasticina, simulando lagartas de Lepidoptera. Em cada parcela de 50x50 m serão marcados 15 indivíduos de plantas lenhosas, com diâmetro na altura do peito maior que 10 cm e entre 1,5 e 2 m de altura. Em cada planta, serão adicionadas 5 lagartas artificiais, como unidades independentes ($n = 75$ lagartas por parcela, em um total de 6.000 lagartas), distribuídas em toda a copa. Cada lagarta será confeccionada em massa atóxica verde, do tipo plasticina, com 25 mm de comprimento e 5 mm de largura. Em um mesmo indivíduo de planta, as lagartas devem ser colocadas com pelo menos 30 cm de distância entre elas. A amostragem será feita ao final da estação chuvosa,

entre fevereiro e março de cada ano (período esse em que as plantas normalmente apresentam insetos herbívoros em abundância).

Após 3 dias de exposição, as lagartas artificiais serão vistoriadas e as marcas encontradas atribuídas a uma classe de predadores (**Quadro 19** e **Quadro 21**). A identificação dos predadores responsáveis pelas marcas será feita através de categorias gerais, como aves, mamíferos, formigas e/ou vespas, cujas marcas deixadas nos modelos podem ser diferenciadas através do formato do bico ou das mandíbulas, conforme imagens e descrição em Low et al. (2014). Será registrado o número de marcas por lagarta predada e caso a lagarta artificial tenha sido completamente removida do arame, registrada como "removida". As lagartas artificiais encontradas com marcas serão fotografadas, atribuindo às imagens o número da árvore, da parcela e da área (restauração ou referência). As marcas das lagartas serão alisadas, as completamente removidas serão substituídas e uma nova avaliação será repetida no 10º dia após a montagem do experimento, quando todas as lagartas serão removidas e avaliadas para análises de sobrevivência.

6.3.1.4.3. Remoção de sementes por formigas (Formicidae) e besouros escarabeíneos (Coleoptera, Scarabaeinae)

Para o monitoramento do serviço de remoção de sementes por formigas em cada unidade amostral (parcela de 30 x 30 m; **Figura 6**) serão dispostas quatro arenas de remoção nos vértices da parcela, e uma no centro da parcela. Em cada arena de remoção serão colocadas 10 sementes artificiais em saquinhos de papel (8 x 13 cm). Após 24 h contabilizar as sementes que foram carregadas para fora da arena, as predadas e as que foram removidas para longe, ou seja, as não encontradas (**Quadro 17** e **Quadro 19**).

Para o monitoramento do serviço de remoção de sementes e de matéria orgânica realizadas por besouros escarabeíneos serão utilizadas arenas circulares (BRAGA et al., 2013). Em cada unidade amostral (parcela de 30 x 30 m) será disposta uma arena de remoção no centro da parcela. A isca utilizada nas arenas para atração de besouros escarabeíneos consiste em fezes suínas frescas, de porcos tratados com alimentação caipira. Em cada porção de fezes, serão colocadas 50 miçangas de plástico, usadas como imitações de sementes, para estimar a função da dispersão secundária de sementes de três tamanhos: 25 sementes pequenas (2 mm de diâmetro), 15 sementes médias (5 mm de diâmetro) e 10 sementes grandes (10 mm de diâmetro). Após 24h as arenas serão recolhidas e será avaliada a proporção de sementes dispersadas e a proporção de matéria orgânica removida.

6.3.1.4.4. Visitantes florais (insetos)

Dentro de cada uma das 60 parcelas de 50 x 50 m, serão marcadas e identificadas as espécies de plantas apresentando flores na estação úmida (entre novembro e fevereiro) e na estação seca (entre junho e setembro) de cada ano.

As plantas floridas serão marcadas com etiquetas metálicas permanentes numeradas e serão identificadas por meio de fotografias, exsicatas e/ou auxílio de especialistas. As amostragens de visitantes florais serão fito-centradas, onde as plantas marcadas serão acompanhadas e os insetos visitantes serão capturados. Em cada estação de coleta, será feita a observação direta das flores por 10min em cada planta, seguida de coleta ativa dos insetos com rede entomológica (**Quadro 16**). Será registrada para cada planta avaliada, o número de visitantes, o horário de visita e a duração de cada visita (em minutos). As observações e coletas serão feitas pela manhã até o início da tarde, que são os períodos de maior atividade de grande parte dos visitantes e polinizadores. Características florais serão registradas, bem como a presença de pólen e/ou néctar e a concentração de açúcar no néctar será medida com o auxílio de refratômetros portáteis.

Como métricas de avaliação da visitação floral serão computadas, em cada área, a riqueza de visitantes florais, a abundância de visitantes florais, a riqueza de espécies floridas, a frequência de visitas em cada planta e a duração (em minutos) das visitas de insetos nas flores.

6.3.2. Mastofauna terrestre (pequenos mamíferos)

6.3.2.1. Pergunta 3 - Está ocorrendo contaminação por elementos químicos e consequentes danos em espécies de invertebrados e de pequenos vertebrados (anfíbios, répteis, roedores e marsupiais) que estão em contato direto com o rejeito?

Serão amostrados 40 sítios amostrais em fragmentos florestais, sendo 20 em fragmentos-alvo (FA) e 20 em fragmentos-referência (FR); 06 sítios amostrais em restingas, sendo 03 localizadas ao norte e 03 ao sul da foz do rio Doce, sendo selecionadas entre aquelas já monitoradas no PG28; e 05 ilhas fluviais próximas à foz do rio Doce, preferencialmente aquelas já amostradas na Avaliação Ecológica Rápida (AER) e mais três fragmentos florestais próximo a foz para ser utilizado como referência para as ilhas (**Quadro 22**).

Em cada sítio amostral, serão estabelecidos dois transectos, sendo um na borda do fragmento e outro no interior, a uma distância mínima de 100 m. Em cada transecto serão definidos 15 postos de captura, equidistantes cerca de 15 m entre si. Em cada posto serão instaladas duas armadilhas de captura viva (*live traps*), uma do modelo gaiola de arame galvanizado (tipo gancho; 32 x 15 x 15 cm) e outra modelo *Sherman* (25 x 8 x 9 cm), sempre uma no solo e outra no sub-bosque (ca. 1,5 m de altura). As armadilhas de captura viva serão iscadas e vistoriadas a cada manhã por cinco noites consecutivas.

Adicionalmente em cada transecto será instalado um conjunto de armadilha de interceptação e queda (*Pitfall traps*) constituído de 10 baldes de 60 L em linha, interligados por lona. As armadilhas ficarão operantes durante cinco noites consecutivas, por campanha, quando então serão retiradas ou tampadas.

O esforço amostral por campanha para essa Pergunta será:

Fragmentos florestais: 12.000 armadilhas*noite (40 SA*2 transectos*30 armadilhas*5 noites)

4.000 baldes*noite (40 SA*2 transectos*10 baldes*5 noites)

Restingas: 1.800 armadilhas*noite (6 SA*2 transectos*30 armadilhas*5 noites)

600 baldes*noite (6 SA*2 transectos*10 baldes*5 noites)

Ilhas fluviais e seus fragmentos de referência:

2.400 armadilhas*noite (8 SA*2 transectos*30 armadilhas*5 noites)

800 baldes*noite (8 SA*2 transectos*10 baldes*5 noites)

Para pequenos mamíferos serão coletadas amostras de pelo menos 10 indivíduos de três espécies dentre as mais abundantes em cada região, de hábito terrestre, semifossorial ou semiaquático para análise de contaminantes. As amostragens serão semestrais (seca e chuvosa) e duração de no mínimo 05 anos, sendo analisados os resultados ao final do segundo ano para avaliação do monitoramento de contaminantes.

Os animais capturados serão sexados, pesados e medidos. Após a coleta de dados biométricos os indivíduos serão acondicionados em sacos de pano ou em gaiolas e levados ao laboratório onde serão mortos. Seguindo os procedimentos recomendados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, os animais mortos por anestesia (MCTIC, 2018). A coleta de material

biólogo para as análises seguirá os cuidados de prevenção de contaminação e deterioração de amostras. Os animais que serão utilizados para a avaliação histopatológica e de marcadores do estresse oxidativo terão seu fígado, intestinos e rins retirados durante a necrópsia.

A retirada de fragmentos do fígado ($n = 10$ fragmentos/animal) será feita a partir de cortes transversais nos lobos hepáticos, utilizando bisturi ou lâminas de barbear novas e pinça reta sem dente. Estes serão lavados com solução fisiológica antes de serem armazenados, visando a retirada do excesso de sangue oriundo da dissecação. Fragmentos destinados à análise histopatológica ($n = 4$ /animal) devem ter espessura entre 2-3 mm, para propiciar melhor penetração do fixador no tecido. Estes fragmentos serão acondicionados em pote plástico de 50-80 mL (tipo coletores de fezes) contendo solução fixadora de formalina a 10% tamponado (4 fragmentos/pote). O volume de fixador será de 15 a 20 vezes o volume dos fragmentos. Este volume de fixador garantirá uma preservação adequada dos fragmentos. Os potes serão mantidos refrigerados até a chegada no laboratório. No laboratório, esse fixador será trocado por solução fixadora nova, para manter o poder de fixação da solução fixadora. Outros fragmentos de tecido hepático serão armazenados em criotubos de 5 mL (1 fragmento/tubo), devidamente identificados, e imediatamente congelados em nitrogênio líquido por imersão por 5 minutos. Finalmente, os criotubos serão armazenados em freezer a -80°C até serem processado em laboratório. Enquanto três fragmentos congelados serão destinados à análise de bioacumulação de metais, outros três fragmentos serão usados na avaliação de marcadores de estresse oxidativo (SOUZA et al., 2018).

6.3.2.2. Pergunta 10 - A presença da mancha de rejeitos nas margens dos cursos d'água afeta a composição e estrutura da comunidade de pequenos mamíferos nos fragmentos impactados?

Para avaliar se a presença da mancha de rejeitos nas margens dos cursos d'água afeta a composição e estrutura da comunidade de pequenos mamíferos nos fragmentos impactados a mesma metodologia e desenho amostral executados para a **Pergunta 3**, nos fragmentos florestais servirão de dados para responder essa questão (**Quadro 22**). Os indicadores escolhidos para responder a esta pergunta são diversidade, estrutura e composição das comunidades.

6.3.3. Mastofauna voadora (morcegos)

6.3.3.1. Pergunta 16 - A regeneração dos ambientes degradados pelo rompimento da barragem e dos ambientes em restauração na bacia está restaurando a funcionalidade dos ecossistemas e permitindo o retorno de processos ecológicos executados por espécies de insetos, mamíferos e aves?

6.3.3.1.1. Dispersão de sementes por morcegos

Serão amostrados 20 sítios naturais afetados (fragmentos-alvo), 20 sítios naturais não afetados (fragmentos-referência), 10 sítios afetados por rejeito em restauração, 10 sítios em restauração sem rejeito, mas dentro do *buffer* de 300 m (**Quadro 23**).

Em cada um dos sítios de restauração e dos fragmentos afetados e não afetados pelo rejeito serão instaladas 10 redes de neblina de 12 m x 2,5 m que serão abertas no horário crepuscular e fechadas após 4h de amostragem, totalizando 72.000 m²*hora-rede por campanha (60 SA*10 redes*30 m²*4h). Os morcegos frugívoros capturados serão acomodados em sacos de algodão limpos, por no mínimo 2h, tempo necessário para coletar amostras de fezes destes animais. Após isso, os morcegos serão marcados com colar, terão medidas corporais e estado reprodutivo anotados, sendo, em seguida, soltos no mesmo local da captura. As fezes coletadas serão triadas em laboratório; e testes de germinação e viabilidade das sementes serão aplicados conforme metodologia apresentada a seguir.

Adicionalmente, para avaliar o papel dos morcegos frugívoros no processo de dispersão de sementes em áreas de restauração serão instalados três abrigos artificiais em cada um dos 10 sítios de restauração em área com rejeito, 10 sítios de restauração em áreas sem rejeito, 10 sítios referência e 10 sítios de fragmentos-alvo. Os abrigos serão instalados de 2 a 3 m do solo, distantes pelo menos 30 m entre si (**Quadro 24**). Cada abrigo será composto por três vasilhas, cada uma com adição de óleos essenciais de espécies vegetais de interesse (*Cecropia*, *Solanum* e *Piper*). Abaixo de cada abrigo será instalada uma armadilha de sementes. Outras três armadilhas de sementes, sem uso de abrigos, serão instaladas também nos fragmentos florestais afetados e não afetados pelo rejeito. Os abrigos e as armadilhas de sementes serão vistoriados durante as campanhas.

A campanhas terão periodicidade semestral durante os primeiros 5 anos do monitoramento e anual a partir do sexto ano. A avaliação do potencial de contribuição de morcegos como

dispersores de sementes nas áreas sob restauração será feita comparando o volume e a diversidade de sementes capturadas nas armadilhas com e sem abrigos artificiais.

Em todas as campanhas, as amostras fecais dos morcegos frugívoros serão coletadas em campo, acondicionadas em tubos *ependorf* e levadas para o laboratório, onde serão triadas e as sementes separadas. Em campo, também serão coletados frutos de plantas potencialmente dispersas por vertebrados, e que serão identificados e levados para laboratório para montagem do banco de imagens. As sementes serão identificadas através da comparação com descrição em bibliografia e comparação com a coleção de referência a ser montada a partir de sementes de frutos coletados nas áreas de estudo, à medida em que forem encontrados materiais férteis pelas equipes de botânica.

As sementes da coleção de referência deverão ser fotografadas sob os 3 planos para permitir a sua correta identificação. Para as fotografias, as sementes deverão ser embebidas em água destilada por 24h para garantir homogeneidade de turgor nas células da epiderme. Para o teste de germinação, as sementes triadas nas fezes e aquelas provenientes dos frutos coletados em campo serão tratadas lavadas em água corrente por 1 minuto, secas à sombra e colocadas em sacos de cultivo de mudas umedecidos com água destilada. Também será utilizado como substrato amostras do solo coletado na área impactada. Os sacos de mudas serão colocados em casa de vegetação com irrigação automática 3 vezes ao dia. O experimento será monitorado, o substrato será frequentemente umedecido e a germinação verificada através da protrusão da radícula. Serão estabelecidas pelo menos 8 réplicas para cada tipo de substrato, idealmente com 25 sementes cada.

Para verificar a viabilidade das sementes que não germinaram, após os experimentos de germinação será aplicado o teste de tetrazólio (BRASIL, 2012). De acordo com protocolo do Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2009), as sementes serão colocadas em placas de Petri e embebidas em água destilada sobre folha dupla de papel filtro durante 24 horas na temperatura de 25°C. Após esse período, serão seccionadas para expor o embrião e imersas em solução de 2, 3, 5 - trifenil cloreto de tetrazólio a 0,1%, durante 24 horas na temperatura de 30°C, sendo as placas de Petri envolvidas em folha dupla de papel alumínio para evitar a fotodegradação do reagente.

6.3.4. Herpetofauna

6.3.4.1. Pergunta 3 - Está ocorrendo contaminação por elementos químicos e consequentes danos em espécies de invertebrados e de pequenos vertebrados (anfíbios, répteis, roedores e marsupiais) que estão em contato direto com o rejeito?

6.3.4.1.1. Contaminação, malformações e desvios de simetria em girinos

Serão amostrados 20 pontos amostrais no trecho até a UHE Risoleta Neves, sendo 10 localizados na ADA (área-alvo - corpo d'água lântico, afetado e que ainda tenha rejeito depositado em seu sedimento) e 10 fora da ADA, ou seja do *buffer* de 500 m da ADA (referência), ou seja, que não tiveram contato com o rejeito (**Quadro 3, Quadro 25, Figura 8**). Os pontos estarão localizados de preferência na mesma sub-bacia e corresponderão a poças, lagoas e brejos que abriguem espécies comuns e abundantes de anfíbios. Cada lagoa amostrada estará a pelo menos 500 m uma da outra.

Serão evitadas lagoas que tenham como finalidade principal a piscicultura ou que sejam bebedouros de gado localizados no meio do pasto e totalmente desprovidos de vegetação emersa ou marginal, já que esses ambientes tendem a apresentar comunidades de anfíbios muito empobrecidas.

Para inspeção e validação das lagoas serão realizadas duas campanhas. As lagoas serão inspecionadas durante o dia e à noite, quando a ocorrência das espécies será avaliada por meio do reconhecimento da sua vocalização e amostragem de girinos. É importante que, se não todas, a maioria das lagoas abriguem as três espécies-alvo selecionadas para o estudo. As espécies de anfíbios a serem selecionadas serão espécies comuns, bem distribuídas e abundantes na área de estudo (e.g., *Physalaemus cuvieri*, *Dendropsophus minutus*, *Rhinela pombali*, *Elaschistocleis cesari*, *Leptodactylus fuscus*, *Leptodactylus latrans*, *Boana crepitans*, *Boana faber* e *Boana albopunctata*).

Quadro 3. Potenciais pontos amostrais (lagoas/brejos) sugeridos para a avaliação de contaminação, danos, malformações e desvios de simetria em girinos em áreas afetadas (alvo) e de referência durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Ponto	Coordenadas UTM 23K		Categoria
PA01	670656	7759597	afetada
PA02	673572	7761034	afetada
PA03	674238	7759438	afetada
PA04	674659	7757301	afetada

Ponto	Coordenadas UTM 23K		Categoria
PA05	676118	7757644	afetada
PA06	677811	7757255	afetada
PA07	679392	7756024	afetada
PA08	682024	7754814	afetada
PA09	684001	7754674	afetada
PA10	685307	7753490	afetada
PR11	667198	7763770	referência
PR12	667017	7758333	referência
PR13	669640	7758955	referência
PR14	672753	7759569	referência
PR15	678512	7759360	referência
PR16	679873	7758337	referência
PR17	679709	7754195	referência
PR18	680738	7756210	referência
PR19	682556	7752735	referência

Em cada ponto serão coletados 20 indivíduos por espécie em cada ponto, assim, o número de girinos coletados por ponto pode variar em função do tamanho (massa), já que, no caso de girinos muito pequenos, pode ser necessário mais de um girino para alcançar a massa mínima necessária para a análise de contaminantes.

Os girinos serão coletados em estágios de desenvolvimento medianos, antes de iniciarem a reestruturação do intestino e absorção da cauda (*i.e.*, estágios 31 a 39, segundo GOSNER, 1960; KROHN; PALACE; SMITS, 2021). Assim, se em um ponto, em determinado momento, forem encontrados apenas girinos recém eclodidos, será necessário retornar a esse ponto em intervalos regulares de tempo até que as larvas possam ser coletadas em estágio adequado.

Para análise de assimetria flutuante (AF) e malformações em girinos serão analisados 400 indivíduos por espécie (10 indivíduos por espécie em cada ponto), sendo 200 provenientes de pontos afetados e 200 de pontos-referência. Os girinos serão fixados em formol 10% e, portanto, não podem ser os mesmos que serão utilizados pelas análises de contaminação e danos. Os girinos deverão estar nos estágios 35-39 de desenvolvimento (GOSNER, 1960). Os girinos deverão ser fixados em formol 10% e, portanto, não podem ser os mesmos que serão utilizados pelas análises de contaminação e danos. Para cada girino serão medidos quatro atributos morfológicos bilaterais: distância narina-focinho, distância olho-narina, comprimento do olho e largura do olho, além do comprimento total e estágio de desenvolvimento. Baseando-se em fotografias dos girinos as medidas serão realizadas com o auxílio de software específico. As diferenças na AF serão avaliadas de acordo com o protocolo proposto por PALMER & STROBECK (1986). Malformações serão avaliadas utilizando-se os mesmos indivíduos utilizados nas análises de AF. Serão avaliadas

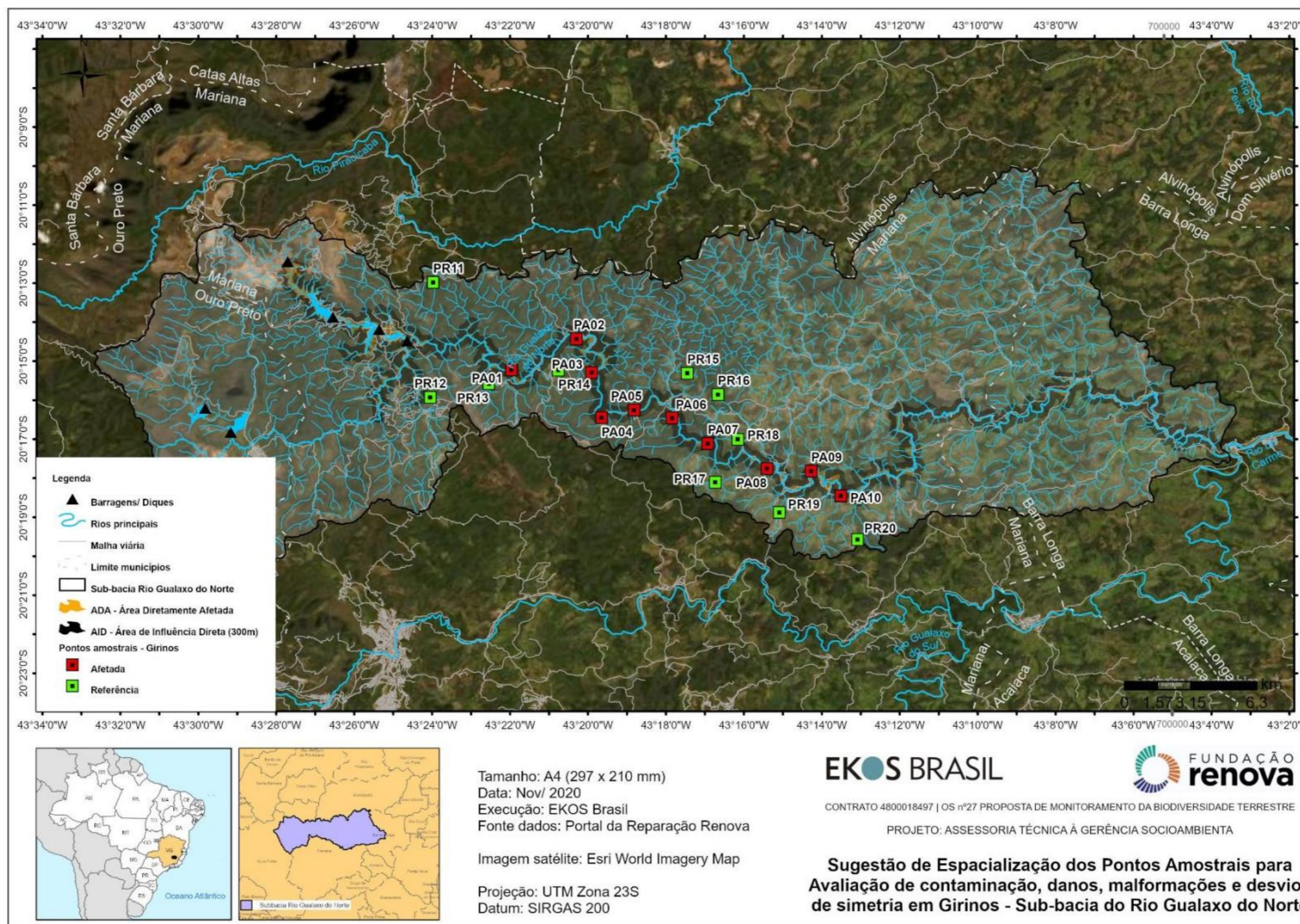
malformações relacionadas ao aparato oral dos girinos, visto que estudos prévios indicam que contaminantes podem causar modificações nessas estruturas (BABINI et al., 2015; PÉREZ-IGLESIAS et al., 2017). Será atribuída uma pontuação específica para cada uma das 3 condições observadas nos bicos córneos e fileiras de dentículos dos girinos (AMARAL, 2018):

- (1) Girinos com ambos os bicos córneos 68 íntegros pontuarão 3, aqueles que apresentarem alterações em apenas um dos bicos córneos pontuarão 2 e girinos sem ambos os bicos pontuarão 1;
- (2) Girinos com bicos córneos com pigmentação escura pontuarão 3, aqueles que apresentarem despigmentação em um ou dois bicos pontuarão 2 e 1, respectivamente e girinos sem pigmentação em ambos os bicos córneos pontuarão 0;
- (3) Girinos que apresentarem fileiras de dentículos labiais (LTR) intactas pontuarão 3, aqueles que apresentarem uma LTR incompleta ou alterada pontuarão 2, girinos sem uma das LTR ou com duas ou mais fileiras incompletas ou alteradas pontuarão 1 e girinos sem nenhuma LTR pontuarão 0.

As inspeções serão realizadas com o auxílio de estéreo microscópio. Pequenas adaptações metodológicas podem ser realizadas dependendo da fórmula das LTR das espécies que forem analisadas.

As amostragens (bem como a validação dos pontos em campo) serão realizadas impreterivelmente durante a estação chuvosa, época em que os girinos da maioria das espécies estão presentes em maior abundância. As campanhas ocorrerão nos dois primeiros anos e podem ser estendíveis até 10 anos a depender dos resultados encontrados no primeiro ciclo.

Figura 8. Localização dos potenciais pontos amostrais (lagoas/brejos) sugeridos para a avaliação de contaminação, danos, malformações e desvios de simetria em girinos em áreas afetadas e de referência para serem usadas durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



Fonte: Ekos Brasil, 2020.

Quadro 4. Potenciais pontos amostrais (lagoas/brejos) alternativos sugeridos para a avaliação de contaminação, danos, malformações e desvios de simetria em girinos em áreas afetadas e de referência para o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

Coordenadas UTM 23K		Categoria
687829	7754676	afetada
683141	7753881	afetada
682705	7754327	afetada
674843	7759764	afetada
673931	7760279	afetada
674111	7760892	afetada
671127	7759018	afetada
672584	7759455	referência
679600	7758134	referência
678771	7758215	referência
677776	7758997	referência
677602	7758840	referência
678157	7760311	referência
678247	7760712	referência
679343	7759476	referência
678686	7759313	referência
682874	7760304	referência
682990	7760410	referência
683547	7759604	referência
680699	7756356	referência
681443	7758538	referência
680900	7764842	referência
681195	7764256	referência
681009	7764111	referência
680652	7754212	referência
682200	7751820	referência
684329	7750827	referência
689728	7753101	referência
690215	7754613	referência
689338	7756834	referência
687108	7758827	referência
688387	7759058	referência
690210	7760229	referência
685895	7757575	referência
686148	7757272	referência
667176	7755452	referência
667355	7755729	referência
667162	7755142	referência
680106	7763927	referência
683682	7763419	referência
683950	7763842	referência
684393	7763710	referência
684364	7765537	referência
684193	7760155	referência
672693	7759603	referência
667304	7757827	referência

Coordenadas UTM 23K		Categoria
666535	7763276	referência
686448	7762567	referência

6.3.4.1.2. Contaminação de rejeitos em répteis e anfíbios

Assim como os pequenos mamíferos as populações de anfíbios e répteis serão amostradas nos mesmos 40 sítios amostrais em fragmentos florestais, sendo 20 em fragmentos-alvo e 20 em fragmentos-referência; 06 sítios amostrais em restingas, sendo 03 localizadas ao norte e 03 ao sul do rio Doce, sendo selecionadas dentre aquelas já monitoradas no PG28. Em função da quase inexistência de habitats reprodutivos para herpetofauna nas ilhas e considerando o sucesso de capturas de répteis e anfíbios extremamente baixo durante a Avaliação Ecológica Rápida (apenas 9 indivíduos de 4 espécies nas ilhas), não foi indicada aqui a amostragem de herpetofauna em ilhas fluviais.

Em cada sítio amostral serão estabelecidos dois transectos, sendo um na borda do fragmento e outro no interior, a uma distância mínima de 100 m. Em cada transecto será instalado um conjunto de armadilha de interceptação e queda (*Pitfall traps*) constituído de 10 baldes de 60 L em linha, interligados por lona. As armadilhas ficarão operantes durante cinco noites consecutivas, por campanha, quando então serão retiradas ou tampadas.

Nas restingas será realizada amostragem também por meio de busca ativa em trilhas aleatórias percorridas lentamente a pé entre 9:00h e 16:00h e entre 19:00h e 24:00h. Os espécimes serão capturados manualmente ou com auxílio de elásticos. As amostragens nas áreas de restinga serão realizadas durante a estação chuvosa (novembro a janeiro) quando a maior parte das espécies da herpetofauna está em atividade.

Fragmentos florestais: 4.000 baldes*noite (40 SA*2 transectos*10 baldes*5 noites)

Restingas: 600 baldes*noite (06 SA*2 transectos*10 baldes*5 noites)

720min (06 SA*2 transectos*60min)

O monitoramento para avaliação de contaminantes terá periodicidade semestral nos fragmentos e anual nas restingas, com a duração inicial de cinco anos. Caso seja verificada

uma maior concentração de metais ou danos em espécimes provenientes de áreas localizadas mais próximas à foz, quando comparados às de pontos mais distantes, o monitoramento desses parâmetros será realizado anualmente, até completar 10 anos.

6.3.4.2. Pergunta 6 - Áreas diretamente afetadas pelo rejeito apresentam menor abundância do cágado-de-barbichas (*Phrynops geoffroanus*) do que áreas não afetadas, como sugerem os dados da Avaliação Ecológica Rápida? Caso a abundância seja de fato menor em áreas diretamente afetadas, haverá aumento na abundância dessa espécie ao longo de 9 anos, em função das supostas melhorias nas condições ambientais da bacia?

Já para avaliar os efeitos da presença do rejeito na abundância de *Phrynops geoffroanus* serão amostrados 10 trechos de rios, sendo 04 diretamente afetados (alvos) e 06 de referência (não afetados) ao longo da bacia do alto rio Doce (**Quadro 5**). Cada trecho estará ao menos 1 km um do outro (**Quadro 26**).

Em cada trecho serão instaladas 20 armadilhas do tipo covó iscadas com lata de sardinha, espaçadas 30 m uma das outras. As armadilhas permanecerão abertas por 4 dias de amostragem por trecho, totalizando 1.920 armadilhas*hora por trecho e 19.200 por campanha (20 armadilhas* 24h* 4 dias*10 trechos).

O projeto terá a duração inicial de três anos, com duas campanhas no ano, em um intervalo mínimo de 30 dias entre as campanhas e não podendo ser na estação chuvosa. O primeiro ano funcionará como piloto, o segundo e terceiro como o experimento definitivo. Caso seja constatada que a abundância de *P. geoffroanus* é menor em trechos-alvo quando comparada àquelas de trechos de referência, o monitoramento será continuado a cada dois anos, até que sejam completados nove anos. Caso não seja verificada diferença na abundância do cágado entre os tratamentos, o projeto será encerrado ao final do terceiro ano.

Quadro 5. Localização dos trechos do monitoramento populacional do cágado-de-barbichas *Phrynops geoffroanus* no alto rio Doce durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

Trecho	Categoria	Rio	Dias de amostragem
TA01	Afetada	Gualaxo do Norte	4
TA02	Afetada	Gualaxo do Norte	4
TA03	Afetada	Carmo	4
TA04	Afetada	Carmo	4
TR05	Referência	Carmo (a montante da confluência com o Gualaxo do Norte)	4
TR06	Referência	Carmo (a montante da confluência com o Gualaxo do Norte)	4
TR7	Referência	Piranga	4
TR8	Referência	Piranga	4
TR9	Referência	Piracicaba	4
TR10	Referência	Piracicaba	4
Total			40

6.3.4.3. Pergunta 7 - Existem riachos, que tiveram vegetação ripária, calha e margens completamente descaracterizadas pela passagem da onda de rejeito, que abrigam populações de *Hydromedusa maximiliani* em seus trechos localizados a montante da área diretamente afetada? Trechos de riachos recuperados e que abrigam indivíduos a montante da área diretamente afetada serão utilizados por *Hydromedusa maximiliani* em dez anos, na medida em que houver uma melhoria da sua qualidade ambiental em função do processo de restauração ambiental?

Para verificar a taxa de ocupação de trechos de riachos por *Hydromedusa maximiliani* serão considerados apenas os tributários do trecho que vai desde Fundão (córrego Santarém) até o encontro do rio do Carmo com o Piranga. Os tributários amostrados precisam ter pelo menos 50 m de extensão na ADA, ser permanentes e inseridos em fragmentos de vegetação florestal que toquem a ADA (**Quadro 6, Quadro 27**). Para inspeção dos riachos uma campanha será realizada por biólogos que conheçam a biologia da espécie. Ao final da inspeção, ao menos 10 tributários serão escolhidos, desde que possuam características compatíveis com a ocorrência da espécie para o monitoramento.

Em cada tributário serão amostrados três trechos, sendo um na ADA, outro dentro do *buffer* de 300 m e outro fora da AID (*buffer* de 500 m). Em cada trecho serão instaladas 15 armadilhas do tipo covó/funil abertas por 03 dias consecutivos, totalizando 1.080

armadilhas*hora por trecho, 3.240 por tributário e 32.400 por campanha (15 armadilhas*3 trechos*03 dias*24 h*10 tributários).

As amostragens ocorrerão entre fevereiro e maio ou agosto e outubro, evitando os trimestres de temperatura mais baixa (junho – agosto), que diminuem a atividade da espécie ou de alta precipitação (novembro a janeiro), que dificulta a instalação das armadilhas devido aos níveis elevados de água e maior probabilidade de trombas d'água.

Quadro 6. Potenciais tributários para o monitoramento de *Hydromedusa maximiliani* durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

Riacho	UTM 23K	Riacho	UTM 23K		
1	664938	7758095	24	676939	7758391
2	663238	7760198	25	675128	7759786
3	663059	7760675	26	675279	7760205
4	664422	7757207	27	675222	7760764
5	666528	7758044	28	674745	7761104
6	666241	7758121	29	673075	7761547
7	666306	7760223	30	672824	7761369
8	667652	7760242	31	672023	7760338
9	668923	7760973	32	671633	7759915
10	669096	7760682	33	670773	7759839
11	669082	7759912	34	669999	7760342
12	669220	7759286	35	669523	7761094
13	671677	7759088	36	669052	7761876
14	671930	7759579	37	668784	7761902
15	673694	7760558	38	668426	7761516
16	673627	7760179	39	667070	7761052
17	673862	7759979	40	665984	7761609
18	677304	7757241	41	665151	7762430
19	677984	7755951	42	664787	7762545
20	685993	7753033	43	664196	7762435
21	689206	7757621	44	661460	7762345
22	679814	7756425	45	664834	7757125
23	680029	7756236			

A **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** realizará a primeira metade da primeira campanha como a vistoria das áreas de estudo e seleção dos tributários. As amostragens se darão anualmente durante os dois primeiros anos. Ao final do segundo ano, caso não seja constatada a ocorrência da espécie em nenhum dos riachos selecionados o monitoramento será encerrado. Caso contrário, o monitoramento será continuado anualmente apenas nos riachos em que a espécie for registrada.

6.3.4.4. Pergunta 14 - Como o processo de recuperação e restauração ecológica de habitats afeta a composição da comunidade de anfíbios e répteis Squamata ao longo do tempo?

Para verificar os efeitos da restauração/recuperação de riachos na composição da comunidade de anfíbios, serão amostrados 30 trechos de riachos permanentes, sendo 10 localizados na ADA que estão em restauração espontânea, 10 também localizados na ADA, entretanto que tiveram calhas ou margens recuperadas por intervenções artificiais (idealmente com enrocamento) e 10 não afetados, localizados a mais de 500 m da ADA em meio a fragmentos florestais referência (**Quadro 28**).

Cada trecho será amostrado por busca ativa limitada por tempo no período noturno, onde o herpetólogo percorrerá 150 m em 60min registrando adultos, jovens e vocalizações. Gerando um esforço por campanha de 4.500 m ou 1.800min de observação.

Adicionalmente serão avaliadas 30 lagoas ou brejos, sendo 10 localizadas na ADA, mas que não sofreram intervenções artificiais, ou seja, que estão em restauração espontânea, 10 localizadas na sub-bacia do Gualaxo do Norte, mas fora de um *buffer* de 500 m da ADA (referência) e 10 localizadas na sub-bacia do Piracicaba, próximas à calha do rio Piracicaba (referência). Cada lagoa será amostrada por 60min no período noturno, totalizando um esforço amostral de 1.800min de observação por campanha.

Para avaliar os efeitos do processo de restauração sobre a composição da comunidade de anfíbios e répteis terrestres ao longo do tempo, serão avaliados 20 sítios amostrais em restauração ativa, sendo 10 sobre a faixa de depósito do rejeito (na ADA) e 10 fora da faixa de depósito do rejeito, mas dentro da ADA. Além dos 20 sítios de restauração ativa, serão selecionados 10 sítios de florestas remanescentes classificadas como florestas em estágio avançado (referência final; **Quadro 7**). As amostragens da herpetofauna serão realizadas com dois métodos: *Pitfall traps* e Busca Ativa em transectos, a saber:

Pitfalls: em cada sítio serão utilizados 4 linhas de *pitfalls* composto por 4 baldes cada um distantes 10 m entre si, formando um quadrado ao redor da parcela de 30 x 30 m de monitoramento da vegetação. As linhas de *pitfalls* estarão distantes 30 m da borda externa da parcela. Em cada campanha, as armadilhas ficarão abertas por 5 dias, totalizando 2.400 armadilhas*dia (16 armadilhas*5 dias*30 SA) por campanha (**Quadro 28**).

Quadro 7. Potenciais pontos amostrais (trechos de riacho) sugeridos para a avaliação dos efeitos da restauração espontânea e recuperação de riachos diretamente afetados na estrutura da comunidade de anfíbios durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

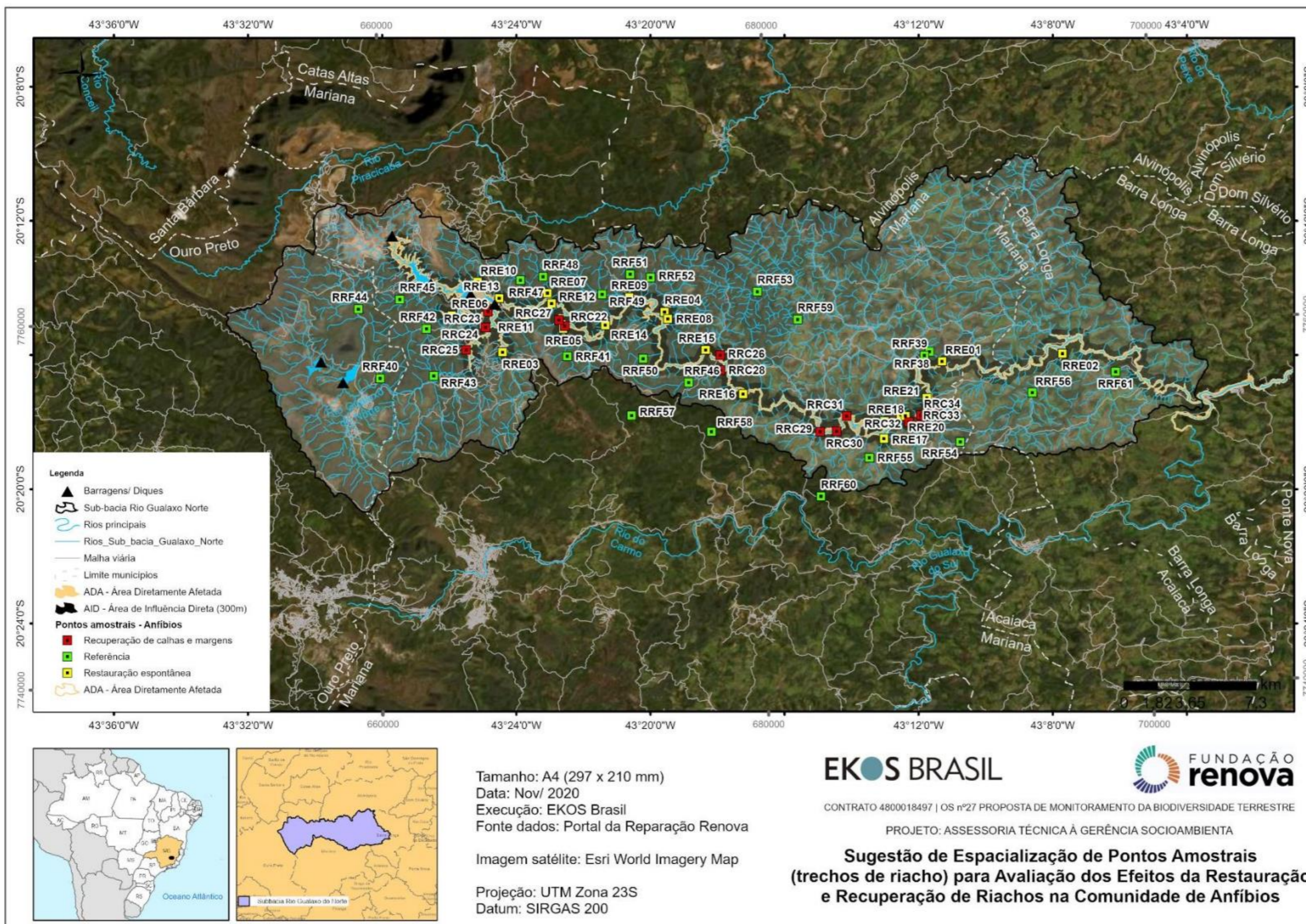
Riacho	UTM 23K		Categoria
RRE01	689206	7757623	Restauração espontânea
RRE02	695463	7757985	Restauração espontânea
RRE03	666391	7758360	Restauração espontânea
RRE04	674823	7760491	Restauração espontânea
RRE05	669554	7759628	Restauração espontânea
RRE06	663772	7760400	Restauração espontânea
RRE07	668747	7761590	Restauração espontânea
RRE08	674992	7760111	Restauração espontânea
RRE09	672993	7761318	Restauração espontânea
RRE10	665125	7762237	Restauração espontânea
RRE11	667555	7760390	Restauração espontânea
RRE12	668968	7761019	Restauração espontânea
RRE13	666249	7761332	Restauração espontânea
RRE14	671736	7759799	Restauração espontânea
RRE15	676937	7758380	Restauração espontânea
RRE16	678855	7755937	Restauração espontânea
RRE17	686140	7753409	Restauração espontânea
RRE18	686180	7754358	Restauração espontânea
RRE19	687031	7754699	Restauração espontânea
RRE20	687271	7754652	Restauração espontânea
RRE21	688392	7755622	Restauração espontânea
RRC22	669638	7759762	Recuperação de calhas e margens
RRC23	665647	7760603	Recuperação de calhas e margens
RRC24	665520	7759735	Recuperação de calhas e margens
RRC25	664495	7758508	Recuperação de calhas e margens
RRC26	677687	7758089	Recuperação de calhas e margens
RRC27	669339	7760105	Recuperação de calhas e margens
RRC28	677697	7757266	Recuperação de calhas e margens
RRC29	682832	7753822	Recuperação de calhas e margens
RRC30	683690	7753838	Recuperação de calhas e margens
RRC31	684215	7754670	Recuperação de calhas e margens
RRC32	687445	7754302	Recuperação de calhas e margens
RRC33	687886	7754146	Recuperação de calhas e margens
RRC34	688072	7754679	Recuperação de calhas e margens
RRC35	688283	7754588	Recuperação de calhas e margens
RRC36	688476	7754643	Recuperação de calhas e margens
RRC37	688713	7754979	Recuperação de calhas e margens
RRF38	688556	7758162	referência
RRF39	688289	7757956	referência
RRF40	660017	7756982	referência
RRF41	669747	7758106	referência
RRF42	662455	7759686	referência
RRF43	662806	7757095	referência
RRF44	658926	7760804	referência
RRF45	661076	7761315	referência
RRF46	676037	7756594	referência
RRF47	667354	7762312	referência

Riacho	UTM 23K		Categoria
RRF48	668535	7762497	referência
RRF49	671586	7761492	referência
RRF50	673685	7757933	referência
RRF51	673058	7762587	referência
RRF52	674117	7762392	referência
RRF53	679653	7761559	referência
RRF54	690106	7753188	referência
RRF55	685373	7752369	referência
RRF56	693873	7755856	referência
RRF57	673054	7754814	referência
RRF58	677192	7753882	referência
RRF59	681730	7760005	referência
RRF60	682840	7750266	referência
RRF61	698210	7756955	referência

Busca ativa: ocorrerá em quatro transectos de 50 m de comprimento por 5 m de largura, dispostos paralelamente a cada um dos lados da parcela de 30 x 30 m de monitoramento da vegetação. Os transectos estarão distantes 15 m da borda externa da parcela e 10 m das linhas de *pitfalls*. As amostragens diurnas ocorrerão entre 09:00h e 16:00h e as noturnas entre 19:00h e 24:00h. Cada transecto será percorrido uma vez por campanha, por uma pessoa, a pé, lentamente (100 m/h), em 30min, sendo, portanto, necessária 2h para amostrar cada área. Dessa maneira, o esforço dispendido por área será de 4h e 120h por campanha (4h*30 SA).

As amostragens ocorrerão anualmente durante 10 anos. Cada trecho ou lagoa será amostrado três vezes no ano durante a estação chuvosa, com um intervalo mínimo de 10 dias entre as amostragens.

Figura 9. Localização dos potenciais pontos amostrais (trechos de riacho) sugeridos para a avaliação dos efeitos da restauração espontânea e recuperação de riachos diretamente afetados na estrutura da comunidade de anfíbios durante o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.



Fonte: Ekos Brasil, 2020

6.3.5. Avifauna

6.3.5.1. Pergunta 8 - Existem diferenças entre as comunidades da avifauna de áreas afetadas pela deposição de rejeito e em áreas de floresta não submetidas a este estressor? Se sim, quais são estas diferenças?

A avifauna será amostrada nos 40 sítios amostrais em fragmentos florestais, sendo 20 em FA e 20 em FR, contudo esses fragmentos florestais devem estar em estágio médio ou avançado de sucessão ecológica. Em cada sítio amostral será realizado 4 pontos de contagem com duração de 10min cada, distantes no mínimo 200 m entre si (preferencialmente 300 m). As amostragens serão iniciadas ao nascer do sol e encerradas até às 09:30h da manhã. Cada ponto será amostrado duas vezes por campanha em dias distintos. O esforço total realizado será de 80min por sítio amostral e por campanha e 3.200min por campanha (40 SA*4 UAs*10min*2 dias). As amostragens serão semestrais (seca e chuvosa) e o monitoramento terá uma duração mínima de 5 anos, com avaliação da necessidade de continuidade ao final desse período.

6.3.5.2. Pergunta 9- Existem diferenças na diversidade funcional da avifauna em áreas afetadas pela deposição de rejeito e em áreas de floresta não submetidas a este estressor? Se sim, quais são estas diferenças?

Nos mesmos pontos de contagem serão instalados dois bebedouros artificiais com 5 m de distância um do outro e a 1,5 m de altura. É fundamental que todos os bebedouros utilizados ao longo do experimento sejam rigorosamente padronizados. Os bebedouros permanecerão em campo por pelo menos dois dias antes de que os censos sejam realizados, de modo a permitir a habituação dos beija-flores. Uma vez, diante dos bebedouros, os ornitólogos registrarão todas as espécies de beija-flores escutadas e/ou avistadas por 25min. Serão registrados dados de visita ou não em bebedouros e, no caso dos visitantes, o número de visitas serão contados. Cada ponto será amostrado por dois dias distintos (**Quadro 29**).

A sequência de amostragem dos pontos será alternada entre cada amostragem e os observadores trocarão de posição durante o monitoramento dos bebedouros, de modo a reduzir eventuais vieses. É muito importante que os censos de beija-flores sejam realizados sempre após as amostragens dos pontos por contagem, de modo a não interferirem nos resultados destas por meio da atração de espécies nectarívoras. Após o segundo dia de contagem dos polinizadores, os bebedouros serão removidos.

6.3.5.3. Pergunta 15 - Existem diferenças nos padrões de sucessão entre as comunidades da avifauna de áreas afetadas pela deposição de rejeito em processo de restauração e em áreas de floresta não submetidas a este estressor em diferentes escalas da paisagem?

Para investigar se existem diferenças nos padrões de sucessão entre as comunidades da avifauna de áreas afetadas pela deposição de rejeito em processo de restauração e em áreas de floresta não submetidas a este estressor em diferentes escalas da paisagem serão amostrados além dos 40 sítios amostrais para a Pergunta 8, mais 10 sítios amostrais em restauração ativa em fragmentos florestais de vegetação natural em estágio inicial de regeneração e que foram diretamente afetados pela deposição de rejeito em sua totalidade ou em apenas uma porção de sua área e mais 10 sítios em restauração ativa fora da faixa que recebeu deposição de rejeito, mas dentro do *buffer* de 300 m em relação à ADA (**Quadro 30**). Será utilizada a mesma metodologia proposta para a Pergunta 8. A periodicidade das campanhas de coleta será semestral (seca e chuvosa). A duração mínima do monitoramento será de cinco anos, com avaliação da necessidade de continuidade ao final desse período.

6.3.5.1. Pergunta 16 - A regeneração dos ambientes degradados pelo rompimento da barragem e dos ambientes em restauração na bacia está restaurando a funcionalidade dos ecossistemas e permitindo o retorno de processos ecológicos executados por espécies de insetos, mamíferos e aves?

6.3.5.1.1. Visitantes florais (aves)

Dentro de cada uma das 80 parcelas de 50x50 m, serão marcadas e identificadas as espécies de plantas apresentando flores na estação úmida (entre novembro e fevereiro) e na estação seca (entre junho e setembro) de cada ano (**Quadro 21**).

Para avaliação do processo de visitação floral por aves serão amostrados além dos 40 sítios amostrais para Pergunta 8, mais 10 sítios afetados por rejeito em restauração e 10 sítios em restauração sem rejeito, mas dentro do *buffer* de 300m. Em cada um dos sítios serão amostrados quatro pontos com a mesma metodologia utilizada para Pergunta 9. A periodicidade do monitoramento será semestral. Essas campanhas semestrais ocorrerão inicialmente em intervalos anuais durante dez anos de monitoramento.

6.3.5.1.2. Dispersão de sementes por aves

Serão amostrados 20 sítios naturais afetados (fragmentos-alvo), 20 sítios naturais não afetados (fragmentos-referência), 10 sítios afetados por rejeito em restauração, 10 sítios em restauração sem rejeito, mas dentro do *buffer* de 300m. Em cada um dos sítios serão amostrados quatro pontos, equivalentes aos pontos de contagem de aves da Pergunta 8 (**Quadro 29**).

Em cada um dos quatro pontos de contagem da Pergunta 8 serão alocados 40 frutos artificiais feitos com massa de modelar atóxica, de modo a totalizar 160 frutos por sítio amostral. Os frutos estarão distribuídos no entorno de cada ponto da seguinte maneira: 10 frutos em cada um dos quatro arbustos/arvoretas selecionados, os quais estarão situados em um raio de aproximadamente 5 m ao redor do ponto de contagem, um arbusto/arvoreta em cada ponto cardeal. Os frutos ficarão expostos durante um intervalo de cinco dias. Caso as taxas de frugivoria estejam muito elevadas este período poderá ser reduzido. Caso contrário, estendido. Findo esse prazo, o pesquisador verificará os frutos para verificar a presença de marcas que revelam interações com a fauna. A campanha será semestral, sendo uma na seca e outra na chuvosa, por um período de 10 anos.

6.4. Análise de dados

O objetivo principal dos relatórios produzidos com a metodologia apresentada será de fornecer respostas claras aos órgãos reguladores, aos tomadores de decisão e à sociedade sobre a situação de impacto e recuperação da Bacia do rio Doce pós rompimento da barragem de Fundão. Para tal, é necessário que o conjunto de análise dos dados obtidos siga alguns princípios básicos.

As análises serão coordenadas e conduzidas por profissional com doutorado, com pelo menos 8 anos de experiência em Ecologia e Análise de Dados Ecológicos. Os modelos e técnicas propostas serão aplicados utilizando as métricas propostas pelos especialistas de cada grupo. Mais do que ser capaz de executar as análises, é necessário entender suas premissas matemáticas (e como checá-las), aplicações na área e interpretações válidas. Em segundo lugar, as análises serão executadas unicamente de forma a responder com clareza às perguntas propostas, nunca sendo um motivo de complicação excessiva à interpretação (SOBER, 2015). Por último, as análises serão aplicadas transversalmente entre os diferentes grupos biológicos estudados (abordagem multitaxa), com o objetivo de se obter uma inferência robusta sobre os padrões e mecanismos naturais em estudo. Na prática, se uma análise proposta para um grupo biológico é extensível a todos os grupos (*i.e.*, compartilha

premissas, métricas e raciocínio lógico de proposição), ela será executada e os resultados discutidos como uma unidade.

Um ponto importante a se observar antes de tratar da análise em si são as escalas de coleta e de réplica de cada uma das variáveis respostas. Exceto quando claramente explicitado, a unidade de réplica verdadeira básica proposta neste projeto é o sítio amostral (fragmento florestal-alvo ou referência, ilhas fluviais, restingas), e as análises, portanto seguirão esta unidade para atender à premissa de independência das observações. Os protocolos de análises para as principais perguntas do Programa constam no **Novo Programa de Monitoramento** (EKOS BRASIL, 2020).

6.4.1. Análises para levantamento da suficiência amostral e riqueza de espécies

Ao final de cada campanha de coleta será feita a curva de acúmulo de espécies para cada grupo em função das unidades amostrais. Essas curvas serão atualizadas conforme a continuidade do estudo. Estas funções serão implementadas pelos pacotes *vegan* (OKSANEN et al., 2019) e *iNEXT* (HSIEH; MA; CHAO, 2016) em R. Para o cálculo da riqueza de espécies, de acordo com o protocolo proposto para os diferentes grupos, poderá ser utilizada como métrica de riqueza de espécies:

1. a densidade de espécies, isto é, o número bruto de espécies acumulado por ponto amostral para o grupo, sendo que sabidamente este representará a riqueza das espécies no local influenciada pelas distribuições de abundâncias encontradas (GOTELLI; COLWELL, 2001);
2. a rarefação da riqueza de espécies em função do acúmulo de indivíduos (CHAO et al., 2014);
3. a riqueza de espécies através de números equivalentes (HILL, 1973; JOST, 2007). Este procedimento permite estimar a riqueza de espécies para as espécies total de uma amostra ($q = 0$) e a riqueza de espécies diminuindo a importância das espécies com menor abundância na amostra ($q = 1$).

6.4.2. Métrica de composição de espécies

Para se avaliar a variação na composição de espécies entre as áreas e entre os diferentes tempos do monitoramento, será utilizada a métrica de diversidade beta, como diversidade gama/diversidade alfa (WHITTAKER, 1972). Neste caso, diversidade gama é a riqueza acumulada de espécies na escala espacial/temporal e diversidade alfa é a riqueza de

espécies na escala espacial/temporal menor (TUOMISTO, 2010). A razão entre a diversidade nestas escalas fornece uma métrica da diferença na composição de espécies naquela escala.

A diversidade beta pode ser calculada em várias escalas ecológicas e, neste estudo poderá ser calculada, a depender da pergunta:

- por fragmento (ou trecho de rio) para fornecer uma medida de mudança na composição interna do fragmento (SOLAR et al., 2015);
- entre fragmentos da mesma classe (e.g., entre fragmentos alvo e entre referência), para obter a diferença na composição de espécies entre os diferentes tratamentos;
- entre tempos distintos dos mesmos fragmentos, para obter a heterogeneidade da composição de espécies ao longo do tempo de recuperação (NUNES et al., 2020).

6.4.3. Análises com o objetivo de responder à pergunta de qual o efeito espacial do rompimento da barragem de Fundão – comparação das métricas obtidas entre os fragmentos alvo e referência ao longo da calha do rio dentro de um mesmo ano de amostragem.

Este conjunto de análises será usado para entender o impacto espacial da restauração ambiental, levando-se em conta o desenho espacializado para abranger áreas de restauração em diferentes cenários em relação ao rejeito. Para tal, a análise lançará mão do uso de Modelos Lineares Generalizados (CRAWLEY, 2013; GLMs; OLSSON, 2002), no qual a variável resposta será a métrica a ser obtida indicada por cada especialista e a variável explicativa será a categoria de impacto (alvo ou referência).

De acordo com as hipóteses propostas pelos protocolos de cada grupo, poderão ser usadas covariáveis no modelo (solo, clima, vegetação). É necessário observar-se, antes de construir o modelo qual é a natureza da variável resposta, de forma a se adequar a natureza da variável com a distribuição de probabilidades adequada, acompanhada de sua função de ligação específica (CRAWLEY, 2013; OLSSON, 2002).

Este tipo de análise permite avaliar com bastante robustez as diferenças entre tratamento no “tempo para morte”, sendo considerada morte qualquer mudança de estado de uma variável (no exemplo das lagartas, de íntegras para predadas). Outra grande vantagem desta análise é que as amostras que sobreviverem até o final do experimento, ou aquelas amostras que foram perdidas podem ter sua informação registrada como “último momento vistas intactas”, através da informação de censor nos dados. Neste tipo de modelo, caso a unidade de medida seja menor que a unidade de réplica, deve-se adotar o procedimento de “frailty”, informando

ao modelo qual é a verdadeira unidade de réplica para que a significância possa ser devidamente calculada.

Em termos gerais, as expectativas e observações são similares às da análise espacial. No caso das ações de restauração, uma comparação necessária é entre as métricas das parcelas permanentes e das parcelas sorteadas. O esperado é que não haja diferença significativa entre métricas de parcelas permanentes e parcelas sorteadas (*i.e.*, todas as áreas estão sendo restauradas com igual eficiência). Temporalmente, ainda que se saiba da existência de variação nas trajetórias de restauração naturais (NORDEN et al., 2015), é esperado que as áreas tenham trajetórias comuns no sentido da melhoria da condição florestal das áreas sob restauração, uma vez que medidas ativas estão sendo tomadas neste sentido.

6.4.4. Análises com o objetivo de responder à pergunta de qual o efeito espaço-temporal do rompimento da barragem de Fundão – avaliação da evolução temporal dos padrões observados nos fragmentos amostrados ao longo da calha do rio.

As análises dessa pergunta partem do pressuposto que se quer saber o efeito do contato (atual ou pretérito) das áreas afetadas com o rejeito ao longo das amostragens feitas no tempo. Esta análise também tem por objetivo entender a evolução temporal da paisagem e das ações de restauração na bacia. Para tal, a análise lançará mão de análises de séries temporais. Todavia, considerando que pela urgência das respostas já é preciso ter respostas com séries temporais pequenas, sugere-se a aplicação dos Modelos de Séries Temporais Interrompidas (pacote R *its.analysis*) onde a variável resposta será a métrica a ser obtida indicada por cada especialista (*e.g.*, riqueza de espécies, concentração de contaminantes) e a variável explicativa será a categoria de impacto (alvo ou referência). Outra possibilidade, complementar às análises de séries temporais, é a de se fazer a comparação das métricas através de GLMMs, com a métrica indicadora como variável resposta; categoria do tratamento (alvo ou referência) e ano de amostragem como variáveis explicativas e a identidade do fragmento amostrado como variável aleatória.

6.4.5. Dados secundários

Todos os dados coletados neste plano de monitoramento pelos grupos de trabalho serão armazenados e disponibilizados padrão *DarwinCore* para dados biológicos e Infraestrutura Nacional de Dados (INDE) para informações geoespaciais. Ou seja, serão disponibilizados na escala de indivíduos coletados, ou na escala da menor unidade de coleta.

6.4.6. Status Populacional e Endemismo

Para a definição do estado de conservação das espécies registradas neste monitoramento serão utilizadas as categorias de ameaça definidas nacional e internacionalmente, e as listas de espécies ameaçadas de Minas Gerais (COPAM, 2010) e Espírito Santo (PASSAMANI; MENDES, 2007), do Brasil (ICMBIO/MMA, 2018; INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2018a, 2018b, 2018c, 2018d, 2018e) e global (IUCN, 2020). Para a definição do grau de endemismo e outras informações sobre o uso e do habitat e ecologia das espécies serão utilizados os conhecimentos técnicos específicos de cada equipe de profissionais da **Bicho do Mato Meio Ambiente**, bem como informação disponível na literatura especializada. Fazem parte da base de consulta da equipe técnica da **Bicho do Mato meio Ambiente** as seguintes referências:

- Mamíferos – distribuição, endemismo, hábitos locomotor e alimentar (ABREU-JR et al., 2020; CÁCERES; GRAIPEL; MONTEIRO-FILHO, 2010; MELO; SPONCHIADO, 2012; MONTEIRO-FILHO; GRAIPEL, 2006; OLIVEIRA; CASSARO, 2006; PAGLIA et al., 2012; REIS et al., 2011, 2013);
- Avifauna – uso do habitat, grau de dependência aos ambientes florestais, sensibilidade a alterações ambientais e estrutura trófica (DEL HOYO et al., 2017; LOPES; FERNANDES; MARINI, 2005; MOTTA-JÚNIOR, 1990; SICK, 2001; SILVA, 1995; STOTZ et al., 1996; TELINO-JÚNIOR et al., 2005; VON MATTER et al., 2010);
- Herpetofauna - (COSTA; BÉRNILS, 2018, 2015; CRUZ; FEIO, 2007; RIEVERS, 2010);
- Borboletas - raridade, hábitos migratórios, endemismos e potenciais espécies bioindicadoras (FREITAS; MARINI-FILHO, 2011);
- Interações fauna-flora e fauna-fauna (AUGSPURGER, 1984; BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008; EMMONS; FEER, 1997; FLEMING; JOHN KRESS, 2011; GARDNER, 2008; HOWE; PRIMACK, 1975; PAGLIA et al., 2012; PHILLIPS, 1997; REIS et al., 2011; STALLINGS, 1988; WILSON; REEDER, 2005);

Os relatórios produzidos destacarão os registros de espécies exóticas e invasoras, definidas como aquelas cuja introdução, reintrodução ou dispersão representam risco direto ou impactam negativamente a sociedade, a economia ou o ambiente.

6.5. Coleta, eutanásia e depósito de espécimes coletados

Os procedimentos para obtenção e processamento das amostras teciduais para as análises laboratoriais, processamento histológico dos fragmentos dos órgãos, análises de contaminantes, avaliação de marcadores de estresse oxidativo estão descritos no item de métodos de amostragem.

Espécimes destinados à análise de metais e danos teciduais determinados neste projeto, serão eutanasiados seguindo a Resolução 1000 de 11 de maio de 2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2012) . sobre condutas éticas de eutanásia de animais, podendo ser executada por Biólogos, conforme Resolução Normativa 37 (CONCEA, 2018) e Resolução 301 do CFBio (2012). Os espécimes coletados serão destinados às mesmas coleções de referência que já receberam os espécimes durante os dois primeiros anos de estudo (INMA-ES, PUC-MG, UFMG, UFMT, CPC, UFV; **ANEXO II**). As instituições depositárias ficarão responsáveis por manter o material em condições adequadas para consulta por outros pesquisadores interessados, devendo fornecer à **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** os relatórios as declarações de recebimento/tombamento do material para conhecimento e controle dos órgãos ambientais.

As amostras de mamíferos, aves, herpetofauna, invertebrados e da flora serão processadas e analisadas quanto às concentrações de metais conforme protocolo padrão e analisadas, em triplicata, pela técnica de ICP-MS para a determinação das concentrações de As, Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Mn e Zn. A análise da concentração de Hg nestas amostras será realizada pelo método de vapor frio, utilizando-se gerador de hidretos acoplado a espectrofotômetro de absorção atômica. As concentrações dos metais no material biológico serão expressas em µg/g de peso úmido (mg/kg de peso úmido). Para verificar a acurácia e exatidão das análises, serão realizados controles de qualidade analíticos. Para tal, serão analisados "brancos". Além disso, serão utilizadas soluções padrões dos metais analisados (SpecSol®, QuimLab Química & Metrologia, Jacareí, SP, Brazil), rastreadas ao *National Institute of Standards and Technology* (NIST, Gaithersburg, MD, EUA), para verificar a acurácia das medidas. Por sua vez, a exatidão dos resultados obtidos será avaliada utilizando-se os seguintes materiais de referência certificados para análise de metais traços: proteína de peixe DORM-4 (*National Research Council Canada*) e tecido de mexilhão ERM-CE278 (*European Reference Material*). Amostras destes materiais de referência certificados serão tratadas e analisadas da mesma forma que as amostras do material biológico coletado, conforme descrito anteriormente". As análises serão efetuadas pela Tommasi Ambiental Ltda.

7. EQUIPE TÉCNICA

A seguir são apresentados os profissionais da **Bicho do Mato Meio Ambiente Ltda.** capacitados para o desenvolvimento dos trabalhos, que atuarão nas funções discriminadas pela especificação técnica desta proposta. Os currículos e CTF dos profissionais, bem como a ART do coordenador são apresentados anexados a esta proposta (**ANEXO III**).

Quadro 8. Equipe de coordenação técnica para Avaliação e Monitoramento da Fauna Terrestre nos Estados de Minas Gerais e Espírito Santo.

Nome	Formação	Titulação	Categoria na Proposta RENOVA	Atividades Atual	CV Lattes
COORDENAÇÃO INSTITUCIONAL					
Edeltrudes M. V. C. Câmara	Bióloga	MSc. Zoologia de Vertebrados - PUC Minas	RT da Bicho do Mato Meio Ambiente	Sócio Diretora Técnica da Bicho do Mato Meio Ambiente Meio Ambiente e Presidente da Bicho do Mato Instituto de Pesquisa	http://lattes.cnpq.br/1460392536766198
Leonardo de Carvalho Oliveira	Biólogo	Pós-Doc. Ecologia – UFRJ; PhD. Ecology – University of Maryland	Coordenador Geral do Projeto	Professor Adjunto (FFP- UERJ); Université de Liège , ULG, Bélgica; Diretor Técnico Bicho do Mato Meio Ambiente Instituto de Pesquisa	http://lattes.cnpq.br/7477378276523934
Tatiana Andrade Lima Guimaraes Alves	Biólogo	MSc. Gestão e Auditoria Ambiental - FUNIBER	Coordenação de Logística	Analista Ambiental da Bicho do Mato Meio Ambiente	http://lattes.cnpq.br/0263276172512260
Diogo Loretto Medeiros	Biólogo	Pós-Doc. Ecologia – IOC/Fiocruz; Doutor em Ecologia - UFRJ	Sênior, Coordenador Técnico	Analista Ambiental IV da Bicho do Mato Meio Ambiente ; Diretor da Sociedade Brasileira de Mastozoologia; Professor Convidado (PUC-Rio, UERJ, UFRJ)	http://lattes.cnpq.br/5962407771637750
PEQUENOS MAMIFEROS					
Diogo Loretto Medeiros	Biólogo	Pós-Doc. Ecologia – IOC/Fiocruz; Doutor em Ecologia - UFRJ	Sênior, Coordenador Técnico	Analista Ambiental IV da Bicho do Mato Meio Ambiente ;	http://lattes.cnpq.br/5962407771637750
Atila Colombo Ferregueti	Biólogo	Dr. Ecologia e Evolução - UERJ	Sênior	Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Analista Ambiental da Bicho do Mato Meio Ambiente	http://lattes.cnpq.br/6605597502238136
João Marcelo Rocha Biagini	Biólogo	Bacharel	Pleno	Consultor Autônomo	http://lattes.cnpq.br/9134770024122758
QUIRÓPTEROS					
Fábio de Carvalho Falcão	Biólogo	Doutor em Ecologia e Biomonitoramento - UFBA	Sênior	Professor Adjunto - Universidade Estadual de Santa Cruz, BA	http://lattes.cnpq.br/5409022408796905

Nome	Formação	Titulação	Categoria na Proposta RENOVA	Atividades Atual	CV Lattes
Júlia Luz Lins	Bióloga	Dra. em Biologia Animal - UFRRJ	Sênior	Piper 3D - Pesquisa, Educação e Consultoria Ambiental	http://lattes.cnpq.br/0092121295998009
Michael Bruno	Biólogo	MSc. Zoologia de Vertebrados	Pleno	Biólogo na ENGEIO Gestão, Projetos e Estudos Ambientais LTDA	http://lattes.cnpq.br/3440858730965244
AVIFAUNA					
Marco Aurélio Crozariol	Biólogo	Doutor em Zoologia – UFRJ	Sênior	Professor Adjunto – Universidade de Taubaté Pesquisador colaborador – Museu Nacional do Rio de Janeiro	http://lattes.cnpq.br/7317790502443950
Rafael Bessa Alves de Carvalho	Biólogo	MSc. Biodiversidade em Unidades de Conservação - ENBT	Pleno	Analista Ambiental, Profissional Liberal	http://lattes.cnpq.br/6050992657264140
José Nilton da Silva	Biólogo	MSc. Ecologia de Ecossistemas	Pleno	Instituto Nacional da Mata Atlântica	http://lattes.cnpq.br/4717732720678023
HERPETOFAUNA					
Tiago Leite Pezzuti	Biólogo	Doutor em Zoologia – UFMG	Sênior	Professor Voluntário - UFMG	http://lattes.cnpq.br/8822866352997968
Danielle Christine Ribeiro Costa	Biólogo	MSc. Zoologia de Vertebrados – PUC Minas	Pleno	Analista Ambiental, Profissional Liberal	http://lattes.cnpq.br/5604908176199977
QUELÔNIOS					
Elizangela Silva de Brito	Biólogo	Pós-Doc UFMT, Doutora em Biologia de Água Doce e Pesca Interior- INPA	Sênior	Programa de Capacitação Institucional (PCI-DB), Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG)	http://lattes.cnpq.br/2352362962073756
Thiago Marcial De Castro	Biólogo	BSc Ciências Biológicas – SÃO CAMILO	Pleno	Analista Ambiental, BIOMA Estudos Ambientais	http://lattes.cnpq.br/1033813182805500
Elaine Costa Campinhos	Biólogo	MSc. Ecologia de Ecossistemas – UVV	Pleno	Bolsista FAPES, Analista Ambiental	http://lattes.cnpq.br/2233616486078008
BORBOLETAS					
Laura Braga de Oliveira	Biólogo	Pós-Doc UFOP, Doutora em Ecologia - UNB	Sênior	Pesquisadora na UFOP	http://lattes.cnpq.br/5954530012544997
Diogo França Bráulio	Biólogo	MSc. Diversidade Animal - UFBA	Pleno	Analista Ambiental, Profissional Liberal	http://lattes.cnpq.br/5545804570437012

Nome	Formação	Titulação	Categoria na Proposta RENOVA	Atividades Atual	CV Lattes
Gloria Ramos Soares	Biólogo	MSc. Análise e Modelagem de Sistemas Ambientais - UFMG	Pleno	Pesquisadora na UFV	http://lattes.cnpq.br/4653773242430969
ABELHAS					
José Eustáquio dos Santos Júnior	Biólogo	Dr. Genética – UFMG	Sênior	Pós-doutorado UFMG	http://lattes.cnpq.br/2501778821520387
Fernanda Figueiredo	Biólogo	MSc. Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre	Pleno	Doutoranda na UFMG	http://lattes.cnpq.br/7594274997329274
BESOUROS					
André Luiz Batista Tavares	Biólogo	Doutor em Entomologia – UFLA	Sênior	Pesquisador na UFLA	http://lattes.cnpq.br/0048360096460295
Július César Cerqueira Silva	Biólogo	MSc. Entomologia – UFLA	Pleno	Doutorando da Universidade Federal de Lavras	http://lattes.cnpq.br/0103233563685933
FORMIGAS					
Wesley Duarte da Rocha	Biólogo	Doutor em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre - UFMG	Sênior	Pesquisador, Colaborador do Laboratório de Mirmecologia (CEPEC/CEPLAC) Ilhéus, BA	http://lattes.cnpq.br/1818373030098841
Antonio Cesar Medeiros de Queiroz	Biólogo	Doutor em Ecologia Aplicada - UFLA	Pleno	Pesquisador na UFLA.	http://lattes.cnpq.br/3015974250635738
José Eduardo Teixeira Falcon	Biólogo	MSc. Ecologia - UFV	Pleno	Analista Ambiental, Profissional Liberal	http://lattes.cnpq.br/9628808906574204
ODONATA, EPHEMEROPTERA E TRICHOPTERA					
Henrique Paprocki	Biólogo	PhD. Entomology - University of Minnesota	Sênior	Professor Adjunto IV – PUC/MG, Curador da Coleção de Invertebrados do Museu de Ciências Naturais PUC/MG	http://lattes.cnpq.br/1414333591017031
Fabiana Criste Massariou	Biólogo	Doutora Biologia Animal - UFES	Pleno	Analista Ambiental, Profissional Liberal	http://lattes.cnpq.br/2647235402111033
Keyla Vieira Cruz	Biólogo	MSc. Biodiversidade Tropical - UFES	Pleno	Analista Ambiental, Profissional Liberal	http://lattes.cnpq.br/4718139138064476

Nome	Formação	Titulação	Categoria na Proposta RENOVA	Atividades Atual	CV Lattes
GEOPROSESSAMENTO					
Rafael Liberal Ferreira	Geógrafo	Bacharel em Geografia – PUC-MG; Especialização em Geoprocessamento – UFMG	Geoprocessamento	Especialista em Geoprocessamento da Bicho do Mato Meio Ambiente	http://lattes.cnpq.br/1676273476324091
PMO (Project Management Office)					
Henrique Azeredo Murta da Fonseca	Geólogo	MSc. Recursos Minerais e Riscos Geológicos – Universitat de Barcelona; MBA Gestão de Negócios – IBMEC	Gestão do projeto	PMO	http://lattes.cnpq.br/91306749796477
BANCO DE DADOS					
Clever da Conceição Junior	Tecnologia da informação e Administração	Banco de Dados - Faculdade de Tecnologia Pitágoras; MBA em administração de projetos - IETEC	Gestão de banco de dados	Banco de dados	http://lattes.cnpq.br/4360876979568066
SSMA					
Cristiane Angélica Feliciano	Técnica de Segurança do Trabalho	Técnica de Segurança do Trabalho – SENAC	SSMA	Coordenação de Segurança do Trabalho da Bicho do Mato Meio Ambiente	-

8. CRONOGRAMA

Os cronogramas específicos para a execução de cada grupo da fauna estão contidos no **Anexo I**. Abaixo segue o cronograma previsto para a realização das campanhas e atividades específicas de cada fase do estudo segundo a RT emitida pela **Fundação RENOVA**.

Etapas	2021						2022						
	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
Protocolo de solicitação de ACMB													
<i>Workshops</i>													
Campanhas													
Contatos proprietários e autorização acesso													
Vistoria e instalação dos sítios amostrais													
Desinstalação dos módulos antigos													
Manutenção dos sítios amostrais													
Insetos (Pergunta 3)													
Insetos (Pergunta 5)													
Insetos (Pergunta 13)													
Insetos (Pergunta 16)													
Pequenos mamíferos (Pergunta 3 e 10) FF													
Pequenos mamíferos (Pergunta 3) RES													
Pequenos mamíferos (Pergunta 3) IF													
Morcegos (Pergunta 16)													
Herpetofauna/girinos (Pergunta 3)													
Herpetofauna/ <i>Phrynops</i> (Pergunta 3)													
Herpetofauna/ <i>Phrynops</i> (Pergunta 6)													
Herpetofauna/ <i>Hydromedusa</i> (Pergunta 7)													
Herpetofauna (Pergunta 3) FF													
Herpetofauna (Pergunta 3) RES													
Herpetofauna/Anfíbios (pergunta 14)													
Avifauna (Pergunta 8, 9, 15 e 16)													
Relatórios													
Relatório mobilização													
Relatórios mensais													
Relatório semestral (estação seca)													
Relatório anual													

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU-JR, E. F. et al. **Lista de Mamíferos do Brasil**. Disponível em: <<https://www.sbmz.org/mamiferos-do-brasil/>>. Acesso em: 23 ago. 2020.
- ALVES-SILVA, E.; SANTOS, J. C.; CORNELISSEN, T. G. How many leaves are enough? The influence of sample size on estimates of plant developmental instability and leaf asymmetry. **Ecological Indicators**, v. 89, p. 912–924, jun. 2018.
- AMARAL, D. F. DO. **Biomarcadores comportamentais e mutagênicos em girinos de Rã Touro (Lithobates catesbeianus) expostos à Abamectina**. Dissertação de Mestrado—Urutaí, GO: Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, 2018.
- AUGSPURGER, C. K. Seedling survival of tropical tree species: interactions of dispersal distance, light-gaps, and pathogens. **Ecology**, v. 65, n. 6, p. 1705–1712, 1984.
- BABINI, M. S. et al. Health status of tadpoles and metamorphs of *Rhinella arenarum* (Anura, Bufonidae) that inhabit agroecosystems and its implications for land use. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 118, p. 118–125, ago. 2015.
- BEASLEY, D. A. E.; BONISOLI-ALQUATI, A.; MOUSSEAU, T. A. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis. **Ecological Indicators**, v. 30, p. 218–226, jul. 2013.
- BICHO DO MATO MEIO AMBIENTE LTDA. **Avaliação Ecológica Rápida da fauna e flora terrestre na bacia do rio Doce, MG/ES**: 4 Volumes. Belo Horizonte, MG, Brasil: [s.n.].
- BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A. DE; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. 1st ed. ed. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de febre aftosa-OPAS/OMS, 2008.
- BRAGA, R. F. et al. Dung beetle community and functions along a habitat-disturbance gradient in the Amazon: a rapid assessment of ecological functions associated to biodiversity. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, p. e57786, fev. 2013.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. 1a. ed. Brasília, DF: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, 2009.
- BRASIL. Lei nº 12.651 de Proteção da Vegetação Nativa, de 25 de maio de 2012 (Código Florestal). . 2012, p. 38.
- CÁCERES, N. C.; GRAIPEL, M. E.; MONTEIRO-FILHO, E. L. DE A. Técnicas de observação e amostragem de marsupiais. In: REIS, N. R. DOS et al. (Eds.). . **Técnicas de Estudo Aplicadas aos Mamíferos Silvestres Brasileiros**. Primeira e ed. Rio de Janeiro, RJ: Technical Books Editora, 2010. p. 21–36.
- CETESB. **Manual para elaboração de estudos ambientais com AIA**. São Paulo, SP: CETESB, 2019.
- CFBIO. **Resolução nº 301, de 8 de dezembro de 2012** Brasil, 2012.
- CHAO, A. et al. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: A framework for sampling and estimation in species diversity studies. **Ecological Monographs**, 2014.
- CONCEA. Resolução Normativa nº37, de 15 de fevereiro de 2018. . 2018.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução Nº 1000 , De 11 De Maio De 2012 - Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p. 124–125, 2012.

COPAM. Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção da Fauna do Estado de Minas Gerais. . 2010, p. 1–48.

COSTA, C.; BÉRNILS, R. S. Répteis do Brasil e suas Unidades Federativas: Lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 11–57, 2018.

COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. Répteis brasileiros: Lista de espécies 2015. **Herpetologia Brasileira**, v. 3, n. 4, p. 74–84, 2015.

CRAWLEY, M. J. **The R book**. England: John Wiley & Sons Ltda, 2013. v. 5

CRUZ, C. A. G.; FEIO, R. N. Endemismos em anfíbios em áreas de altitude na Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. In: **Herpetologia no Brasil II**. Belo Horizonte, MG: Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2007. p. 117–126.

DEL HOYO, J. et al. **Handbook of the birds of the world alive**. Barcelona: Lynx Edicions, 2017.

EKOS BRASIL. **Proposta de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre**. Belo Horizonte, MG, Brasil: [s.n.].

EMMONS, L. H.; FEER, F. **Neotropical Rainforest Mammals: A Field Guide**. 2nd editio ed. Chicago: University Of Chicago Press, 1997.

FLEMING, T. H.; JOHN KRESS, W. A brief history of fruits and frugivores. **Acta Oecologica**, v. 37, n. 6, p. 521–530, 2011.

FREITAS, A. V. L.; MARINI-FILHO, O. J. **Plano de ação nacional para a conservação dos Lepidópteros**. Brasília, DF, DF: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2011.

GARDNER, A. L. **Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats**. 1st ed. ed. [s.l.] University of Chicago Press, 2008. v. 1

GOLDER ASSOCIATES. **Plano de Recuperação Ambiental - Rompimento da Barragem de Rejeitos de Fundão**. Belo Horizonte, MG, Brasil: [s.n.].

GOLDER ASSOCIATES. **Avaliação de Impacto Sobre as Espécies Terrestres Ameaçadas de Extinção**. Belo Horizonte, MG, Brasil: [s.n.].

GOSNER, K. L. A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. **Herpetologica**, v. 16, n. 3, p. 183–190, 25 fev. 1960.

GOTELLI, N. J.; COLWELL, R. K. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. **Ecology Letters**, v. 4, n. 4, p. 379–391, 22 jul. 2001.

HENRIQUES, N. R.; CORNELISSEN, T. Wing asymmetry of a butterfly community: is altitude a source of stress? **Community Ecology**, v. 20, n. 3, p. 252–257, dez. 2019.

HILL, M. O. Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. **Ecology**, v. 54, n. 2, p. 427–432, 1973.

HOWE, H. F.; PRIMACK, R. B. Differential Seed Dispersal by Birds of the Tree *Casearia nitida* (Flacourtiaceae). **Biotropica**, v. 7, n. 4, p. 278, dez. 1975.

HSIEH, T. C.; MA, K. H.; CHAO, A. iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). **Methods in Ecology and Evolution**, v. 7, p. 1451–1456, 2016.

IBAMA-COREC. **Parecer Técnico nº 1/2017-COREC/CGBIO/DBFLO**. Brasília - DF: [s.n.]. Disponível em: <http://www.golder.ca/en/modules.php?name=Pages&sp_id=331>.

IBAMA. **Termo de referência 4 - Monitoramento ecotoxicológico dos impactos causados pela lama oriunda do rompimento da Barragem de Mariana (MG) em regiões dulcícolas, estuarinas e marinhas**. [s.l.: s.n.].

IBAMA. **Termo de Transação e Ajustamento de Conduta (TTAC) entre União/Estados de MG e ES/Samarco/Vale/BHP**. Brasília - DF: [s.n.].

ICMBIO/MMA. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume I. In: **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília, DF: ICMBio, 2018. p. 492.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume II – Mamíferos. In: **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília, DF: ICMBio, 2018a. v. IIp. 622.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume III - Aves. In: **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília, DF: ICMBio, 2018b. v. IIIp. 709.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção - Vol IV Répteis. In: **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília - DF: ICMBio, 2018c. p. 252.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume V - Anfíbios. In: **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília, DF: ICMBio, 2018d. v. Vp. 128.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VII - Invertebrados. In: **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília, DF: ICMBio, 2018e. v. VIIp. 727.

IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 1 ago. 2020.

JOST, L. Partitioning diversity into independent alpha beta concepts. **Ecology**, v. 88, n. 10, p. 2427–2439, 2007.

KOZLOV, M. V.; ZVEREVA, E. L. Background Insect Herbivory: Impacts, Patterns and Methodology. In: CÁNOVAS, F.; LÜTTGE, U.; MATYSSEK, R. (Eds.). **Progress in Botany**. [s.l.] Springer, Cham, 2017. v. 79p. 313–355.

KROHN, R. M.; PALACE, V.; SMITS, J. E. G. Metal Changes in Pre- and Post-metamorphic Wood Frog (*Lithobates sylvaticus*) Tadpoles: Implications for Ecotoxicological Studies. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 80, n. 4, p. 760–768, 20 maio 2021.

LEE, K. P.; RAUBENHEIMER, D.; SIMPSON, S. J. The effects of nutritional imbalance on compensatory feeding for cellulose-mediated dietary dilution in a generalist caterpillar. **Physiological Entomology**, v. 29, n. 2, p. 108–117, jun. 2004.

LOPES, L. E.; FERNANDES, A. M.; MARINI, M. Â. Diet of some Atlantic Forest birds. **Ararajuba**, 2005.

- LOW, P. A. et al. Determining predator identity from attack marks left in model caterpillars: guidelines for best practice. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 152, n. 2, p. 120–126, ago. 2014.
- MACHADO, B. B. et al. BioLeaf: A professional mobile application to measure foliar damage caused by insect herbivory. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 129, p. 44–55, nov. 2016.
- MCTIC. **Diretriz da Prática de Eutanásia do Conceab** Brasília - DF, Brasil Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, , 2018.
- MELO, G. L.; SPONCHIADO, J. Distribuição geográfica dos marsupiais no Brasil. In: CÁCERES, N. C. (Ed.). **Os Marsupiais do Brasil: Biologia, Ecologia e Evolução**. 2nd. ed. ed. Campo Grande, MS: Editora UFMS, 2012. p. 95–112.
- MMA/ICMBIO. **Nota Técnica nº 17/2018/CTBio/DIBIO/ICMBio: Análise de solicitação de substituição do método de análise em material biológico**. Vitória, ES, Brasil: [s.n.].
- MONTEIRO-FILHO, E. L. DE A.; GRAIPEL, M. E. Captura e marcação. In: CÁCERES, N. C.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. (Eds.). **Os Marsupiais do Brasil: Biologia, Ecologia e Evolução**. Primeira e ed. Campo Grande, MS: Editora UFMS, 2006. p. 17-27 (364).
- MOTTA-JÚNIOR, J. C. Estrutura trófica e composição da avifauna de três habitats terrestres na região central do Estado de São Paulo. **Ararajuba**, v. 1, p. 65–71, 1990.
- NORDEN, N. et al. Successional dynamics in Neotropical forests are as uncertain as they are predictable. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 26, p. 8013–8018, 30 jun. 2015.
- NUNES, C. A. et al. High Temporal Beta Diversity in an Ant Metacommunity, With Increasing Temporal Functional Replacement Along the Elevational Gradient. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 8, 10 nov. 2020.
- OKSANEN, J. et al. **Vegan: Community Ecology Package** The Comprehensive R Archive Network, , 2019. Disponível em: <<https://github.com/vegandevs/vegan>>
- OLIVEIRA, T. G. DE; CASSARO, K. **Guia de Campo dos Felinos do Brasil**. 3a. ed. Atibaia, SP: Instituto Pró-Carnívoros, 2006.
- OLSSON, U. **Generalized Linear Models: An Applied Approach**. [s.l.] Lightning Source, 2002.
- PAGLIA, A. P. et al. **Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil / Annotated Checklist of Brazilian Mammals. 2ª Edição / 2nd Edition. Occasional Papers in Conservation Biology, No. 6. Conservation International, Arlington, VA. 76pp.** [s.l.: s.n.].
- PALMER, A. R.; STROBECK, C. Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 17, n. 1, p. 391–421, nov. 1986.
- PASSAMANI, M.; MENDES, S. L. **Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção no Estado do Espírito Santo**. Vitória, ES: Instituto de Pesquisas da Mata Atlântica, 2007.
- PEIXOTO, P. E. C.; BENSON, W. W. Fat and Body Mass Predict Residency Status in Two Tropical Satyrine Butterflies. **Ethology**, v. 117, n. 8, p. 722–730, ago. 2011.
- PÉREZ-IGLESIAS, J. M. et al. Evaluation of imazethapyr-induced DNA oxidative damage by alkaline Endo III- and Fpg-modified single-cell gel electrophoresis assay in *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 503–508, ago. 2017.

- PHILLIPS, O. L. The changing ecology of tropical forests. **Biodiversity & Conservation**, v. 311, n. August 1995, p. 291–311, 1997.
- PORTELA SALOMÃO, R. et al. Landscape structure and composition define the body condition of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeinae) in a fragmented tropical rainforest. **Ecological Indicators**, v. 88, p. 144–151, maio 2018.
- REIS, N. R. et al. **Mamíferos do Brasil**. 2a. ed. Londrina, PR: Universidade Estadual de Londrina, 2011.
- REIS, N. R. et al. **Morcegos do Brasil: Guia de Campo**. [s.l: s.n.].
- RIEVERS, C. R. **Anfíbios anuros de serrapilheira do Parque Estadual do Rio Doce: resposta à disponibilidade de recursos e aos fatores climáticos**. [s.l: s.n.].
- SÁNCHEZ, L. E. **Avaliação de Impacto Ambiental - Conceitos e Métodos**. 2nd. ed. ed. São Paulo, SP: Oficina de Textos, 2015.
- SÁNCHEZ, L. E. et al. **Os impactos do rompimento da Barragem de Fundão. O caminho para uma mitigação sustentável e resiliente**. [s.l: s.n.].
- SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature methods**, v. 9, n. 7, p. 671–5, jul. 2012.
- SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. 3a. ed ed. Rio de Janeiro, RJ: Editora Nova Fronteira, 2001.
- SILVA, J. M. DA. Birds of the Cerrado Region, South America. **Steenstrupia**, v. 21, p. 69–92, 1995.
- SOBER, E. **Ockham's Razors**. Cambridge: Cambridge University Press, 2015.
- SOLAR, R. R. DE C. et al. How pervasive is biotic homogenization in human-modified tropical forest landscapes? **Ecology letters**, v. 18, n. 10, p. 1108–18, out. 2015.
- SOUZA, A. C. F. et al. Arsenic aggravates oxidative stress causing hepatic alterations and inflammation in diabetic rats. **Life sciences**, v. 209, p. 472–480, 15 set. 2018.
- STALLINGS, J. R. Small mammal inventories in a eastern Brazilian Park. **Bulletin of the Florida State Museum Biological Sciences**, v. 34, n. 4, p. 153–200, 1988.
- STOTZ, D. F. et al. **Neotropical birds: ecology and conservation**. 1st ed. ed. Chicago, Ill.: University of Chicago Press, 1996.
- TELINO-JÚNIOR, W. R. et al. Estrutura trófica da avifauna na Reserva Estadual de Gurjaú, Zona da Mata Sul, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 4, p. 962–973, dez. 2005.
- TUOMISTO, H. A consistent terminology for quantifying species diversity? Yes, it does exist. **Oecologia**, v. 164, n. 4, p. 853–60, dez. 2010.
- VON MATTER, S. et al. **Ornitologia e conservação : ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Technical Books Editora, 2010.
- WHITTAKER, R. H. Evolution and measurement of species diversity. **Taxon**, v. 21, n. 2, p. 213–251, 1972.
- WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic**

Reference. Disponível em: <<http://www.bucknell.edu/msw3/>>. Acesso em: 2 jul. 2011.

ANEXO I – CRONOGRAMAS

Quadro 9. Cronograma executivo para a atividade de desmontagem da infraestrutura RAPELD usada na primeira fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 10. Cronograma executivo para a atividade de vistoria e montagem da nova infraestrutura de campo a ser usada na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 11. Cronograma executivo para as atividades do grupo de abelhas (pergunta 5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 12. Cronograma executivo para as atividades do grupo de besouros (pergunta 5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 13. Cronograma executivo para as atividades do grupo de odonata (pergunta5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 14. Cronograma executivo para as atividades do grupo de borboletas (pergunta5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 15. Cronograma executivo para as atividades do grupo de formigas (pergunta5) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 16. Cronograma executivo para as atividades do grupo de abelhas (perguntas 13 e 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 17. Cronograma executivo para as atividades do grupo de besouros (perguntas 13 e 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 18. Cronograma executivo para as atividades do grupo de borboletas (perguntas 13 e 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 19. Cronograma executivo para as atividades do grupo de formigas (perguntas 13 e 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 20. Cronograma executivo para as atividades do grupo de borboletas (pergunta 16) a serem usadas na próxima fase do estudo Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..

Quadro 21. Cronograma executivo para as atividades do grupo de aves (pergunta 16) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

- Quadro 22.** Cronograma executivo para as atividades do grupo de pequenos mamíferos não voadores (pergunta 3) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..
- Quadro 23.** Cronograma executivo para as atividades do grupo de morcegos (pergunta 16; redes-neblina) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..
- Quadro 24.** Cronograma executivo para as atividades do grupo de morcegos (pergunta 16; experimento de germinação) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..
- Quadro 25.** Cronograma executivo para as atividades do grupo da herpetofauna (pergunta 3 e 14, experimento de lagos) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..
- Quadro 26.** Cronograma executivo para as atividades do grupo da herpetofauna (pergunta 14, experimento de riachos) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..
- Quadro 27.** Cronograma executivo para as atividades do grupo de quelônios (pergunta 7) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..
- Quadro 28.** Cronograma executivo para as atividades do grupo da herpetofauna (pergunta 14) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..
- Quadro 29.** Cronograma executivo para as atividades do grupo da avifauna (pergunta 9) a serem usadas na próxima fase do estudo Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce..
- Quadro 30.** Cronograma executivo para as atividades do grupo da avifauna (pergunta 15) a serem usadas na próxima fase do estudo de Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

ANEXO II – CARTA DE ACEITE DAS INSTITUIÇÕES DEPOSITÁRIAS

ANEXO III – DOCUMENTAÇÃO DA EQUIPE TÉCNICA