



FUNDAÇÃO
renova

PLANO DE TRABALHO

Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre

Fevereiro/2022

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. Introdução | 6 |
| 2. Objetivos | 8 |
| 2.1. Objetivo Principal | 8 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 8 |
| 3. Dados das empresas de consultoria executoras | 10 |
| 4. Dados da contratante | 11 |
| 5. Área de estudo | 11 |
| 5.1. Malha amostral | 12 |
| 6. Métodos de amostragem | 23 |
| 6.1. Flora, Solo e Ecologia da Paisagem | 23 |
| 6.1.1. Pergunta 1 – Qual a magnitude, abrangência espacial e temporal dos impactos decorrentes da presença de contaminantes sobre a flora terrestre da bacia do rio Doce? | 23 |
| 6.1.1.1. Coleta, armazenamento e envio de amostras de solo | 24 |
| 6.1.1.2. Análises laboratoriais de amostras de solo | 25 |
| 6.1.1.3. Coleta, armazenamento e envio de amostras de tecidos vegetais | 28 |
| 6.1.1.4. Análises laboratoriais de tecidos vegetais | 29 |
| 6.1.1.5. Seleção das espécies | 30 |
| 6.1.2. Pergunta 2 - Quais concentrações de contaminantes na vegetação poderiam ser consideradas como vetores de impacto biológico (danos)? | 31 |
| 6.1.3. Pergunta 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? | 33 |
| 6.1.3.1. Marcação de plantas, fitossociologia e funções ecossistêmicas | 34 |
| 6.1.3.2. Coleta de material botânico e identificação das plantas | 36 |
| 6.1.3.3. Coleta, armazenamento, triagem e fornecimento de dados | 38 |
| 6.1.4. Pergunta 11¹ - É possível detectar uma mudança ambientalmente positiva na estrutura e composição da paisagem natural na bacia do rio Doce ao longo do tempo? | 39 |

| | |
|--|----|
| 6.1.5. Pergunta 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? | 39 |
| 6.1.6. Ajustes necessário na metodologia proposta para flora e solos | 40 |
| 6.2. Insetos..... | 46 |
| 6.2.1. 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? | 46 |
| 6.2.1.1. Análise de contaminantes | 47 |
| 6.2.2. 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? | 48 |
| 6.2.3. Pergunta 13 - 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? | 51 |
| 6.2.4. 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? 53 | |
| 6.2.4.1. Herbivoria por insetos | 53 |
| 6.2.4.2. Predação de lagartas artificiais por artrópodes e vertebrados..... | 55 |
| 6.2.4.3. Remoção de sementes por formigas (Formicidae) e besouros escarabaeíneos (Coleoptera, Scarabaeinae) | 55 |
| 6.2.4.4. Visitantes florais (insetos)..... | 56 |
| 6.3. Mastofauna terrestre | 57 |
| 6.3.1. 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? | 57 |
| 6.3.2. 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? . | 59 |
| 6.4. Mastofauna voadora (morcegos) | 59 |
| 6.4.1. 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? 59 | |

| | | |
|----------|---|----|
| 6.4.1.1. | Dispersão de sementes por morcegos | 59 |
| 6.5. | Herpetofauna..... | 61 |
| 6.5.1. | 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? | 61 |
| 6.5.1.1. | Contaminação, malformações e desvios de simetria em girinos | 61 |
| 6.5.1.2. | Contaminação de rejeitos em répteis e anfíbios | 63 |
| 6.5.2. | Pergunta 6 - Áreas diretamente afetadas pelo rejeito apresentam menor abundância do cágado-de-barbichas (<i>Phrynops 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?..... | 64 |
| 6.5.3. | 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? . | 64 |
| 6.5.4. | 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?..... | 66 |
| 6.6. | Avifauna..... | 67 |
| 6.6.1. | 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?..... | 67 |
| 6.6.2. | 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?..... | 68 |
| 6.6.3. | 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? | 68 |
| 6.6.4. | 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? | 69 |
| 6.6.4.1. | Visitantes florais (aves)..... | 69 |
| 6.6.4.2. | Dispersão de sementes por aves | 69 |
| 7. | Análise de dados..... | 70 |
| 7.1. | Análise de dados de flora e solos..... | 70 |

| | |
|---|----|
| 7.2. Análises para levantamento da suficiência amostral e riqueza de espécies da fauna | 74 |
| 7.3. Métrica de composição de espécies da fauna..... | 74 |
| 7.4. Status Populacional e Endemismo das espécies da fauna..... | 75 |
| 7.5. Coleta, eutanásia e depósito de espécimes da fauna coletados..... | 76 |
| 7.6. 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..... | 77 |
| 7.7. 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. | 78 |
| 7.8. Dados secundários..... | 78 |
| 8. Cronograma da campanha..... | 79 |
| 9. Equipe técnica da Fundação Renova | 81 |
| 10. Equipe técnica responsável pela execução - Contratada | 82 |
| 10.1. Equipe de flora e solos | 82 |
| 10.2. Equipe de fauna..... | 84 |
| 11. Referências Bibliográficas..... | 88 |
| 11.1. Geral..... | 88 |
| 11.2. Flora e solos | 88 |
| 11.3. Fauna..... | 89 |

ANEXOS

Anexo 1- Mapa dos sítios de amostragem

Anexo 2- Cronograma detalhado

Anexo 3- Autorizações de fauna e flora

Anexo 4- Autorizações dos proprietários

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, e a 3ª campanha de monitoramento de flora ocorreu nos meses de janeiro e março de 2020 amparada pela autorização 73203-1 do SISBIO/ICMBio, 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 atualização do Plano de Trabalho de Fauna protocolado em 02/08/2021 por meio do ofício FR.2021.1159-1.

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:


- 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 das empresas de consultoria executoras

| EMPRESA RESPONSÁVEL PELOS ESTUDOS TÉCNICOS DE FAUNA (2021/2022) | | |
|---|---|---|
| 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 | |

| EMPRESA RESPONSÁVEL PELOS ESTUDOS TÉCNICOS DE FLORA (2021/2022) | | |
|---|--|---|
| Razão Social | Ello Ambiental Consultoria Ltda |  |
| Endereço | Avenida Getúlio Vargas, nº 500, sala 701 - Centro, Colatina/ES | |
| | CEP: 29700-010 | |
| Telefone | (27) 3722-3270 | |
| Inscrição Estadual | 083233792 | |
| CNPJ | 09.024.976/0001-79 | |
| Responsável Técnico | Eduardo Hoffmam de Barros | |
| | Biólogo MSc. CRBio 42493/2-D | |
| E-mail | eduardohbarros@elloambiental.com.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 (ver mapas no **Anexo 1**). No ES as amostragens se concentrarão nas ilhas fluviais e restingas próximas a foz do rio Doce (**Anexo 1**).

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).

5.1. Malha amostral

A definição da malha amostral foi definida no novo Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre (EKOS BRASIL, 2020). No entanto, após alinhamentos internos com as equipes executoras dos Programas de Restauo Florestal, **foi necessário readequar o desenho amostral previsto no documento original. Especialmente porque os programas de restauração ativa ocorrem em APP e não há áreas de restauração prevista para além do buffer de 300m, não permitindo assim, a alocação de sítios amostrais em três escalas de distância como previsto inicialmente. Uma reunião entre os pesquisadores do Instituto Ekos e responsáveis pela elaboração da proposta metodológica foi realizada em 20/08/2021, onde foi apresentada a questão e os mesmos ressaltaram que o programa está premissado no andamento das ações de restauração e na realidade da distribuição dos fragmentos e áreas de restauração no território e que ajustes da malha amostral poderiam ser realizados após vistorias de campo. Desta menira, ficou definido o melhor desenho amostral possível para o Programa, coforme descrito a seguir :**

Para as perguntas que envolvem o tema 1 (impactos crônicos e persistentes da contaminação pelos rejeitos) as amostragens serão realizadas em:

- 20 sítios de amostragem em Fragmentos Alvo (FA) – Fragmentos florestais, ou parte destes, que originalmente foram direta ou indiretamente atingidos e estiveram ou estão em contato com o rejeito e como áreas intermediárias dentro de um buffer de 300m em relação à ADA.

- 20 sítios de amostragem em Fragmentos de Referência (FR) – Fragmentos florestais em condições ambientais similares às áreas alvo, que representam o histórico da região, mas que não foram impactados diretamente pelo rejeito e que estão fora da área de influência direta do rejeito e das ações da Fundação Renova, fora do buffer de 500 m em relação à ADA.
- 06 sítios amostrais em áreas com fitofisionomia de restinga, sendo três restingas ao norte da foz do rio Doce e três ao sul.
- 05 ilhas fluviais próximo a foz do rio Doce.
- 03 fragmentos florestais de referência para as ilhas, próximos a foz, no entanto distante do leito do rio Doce.
- 20 sítios amostrais em áreas que receberam restauração ativa;
- 20 sítios amostrais em áreas de restauração passiva.

Já para as perguntas que envolvem o tema 2 e 3, que são aquelas que buscam monitorar como as comunidades de fauna e flora estão respondendo as condições de melhoria serão utilizados os seguintes sítios amostrais:

- 20 sítios de restauração ativa dentro do buffer de 300m e sobre a faixa que recebeu rejeito;
- 20 sítios de restauração passiva dentro do buffer de 300m e sobre a faixa que recebeu rejeito;
- 10 trechos de riachos em ADA que estão em restauração espontânea (exclusivamente anfíbios);
- 10 trechos de riachos na ADA com margens recuperadas por intervenções artificiais (idealmente com enrocamento) (exclusivamente anfíbios);
- 10 trechos de riachos não afetados, localizados a mais de 500 metros da ADA em meio a fragmentos florestais (referência) (exclusivamente anfíbios);
- 10 trechos de lagoas ou brejos na ADA que estão em restauração espontânea (exclusivamente anfíbios);
- 10 trechos de lagoas ou brejos na bacia do Gualaxo do Norte, mas fora de um buffer de 500 m da ADA (exclusivamente anfíbios);
- 10 trechos de lagoas ou brejos na sub-bacia do Piracicaba, próximas à calha do rio Piracicaba (exclusivamente anfíbios).

Destaca-se que a campanha de vistoria dos sítios amostrais, seleção *in locu*, coleta de autorização dos proprietários e instalação dos mesmos iniciou-se em setembro de 2021 e segue em avanço para os sítios amostrais do Espírito Santo. De forma síncrona, as campanhas

de amostragem dos grupos de fauna, flora e solo iniciaram as amostragens em janeiro, conforme cronograma apresentado no **Anexo 2**.

Para as campanhas de amostragem de fauna em andamento as ABios já foram emitidas e algumas estão em processo de retificação (ABIOs nº 2, 3, 4, e 5 de 2021 e ABIOs nº 1, 2, 3, 4, 5 e 6 de 2022, **Anexo 3**). Para amostragem de flora, a autorização foi emitida pelo SISBIO nº 73203-2 (**Anexo 3**).

O **Quadro 1** apresenta a localização dos sítios amostrais e o status da instalação. Para aqueles sítios amostrais com instalação das trilhas e armadilhas as autorizações dos proprietários constam no **Anexo 4**.

Quadro 1 – Localização geográfica dos sítios de amostragem por categoria, status da vistoria e instalação em 10/02/2021 e nome dos proprietários do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

Legenda: *Status:* **completo:** quando existe autorização do proprietário e a instalação já foi realizada; **autorizado:** quando já existe autorização formal do proprietário, mas ainda não houve vistoria ou instalação; **inacessível:** o sítio amostral não será utilizado devido a dificuldades de acesso detectado durante a vistoria; **inadequado:** o sítio amostral foi descartado, devido a declividade e acessibilidade do terreno; **pendente:** ainda não tem autorização do proprietário ou não foram instalados os transectos e parcelas; **não autorizado:** proprietário não permitiu o acesso ou não quis assinar o termo. *As autorizações dos proprietários constam no **Anexo 2**.

| Categoria | Tratamento | Código | Status | Lat | long | Altitude | Fuso | UF | Proprietário |
|-----------|------------|--------|----------------|--------|---------|----------|------|----|-------------------------------------|
| Fragmento | Alvo | PFA01 | inacessível | 661486 | 7763619 | 808 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Fragmento | Alvo | PFA02 | pendente | 663350 | 7762208 | 816 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Fragmento | Alvo | PFA03 | inacessível | 663491 | 7760555 | 769 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Fragmento | Alvo | PFA04 | pendente | 666197 | 7761545 | 773 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Fragmento | Alvo | PFA05 | inacessível | 668652 | 7761627 | 693 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Fragmento | Alvo | PFA06 | completo | 671606 | 7758909 | 680 | 23K | MG | SIDERURGIA ITABIRITO - VDL |
| Fragmento | Alvo | PFA07 | completo | 674672 | 7757681 | 650 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Fragmento | Alvo | PFA08 | completo | 677471 | 7758135 | 627 | 23K | MG | Márcio de Souza |
| Fragmento | Alvo | PFA09 | completo | 678344 | 7757124 | 649 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Fragmento | Alvo | PFA10 | completo | 680609 | 7755653 | 623 | 23K | MG | João Bosco de Oliveira |
| Fragmento | Alvo | PFA11 | não autorizado | 682928 | 7754066 | 591 | 23K | MG | Sebastião Celestino Arcanjo |
| Fragmento | Alvo | PFA12 | completo | 685352 | 7753698 | 558 | 23K | MG | Constância Sales / Ivaldil de Sousa |
| Fragmento | Alvo | PFA13 | completo | 685681 | 7753388 | 594 | 23K | MG | Waldir Pollack |
| Fragmento | Alvo | PFA14 | não autorizado | 688496 | 7754885 | 534 | 23K | MG | VERA REGINA CERCEAU |
| Fragmento | Alvo | PFA15 | completo | 688232 | 7757421 | 539 | 23K | MG | CARLOS LEAL BARBOSA |
| Fragmento | Alvo | PFA16 | inadequado | 690759 | 7757824 | 464 | 23K | MG | JULIO ANTONIO GOMES BARBOSA |
| Fragmento | Alvo | PFA17 | completo | 699267 | 7757705 | 441 | 23K | MG | MAURÍCIO MACHADO- AMBIÊNCIA |
| Fragmento | Alvo | PFA18 | completo | 700608 | 7755954 | 422 | 23K | MG | SANDRA CRISTINA MARTINS CARNEIRO |
| Fragmento | Alvo | PFA19 | completo | 693987 | 7757493 | 457 | 23K | MG | ZILMAR MARCELO COTA |

| Categoria | Tratamento | Código | Status | Lat | long | Altitude | Fuso | UF | Proprietário |
|------------------|-------------------|---------------|----------------|------------|-------------|-----------------|-------------|-----------|--|
| Fragmento | Alvo | PFA20 | inadequado | 709077 | 7756747 | 503 | 23K | MG | LISCIO JOSE DE OLIVEIRA CARNEIRO |
| Fragmento | Alvo | PFA21 | inacessível | 710031 | 7758578 | 390 | 23K | MG | AMAURI FERREIRA LANA |
| Fragmento | Alvo | PFA22 | inadequado | 711926 | 7757210 | 433 | 23K | MG | ESPEDITO JUVENTINO TENORIO |
| Fragmento | Alvo | PFA23 | pendente | 714170 | 7756694 | 414 | 23K | MG | AMELIA TRINDADE PAZINI |
| Fragmento | Alvo | PFA24 | não autorizado | 717648 | 7758056 | 428 | 23K | MG | GABRIEL DE ARAUJO MOTTA |
| Fragmento | Alvo | PFA25 | completo | 721397 | 7761549 | 476 | 23K | MG | FERNANDO ANTONIO PEREIRA DA SILVA |
| Fragmento | Alvo | PFA26 | completo | 721674 | 7763578 | 394 | 23K | MG | SEBASTIAO SALVADOR REAL PEREIRA |
| Fragmento | Controle | FFR27 | pendente | 659167 | 7761996 | 869 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Fragmento | Controle | FFR28 | completo | 658549 | 7758007 | 791 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Fragmento | Controle | FFR29 | completo | 664470 | 7757795 | 797 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Fragmento | Controle | FFR30 | completo | 666776 | 7763687 | 841 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Fragmento | Controle | FFR31 | completo | 669391 | 7763595 | 810 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Fragmento | Controle | FFR32 | completo | 670147 | 7756944 | 794 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Fragmento | Controle | FFR33 | completo | 675635 | 7755464 | 750 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Fragmento | Controle | FFR34 | completo | 680170 | 7758372 | 693 | 23K | MG | ABRAHAM LINCOLN BELCHIOR NASCIMENTO VICTOR SILVA |
| Fragmento | Controle | FFR35 | completo | 680810 | 7757054 | 695 | 23K | MG | JOEL BRUM DA SILVEIRA |
| Fragmento | Controle | FFR36 | completo | 682214 | 7755524 | 654 | 23K | MG | IMACULADA DA CONCEICAO PEREIRA TAVARES |
| Fragmento | Controle | FFR37 | completo | 682561 | 7750544 | 700 | 23K | MG | V.D.L.SIDERURGIA LTDA SIDERURGIA |
| Fragmento | Controle | FFR38 | completo | 685057 | 7752443 | 665 | 23K | MG | JOSÉ LINS CERCEAU |
| Fragmento | Controle | FFR39 | completo | 679034 | 7753516 | 744 | 23K | MG | CELSO COTA NETO |
| Fragmento | Controle | FFR40 | não autorizado | 688568 | 7753563 | 709 | 23K | MG | VERA REGINA CERCEAU |
| Fragmento | Controle | FFR41 | completo | 687225 | 7759118 | 599 | 23K | MG | José de Oliveira Miranda |
| Fragmento | Controle | FFR42 | não autorizado | 691801 | 7758433 | 747 | 23K | MG | não identificado |
| Fragmento | Controle | FFR43 | completo | 698048 | 7757031 | 558 | 23K | MG | MAURÍCIO MACHADO- AMBIÊNCIA |
| Fragmento | Controle | FFR44 | inadequado | 700921 | 7757065 | 597 | 23K | MG | MAURÍCIO MACHADO- AMBIÊNCIA / ANTONIO VALLE |

| Categoria | Tratamento | Código | Status | Lat | long | Altitude | Fuso | UF | Proprietário |
|-------------|------------|----------|----------------|--------|---------|----------|------|----|---|
| Fragmento | Controle | FFR45 | completo | 704721 | 7757224 | 545 | 23K | MG | MARCIO JOSE GOMES MOL |
| Fragmento | Controle | FFR46 | completo | 709572 | 7753534 | 544 | 23K | MG | José Paulo Albergaria/ Flávio José Albergaria |
| Fragmento | Controle | FFR47 | inadequado | 712648 | 7758136 | 680 | 23K | MG | MARIA AUXILIADORA BARRETO |
| Fragmento | Controle | FFR48 | pendente | 714501 | 7753921 | 530 | 23K | MG | Luiz Gustavo Rosa Pizani |
| Fragmento | Controle | FFR49 | inadequado | 716592 | 7758250 | 553 | 23K | MG | Sebastião Salvador Pereira |
| Fragmento | Controle | FFR50 | completo | 719019 | 7762776 | 625 | 23K | MG | PAULO CICERO PEREIRA DE FREITAS |
| Fragmento | Controle | FFR51 | inadequado | 724797 | 7762497 | 656 | 23K | MG | Maria Maura Linhares de Carvalho |
| Fragmento | Controle | FFR52 | não autorizado | 723720 | 7760925 | 506 | 23K | MG | não identificado |
| Fragmento | Controle | FFRLit_1 | pendente | 385380 | 7847154 | 32 | 24K | ES | Leila Nazaré Paiva/ Wilson Paiva |
| Fragmento | Controle | FFRLit_2 | pendente | 399022 | 7849725 | 34 | 24K | ES | Deuzimar Luiz Belizário |
| Fragmento | Controle | FFRLit_3 | pendente | 400283 | 7851697 | 17 | 24K | ES | Júlio Pires Batista / Raimundo Coelho Xavier |
| Ilha | Alvo | I_1 | pendente | 415095 | 7834461 | 8 | 24K | ES | Juvenilton Penha da Silva |
| Ilha | Alvo | I_2 | pendente | 416006 | 7834029 | 5 | 24K | ES | Tiago Monteiro de Sena |
| Ilha | Alvo | I_3 | pendente | 414423 | 7836663 | 8 | 24K | ES | Jailton Corrêa |
| Ilha | Alvo | I_4 | pendente | 403482 | 7847381 | 34 | 24K | ES | por identificar |
| Ilha | Alvo | I_5 | pendente | 400335 | 7850141 | 26 | 24K | ES | Josefá dos Passos |
| Fragmento | Restinga | R4 | pendente | 422123 | 7903558 | 7 | 24K | ES | por identificar |
| Fragmento | Restinga | R5 | pendente | 425385 | 7877966 | 7 | 24K | ES | por identificar |
| Fragmento | Restinga | R6 | pendente | 422598 | 7845937 | 6 | 24K | ES | por identificar |
| Fragmento | Restinga | R7 | pendente | 409216 | 7826105 | 7 | 24K | ES | FLONA Goytacazes |
| Fragmento | Restinga | R8 | pendente | 401920 | 7822273 | 15 | 24K | ES | REBIO Comboios |
| Fragmento | Restinga | R9 | pendente | 384783 | 7797055 | 3 | 24K | ES | por identificar |
| Restauração | Passivo | RN01 | pendente | 674505 | 7757301 | 592 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Restauração | Passivo | RN02 | pendente | 663787 | 7761742 | 721 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Restauração | Passivo | RN03 | completo | 663816 | 7760320 | 734 | 23K | MG | VALE S.A. |

| Categoria | Tratamento | Código | Status | Lat | long | Altitude | Fuso | UF | Proprietário |
|-----------|------------|--------|----------|--------|---------|----------|------|----|--------------------------------|
| Restauro | Passivo | RN04 | completo | 664522 | 7760647 | 715 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Passivo | RN05 | completo | 665182 | 7760834 | 715 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Passivo | RN06 | completo | 665499 | 7760550 | 711 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Passivo | RN07 | completo | 671544 | 7759259 | 626 | 23K | MG | LUIZ GONÇALVES LESSA JUNIOR |
| Restauro | Passivo | RN08 | completo | 676287 | 7757560 | 590 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Restauro | Passivo | RN09 | completo | 670791 | 7759019 | 660 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Passivo | RN10 | completo | 674761 | 7759614 | 598 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Restauro | Passivo | RN11 | completo | 672297 | 7760218 | 623 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Restauro | Passivo | RN12 | completo | 677995 | 7757318 | 574 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Restauro | Passivo | RN13 | completo | 677958 | 7757642 | 573 | 23K | MG | MAURO LUCIO SANTOS PAIS PINTO |
| Restauro | Passivo | RN14 | completo | 685312 | 7753534 | 530 | 23K | MG | ROMEU FELIX |
| Restauro | Passivo | RN15 | pendente | - | - | - | 23K | MG | - |
| Restauro | Passivo | RN16 | completo | 678897 | 7756028 | 564 | 23K | MG | MARIA GERALDA DAMASIO CRISTINO |
| Restauro | Passivo | RN17 | completo | 677924 | 7758275 | 582 | 23K | MG | MARCIO DE SOUZA |
| Restauro | Passivo | RN18 | completo | 663949 | 7760309 | 728 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Passivo | RN19 | completo | 678134 | 7757242 | 591 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Restauro | Passivo | RN20 | completo | 664262 | 7762227 | 724 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Restauro | Ativo | RR01 | completo | 664330 | 7760726 | 713 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR02 | completo | 664343 | 7760397 | 714 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR03 | completo | 669615 | 7759965 | 674 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR04 | completo | 665110 | 7761108 | 704 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR05 | completo | 665625 | 7759667 | 705 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR06 | completo | 677621 | 7757965 | 572 | 23K | MG | MARCIO DE SOUZA |
| Restauro | Ativo | RR07 | completo | 669671 | 7759772 | 664 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR08 | pendente | 666634 | 7760898 | 700 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |

| Categoria | Tratamento | Código | Status | Lat | long | Altitude | Fuso | UF | Proprietário |
|------------------|---------------------|---------------|----------------|------------|-------------|-----------------|-------------|-----------|--|
| Restauro | Ativo | RR09 | completo | 669956 | 7759738 | 662 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR10 | completo | 670752 | 7759347 | 658 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR11 | completo | 671067 | 7759016 | 656 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Restauro | Ativo | RR12 | completo | 669472 | 7760341 | 672 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Restauro | Ativo | RR13 | completo | 674113 | 7761152 | 603 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Restauro | Ativo | RR14 | completo | 674785 | 7760206 | 597 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Restauro | Ativo | RR15 | completo | 674824 | 7759838 | 590 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Restauro | Ativo | RR16 | completo | 675640 | 7757399 | 579 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Restauro | Ativo | RR17 | completo | 674962 | 7760749 | 603 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Restauro | Ativo | RR18 | pendente | - | - | - | 23K | MG | - |
| Restauro | Ativo | RR19 | completo | 679710 | 7755081 | 551 | 23K | MG | CELSO COTA NETO |
| Restauro | Ativo | RR20 | completo | 675885 | 7757468 | 577 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Restauro | Ativo | RR21 | pendente | 666329 | 7761263 | 708 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES01 | autorizado | 670656 | 7759597 | 657 | 23K | MG | WALTER GERALDO DE PAULA / SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES02 | autorizado | 673572 | 7761034 | 596 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES03 | autorizado | 674238 | 7759438 | 599 | 23K | MG | SIDERURGIA ITABIRITO - VDL |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES04 | autorizado | 674659 | 7757301 | 591 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES05 | autorizado | 676118 | 7757644 | 584 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES06 | não autorizado | 677811 | 7757255 | 567 | 23K | MG | MARIA DAS GRACAS ARANTES |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES07 | autorizado | 678897 | 7756028 | 563 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES08 | autorizado | 682024 | 7754814 | 555 | 23K | MG | SIDNEI JOSE MOL |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES09 | autorizado | 684001 | 7754674 | 539 | 23K | MG | DAN MOL PEIXOTO |
| Lagoas | Restauro espontâneo | LRES10 | autorizado | 685307 | 7753490 | 535 | 23K | MG | ROMEU FELIX |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG11 | autorizado | 667198 | 7763770 | 822 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG12 | autorizado | 667163 | 7755431 | 776 | 23K | MG | Alvaro Antônio Santos Pais Pinto |

| Categoria | Tratamento | Código | Status | Lat | long | Altitude | Fuso | UF | Proprietário |
|------------------|------------------------|---------------|---------------|------------|-------------|-----------------|-------------|-----------|---|
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG13 | autorizado | 669640 | 7758955 | 698 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG14 | autorizado | 673631 | 7754899 | 676 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG15 | autorizado | 677599 | 7758828 | 601 | 23K | MG | MARCIO DE SOUZA |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG16 | autorizado | 682534 | 7757337 | 676 | 23K | MG | Altair Marchetti Junior |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG17 | autorizado | 679709 | 7754195 | 609 | 23K | MG | CELSO COTA NETO |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG18 | autorizado | 683128 | 7756937 | 676 | 23K | MG | Márcio Antônio Almeida Silva |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG19 | autorizado | 682556 | 7752735 | 607 | 23K | MG | FUNDACAO RENOVA |
| Lagoas | Referência Gualaxo | LRFG20 | autorizado | 686033 | 7751417 | 724 | 23K | MG | ANTÔNIO CERCEAU CARNEIRO |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP21 | autorizado | 667758 | 7765688 | 814 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP22 | autorizado | 669398 | 7765394 | 800 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP23 | autorizado | 669903 | 7765439 | 794 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP24 | autorizado | 673218 | 7766029 | 751 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP25 | pendente | 678588 | 7769464 | 716 | 23K | MG | por identificar |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP26 | autorizado | 677869 | 7771114 | 703 | 23K | MG | José Fidelis Pereira |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP27 | autorizado | 679523 | 7784153 | 662 | 23K | MG | JUVENAL AUGUSTO DE MELO |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP28 | autorizado | 680882 | 7786597 | 650 | 23K | MG | Cleris Arcanjo Braga |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP29 | autorizado | 686529 | 7790024 | 634 | 23K | MG | IVALDO DA CONSOLAÇÃO CALDEIRA |
| Lagoas | Referência Piracicaba | LRFP30 | pendente | 688461 | 7791582 | 651 | 23K | MG | LEVI PAULA BRAGA |
| Riachos | Restauração espontâneo | RRE01 | autorizado | 689206 | 7757623 | 515 | 23K | MG | CARLOS LEAL BARBOSA |
| Riachos | Restauração espontâneo | RRE02 | autorizado | 695463 | 7757985 | 423 | 23K | MG | AMBIENCIA AGROPECUARIA SUSTENTAVEL LTDA |
| Riachos | Restauração espontâneo | RRE04 | autorizado | 674823 | 7760491 | 614 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Riachos | Restauração espontâneo | RRE05 | autorizado | 673956 | 7760308 | 596 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Riachos | Restauração espontâneo | RRE06 | autorizado | 663772 | 7760400 | 734 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Riachos | Restauração espontâneo | RRE08 | autorizado | 674992 | 7760111 | 604 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |
| Riachos | Restauração espontâneo | RRE09 | autorizado | 672993 | 7761318 | 602 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |

| Categoria | Tratamento | Código | Status | Lat | long | Altitude | Fuso | UF | Proprietário |
|------------------|---------------------------------|---------------|---------------|------------|-------------|-----------------|-------------|-----------|--|
| Riachos | Restauro espontâneo | RRE10 | autorizado | 665125 | 7762237 | 719 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Riachos | Restauro espontâneo | RRE13 | autorizado | 666249 | 7761332 | 712 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Riachos | Restauro espontâneo | RRE15 | autorizado | 676937 | 7758380 | 588 | 23K | MG | CRISTINA GERALDA SOUZA / ESPERANÇA S/A |
| Riachos | Restauro espontâneo | RRE16 | autorizado | 678855 | 7755937 | 571 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC22 | autorizado | 669638 | 7759762 | 668 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC25 | autorizado | 664495 | 7758508 | 710 | 23K | MG | TRANSPORTADORA SOBREIRA LTDA (SILVIO PEDRO SOBREIRA) |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC26 | autorizado | 677687 | 7758089 | 576 | 23K | MG | MARCIO DE SOUZA |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC27 | autorizado | 669339 | 7760105 | 669 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC30 | autorizado | 683690 | 7753838 | 541 | 23K | MG | JOSE COELHO DE FARIA |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC31 | autorizado | 684251 | 7754636 | 537 | 23K | MG | IVALDIL DE SOUZA |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC33 | autorizado | 687886 | 7754146 | 522 | 23K | MG | MARCIO AMERRI RAMOS / EMERCIO JOSE BERNARDES |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC62 | pendente | 684855 | 7754009 | 543 | 23K | MG | COR JESUS MOL |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC63 | pendente | 682172 | 7755135 | 554 | 23K | MG | JOSE ARCENIO TAVARES, MARIA HELENA PEREIRA TAVARES |
| Riachos | Recuperação de calhas e margens | RRC64 | pendente | 681344 | 7755247 | 545 | 23K | MG | JOAO ISAIAS DE OLIVEIRA / TEREZA TETTE DA SILVA |
| Riachos | Referência | RRF38 | autorizado | 688556 | 7758162 | 532 | 23K | MG | Dalva Maria da Silva, Jairo Anatolio dos Santos |
| Riachos | Referência | RRF39 | autorizado | 688289 | 7757956 | 533 | 23K | MG | CARLOS LEAL BARBOSA |
| Riachos | Referência | RRF40 | autorizado | 660017 | 7756982 | 742 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Riachos | Referência | RRF42 | autorizado | 662455 | 7759686 | 779 | 23K | MG | VALE S.A. |
| Riachos | Referência | RRF44 | autorizado | 658926 | 7760804 | 779 | 23K | MG | SAMARCO MINERAÇÃO S.A. |
| Riachos | Referência | RRF46 | autorizado | 676037 | 7756594 | 661 | 23K | MG | ESPERANCA S/A |
| Riachos | Referência | RRF49 | autorizado | 671586 | 7761492 | 667 | 23K | MG | SANTA GOBAIN CANALIZAADO LTDA |

| Categoria | Tratamento | Código | <i>Status</i> | Lat | long | Altitude | Fuso | UF | Proprietário |
|------------------|-------------------|---------------|---------------|------------|-------------|-----------------|-------------|-----------|---|
| Riachos | Referência | RRF50 | autorizado | 673685 | 7757933 | 729 | 23K | MG | SIDERURGIA ITABIRITO - VDL |
| Riachos | Referência | RRF56 | autorizado | 693873 | 7755856 | 488 | 23K | MG | AMBIENCIA AGROPECUARIA SUSTENTAVEL LTDA |
| Riachos | Referência | RRF59 | autorizado | 681730 | 7760005 | 587 | 23K | MG | CENIBRA |

6. Métodos de amostragem

O programa de monitoramento está todo detalhado no documento emitido pelo grupo de especialistas da EKOS Brasil (EKOS BRASIL, 2020). A seguir, os métodos de amostragem, estão apresentados por grupo de fauna e flora de forma a dar maior clareza da metodologia e esforço amostral que serão executados.

6.1. Flora, Solo e Ecologia da Paisagem

6.1.1. Pergunta 1 – Qual a magnitude, abrangência espacial e temporal dos impactos decorrentes da presença de contaminantes sobre a flora terrestre da bacia do rio Doce?

A malha amostral é composta por 20 fragmentos alvo e 20 fragmentos de referência, no entorno do trecho do rio Doce compreendido entre as barragens de Fundão e Risoleta Neves (**Anexo 1**).

A unidade de amostragem dentro de cada fragmento é o conjunto de seis parcelas de 30m x 30m (900m²) distribuídas em dois transectos paralelos, um localizado na borda (onde ocorreu a deposição de rejeitos no caso dos fragmentos alvo) e outro no interior do fragmento. Cada transecto terá distância mínima de 100m do outro e conterá três parcelas, com distância mínima de 50m entre elas (**Figura 1**).

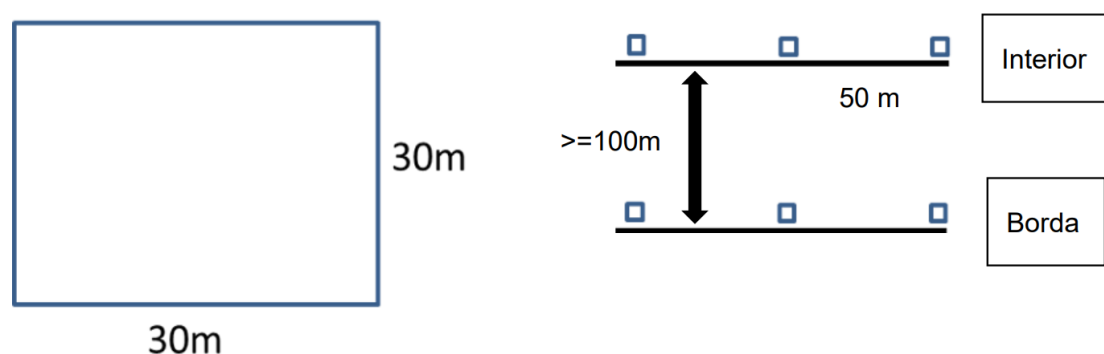


Figura 1 - Desenho amostral dos transectos com 3 parcelas permanentes cada de 30x30m, distantes 50m no transecto. O transecto na borda representa o limite entre a deposição de rejeito e a vegetação remanescente sem deposição de rejeito. O interior é a porção do fragmento sem deposição de rejeito.

6.1.1.1. Coleta, armazenamento e envio de amostras de solo

A coleta, identificação e armazenamento de amostras de solo, bem como a coleta de raízes finas e o teste de infiltração do solo, serão realizados por profissional habilitado, com formação superior em agronomia, engenharia florestal ou ambiental, que será o líder da equipe de coleta de solos.

Serão realizadas coletas de solo em cinco pontos em cada parcela de 30x30 m, sendo um central e os demais em cada ponto cardinal (N, S, W, E), evitando-se as bordas e áreas com pisoteio. Será feita tradagem única na profundidade de 0-20 cm na projeção da copa das árvores. O material utilizado para coleta será de aço inox (trado, espátula, faca e etc) e as amostras serão acondicionadas em vidros ou sacos plásticos devidamente identificados. Em cada parcela, será produzida uma amostra composta, resultante da homogeneização das amostras simples.

As amostras serão homogeneizadas em bandejas previamente limpas com HNO₃ em água (10% v/v) e enxaguadas com água deionizada. As luvas utilizadas para cada homogeneização serão descartadas imediatamente após o processo. Para a separação das frações, o solo será seco em estufa a 40 °C. As amostras serão peneiradas em peneiras com malha de 20 mm e de 2 mm. O material retido na peneira de 20 mm (calhaus) e na de 2 mm (cascalho) será colocado em cápsula de porcelana com água, mais 10 mL de NaOH 1 N, agitando com auxílio de um bastão várias vezes durante o dia e mantido por uma noite nesta solução. O material será acondicionado em sacos plásticos com etiquetas identificadoras das amostras e enviado para as análises físicoquímicas.

Dentro de cada parcela serão estabelecidos três pontos ao longo de sua diagonal (um no centro e um em cada vértice oposto) onde serão coletados dados referentes a funções ecossistêmicas. Por uma questão de praticidade e dinâmica de campo, a serrapilheira, bem como dados de madeira morta caída, serão coletados pelas equipes de fitossociologia, enquanto solo e raízes finas serão coletados pelas equipes de solos, uma vez que estas já estarão portando o material necessário.

Serão realizadas tradagens para a obtenção de duas amostras nas profundidades de 0-10 cm e de 10-20 cm em cada um dos três pontos, gerando uma amostra composta de cada profundidade, que serão acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados. Em seguida, será coletada uma amostra indeformada de solo em cada ponto, utilizando anel volumétrico de volume conhecido (100 cm³) na profundidade de 0-10 cm. Será feito o tolete e essas amostras serão acondicionadas em um único saco plástico identificado, após serem envoltas em plástico filme e plástico bolha. As amostras deverão ser identificadas. Nas

amostras indeformadas serão quantificados os parâmetros referentes ao comportamento físico-hídrico do solo.

A coleta de raiz fina será realizada em dois pontos da parcela, preferencialmente próximo aos pontos de coleta de amostras indeformadas de solo. Em cada ponto, será coletada com trado uma amostra de solo deformada na profundidade de 0-10 cm, a qual será acondicionada em saco plástico, no qual será anotada a identificação da amostra. As raízes finas serão coletadas através do método ponto-a-ponto, que consiste em remover todas as raízes com diâmetro ≤ 2 mm em 4 intervalos de tempo de 2 minutos, as quais serão então colocadas em sacos de papel, nos quais o intervalo da coleta (I, II, III e IV) será anotado. Depois de separadas do solo, as raízes serão lavadas, secas em estufa de circulação forçada a $\sim 40^{\circ}\text{C}$ por no mínimo 2 dias, até obter o peso seco constante, e pesadas em balança de precisão, mantendo-se a separação das amostras obtidas por intervalo de coleta e anotando-se os valores de forma independente. Caso as raízes não possam ser processadas após a separação, serão congeladas e armazenadas em freezer.

Considerando que as análises laboratoriais são um ponto crítico para a execução do trabalho em função do longo tempo requerido para o processamento de amostras e realização de testes, as amostras serão enviadas semanalmente aos laboratórios por uma equipe que terá especificamente essa função. O armazenamento temporário será realizado em base de apoio, localizada próxima às áreas de coleta de material.

6.1.1.2. Análises laboratoriais de amostras de solo

Após secagem à sombra, as amostras coletadas para caracterização geral dos solos serão peneiradas em malha de inox com 2 mm de abertura para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA) e armazenadas em sacos plásticos identificados com etiquetas de papel.

Todos os procedimentos a seguir serão realizados segundo o Manual de Métodos de Análise de Solos (TEIXEIRA *et al.*, 2017). Dentre as análises físicas a serem realizadas, a umidade do solo será definida pela diferença de peso da amostra após secagem em estufa a 105°C ; densidade de partículas (D_p) será definida pelo método do balão volumétrico; densidade aparente (D_s) pelo método do anel volumétrico (100 cm^3); porosidade total calculada a partir da relação entre D_s e D_p ; microporosidade definida após sucção com pressão de 6 kPa em mesa de tensão; macroporosidade definida após subtração da microporosidade do valor de porosidade total; as frações areia, silte e argila serão quantificadas por análise granulométrica após dispersão do solo com NaOH em agitação lenta, separação da areia em peneira de malha

0,053 mm, e quantificação da argila pelo método da pipeta (silte estimado por diferença); argila dispersa em água; e cálculo da relação silte/argila a partir dos resultados da análise granulométrica. Em relação às análises químicas de rotina, será definido o pH em água; o carbono orgânico total por via úmida após oxidação por dicromato de potássio; e nitrogênio total pelo método de digestão Kjeldahl. Também serão quantificados os teores extraíveis de ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), níquel (Ni), zinco (Zn), cromo (Cr), cádmio (Cd), chumbo (Pb), vanádio (V) e arsênio (As) por espectrometria de absorção atômica após extração com Mehlich-1 (HCl 0,05 mol.L⁻¹ + H₂SO₄ 0,0125 mol.L⁻¹).

A caracterização físico-hídrica do solo será feita através da condutividade hidráulica, teste de penetração, curva de retenção de água e teste de infiltração. A condutividade hidráulica será quantificada na amostra indeformada com auxílio de um permeâmetro, após sua saturação e aplicação de uma carga de água constante. Para estimar a capacidade de retenção de água do solo a amostra indeformada será colocada em Câmara Extratora de Richards, e serão aplicadas as tensões de sucção de 10 kPa, 30 kPa, 60 kPa, 100 kPa e 1500 kPa - sendo possível construir a curva de retenção de água de cada amostra e estimação da capacidade de campo, porosidade, ponto de saturação, água disponível e ponto de murcha permanente. No teste de penetração, a amostra indeformada será submetida a diferentes níveis de pressão com auxílio de um penetrômetro de bancada.

Por fim, o teste de infiltração será realizado em um ponto por parcela, alocada preferencialmente em seu centro, quando atender aos requisitos do método BEST (Beerkan Estimation of Soil Transfer) seguindo os seguintes passos:

- 1) Alocação do ponto: será selecionada uma superfície o mais plana possível para a alocação do ponto, evitando locais que são visualmente passagem de fluxos acumulados em eventos de chuva ou trilhas de gado;
- 2) Limpeza da área: todo o material acima da superfície do solo (serapilheira) será retirado com cuidado para não desestruturar o solo, sem puxar galhos e raízes. A vegetação rasteira e herbácea será cortada rente ao solo com o auxílio de uma tesoura de poda;
- 3) Inserção do anel: o anel será inserido no solo cerca de 1 cm abaixo da superfície (ou até que não seja permitido o vazamento de água nas laterais) com o auxílio da marreta de borracha, tomando-se o cuidado do anel não quicar no solo ao bater com a marreta.

- 4) Checagem: antes de começar o teste, será verificado se a planilha de anotação e o cronômetro estão em mãos. Encher os copos com 150 ml de água ou 75 ml (para a pastagens ou casos excepcionais de solo compactado);
- 5) Avaliação: será iniciado o cronômetro junto com o derramamento do primeiro copo de água. Quando virar o copo com água, deixar os dedos na borda do copo, formando uma “peneira”, para diminuir o impacto da água no solo. O segundo copo será virado imediatamente após o primeiro infiltrar totalmente no solo. Isso pode ser observado pelo brilho da superfície ou pequenas poças de água que se formam na microrrugosidade do solo. O terceiro copo será virado quando o segundo infiltrar completamente, e assim sucessivamente. O tempo no cronômetro será marcado de forma acumulativa a cada copo virado. Esse procedimento será repetido no mínimo 8 vezes e recomenda-se parar até que o tempo entre um copo e outro esteja estável, o que geralmente ocorre entre o 10º e o 15º copo.

Após secagem à sombra, as amostras coletadas para avaliação de contaminação dos solos serão peneiradas em malha de inox com 2 mm de abertura para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA) e armazenadas em frascos de vidro.

Os teores pseudototais dos elementos alumínio (Al), arsênio (As), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), cobre (Cu), cobalto (Co), vanádio (V), níquel (Ni), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e cromo (Cr) serão obtidos após extração segundo o protocolo EPA 3051A (USEPA, 2007) com utilização de HNO₃ e HCl concentrados, em tubos de teflon com rampa de temperatura e pressão controlada, em forno micro-ondas. A dosagem de cada um destes elementos químicos será feita através de espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES).

De posse destes resultados, para aprofundamento sobre a disponibilidade dos elementos que ultrapassarem os valores de referência de qualidade do solo determinados pela Resolução CONAMA nº 420/2009 será realizado o procedimento de extração sequencial BCR (URE *et al.*, 1993). Diferente da análise de teores pseudototais, este procedimento permite identificar as fases trocável (biodisponível), redutível (disponível em meio redutor), oxidável (disponível em meio oxidante), e residual (indisponível).

Todos os procedimentos descritos anteriormente serão feitos em duplicata e caso os resultados apresentem divergência será feita em triplicata, e com a utilização de padrões de referência Montana Soil II (NIST SRM 2711a) para o método EPA 3051^a, e BCR-701 para o método BCR.

6.1.1.3. Coleta, armazenamento e envio de amostras de tecidos vegetais

Serão escolhidas quatro espécies focais capazes de fornecer cinco indivíduos por transecto em conjuntos de fragmentos afetados e não afetados, para a análise de absorção de elementos contaminantes. Esses indivíduos deverão estar preferencialmente dentro das parcelas de amostragem, no entanto, na impossibilidade de encontrar todos os indivíduos necessários dentro das parcelas, os transectos serão utilizados como referência. Nesse caso, serão selecionadas árvores que estejam o mais próximo possível de cada transecto, até 10m de distância do mesmo. Caso seja necessário selecionar indivíduos a mais de 10m do transecto esses não deverão estar no espaço entre transectos, estando voltados para a borda no caso dos transectos de borda e para o interior do fragmento no caso dos transectos do interior.

Inicialmente serão selecionados indivíduos da espécie alvo com características fenológicas próximas, principalmente em termos de DAP, conforme orientação da metodologia formulada para esse trabalho (EKOS BRASIL, 2020). Em relação à marcação e medição dos indivíduos, apesar da proposta inicial de Ekos Brasil (2020) sugerir a marcação seguindo o método X e Y definido pelo Manual para Medição e Marcação de Árvores do PPBio (CASTILHO *et al.*, 2014), no presente estudo esse método se mostrou menos eficiente do que a marcação com GPS uma vez que, ao contrário do método RAPELD, as parcelas nem sempre são retilíneas e obedecem a curva de nível. Os indivíduos estão sendo identificados e marcados com placas numeradas. As coordenadas geográficas estão sendo registradas com aparelhos GPS com precisão entre 3m e 5m e, adicionalmente, os indivíduos estão sendo marcados com fitas de cores vívidas que se destacam no ambiente, para facilitar seu reconhecimento visual.

Serão coletadas, separadamente, folhas, raízes e, quando possível, frutos, de cada indivíduo marcado, que serão armazenadas separadamente. As folhas serão coletadas de ramos maduros na porção mediana da planta e expostas a luz solar. Desse ramo, folhas jovens (próximas ao ápice) e completamente expandidas (terceiro nó) serão coletadas em quatro pontos diferentes em cada planta, quando possível. Em alguns casos, a coleta em quatro pontos é inviável pois, em determinados indivíduos, a coleta em quatro pontos pode comprometer a sua sobrevivência. Nesses casos, a amostra composta será formada por menos amostras simples. Todas as folhas dos diferentes de cada planta vão originar uma amostra composta daquela planta e essa deve conter cerca de 100 gramas de matéria fresca.

As raízes serão coletadas, quando possível, em quatro pontos diferentes em cada planta numa profundidade de 0 - 20 cm. Da mesma forma que para a coleta de folhas, caso a coleta em quatro pontos distintos se torne inviável, a amostra composta será feita em menos pontos. As

amostras simples das raízes dos diferentes pontos de cada planta vão originar uma amostra composta daquela planta e deve conter cerca de 100 gramas de matéria fresca. Após a coleta, as raízes serão lavadas para remoção do solo aderido.

Quando houver disponibilidade de frutos em um número relevante de indivíduos nas áreas afetadas e áreas controle, os mesmos serão coletados para as análises de contaminantes.

Cada amostra de folhas, raízes ou frutos será condicionada separadamente em saco plástico devidamente identificado e será encaminhada ao laboratório para análise da quantificação de elementos químicos em amostras biológicas.

6.1.1.4. Análises laboratoriais de tecidos vegetais

Será analisada a presença e as quantidades dos elementos usualmente descritos como característicos do rejeito ou como contaminantes de maior nível de preocupação quanto à toxicidade: alumínio (Al), manganês (Mn) e ferro (Fe), e outros elementos definidos pela sua ocorrência e toxicidade, como o arsênio (As), zinco (Zn), cobre (Cu), cobalto (Co), vanádio (V), níquel (Ni), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e cromo (Cr).

O material vegetal será lavado com solução ácida de HCl 0,01% e enxaguada com água destilada. As amostras de raízes, adicionalmente, serão tratadas com ditionito-citrato-carbonato (DBC), para remover óxidos de ferro adsorvidos (TAYLOR & CROWDER, 1983). Em seguida, as raízes serão lavadas e utilizadas para o processamento, assim como as amostras de folhas. Todo o material vegetal será seco em estufa a 80 °C, até massa seca constante. A análise dos elementos químicos e arsênio será baseada na digestão ácida das amostras, seguida de quantificação por meio de espectrofotometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado ou espectrofotometria de absorção atômica. Os resultados serão expressos em mg/kg de massa seca de plantas. A precisão da técnica de análise química do material vegetal será avaliada usando materiais de referência certificados, como *Lemna minor* (BCR-670) e *Spinacia oleracea* (SRM 1570a), ou outro material equivalente. Serão fornecidos os padrões de controle de qualidade, a validação dos valores dos materiais certificados e os limites de detecção dos elementos.

Memória de cálculo para análises de metais em plantas

Após uma excursão em campo, onde se percorreram boa parte das parcelas, verificou-se a inviabilidade de seguir a risca o quantitativo de espécies a serem coletadas em campo, conforme previsto no Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre proposto pelo

Instituto Ekos (2020). Diante deste fato, uma reunião foi realizada em 14 de outubro de 2021 entre a Ello Ambiental, a Fundação Renova e o professor Juraci Alves, da UFV/Instituto Ekos. Nesta reunião ficou acordado que serão selecionadas quatro espécies, que deverão, cada uma, fornecer cinco indivíduos, preferencialmente com DAP superior a 5cm em cada transecto, para a coleta de raízes, frutos e folhas para a análise de metais. No entanto, caso não se tenha todos os indivíduos com DAP superior a 5cm, será aceita a coleta de indivíduos com DAP inferior, desde que se verifique que a coleta não irá causar a mortalidade do indivíduo. Em laboratório, as análises deverão ser feitas em duplicata, o que resultará em 1.600 indivíduos amostrados e um total de 6.400 análises, de acordo com o seguinte cálculo:

- 4 espécies x 5 indivíduos x 2 transectos x 40 fragmentos = **1.600 indivíduos**.
- 2 amostras (raízes e folhas) x 1.600 indivíduos x duas análises (duplicata) = **6.400 análises**.

As amostras de frutos, quando disponíveis, e eventuais repetições de análises quando houver divergência entre as duplicatas, estão fora da memória de cálculo, mas serão realizadas sempre que necessário.

6.1.1.5. Seleção das espécies

Uma questão fundamental para a realização do trabalho é selecionar espécies que sejam capazes de fornecer o número de indivíduos necessários em todos os fragmentos estudados ou que estejam presentes no maior número de fragmentos possível, já que pode não haver espécies que satisfaçam essa exigência. Assim, foi elaborada uma metodologia específica para a seleção dessas espécies, que está sendo realizada durante a instalação das parcelas, previamente ao início da coleta de dados do monitoramento em si.

Duas equipes, cada uma composta por um botânico e um auxiliar, estão percorrendo todos os transectos, fazendo o registro da frequência das espécies mais comuns em cada área de referência.

Com base nos dados do monitoramento de flora realizado pela Fundação Renova e Ello Ambiental nos anos de 2019 e 2020, foram selecionadas as espécies com maior abundância na região correspondente à área de estudo atual:

- *Guarea guidonia*;
- *Siparuna guianensis*;

- *Vernonanthura polyanthes*;
- *Allophylus edulis*;
- *Cupania oblongifolia*;
- *Alseis floribunda*;
- *Pachira glabra*;
- *Trichilia silvatica*.

Com base no conhecimento dos membros da equipe e de outros trabalhos que esses realizaram na região, foram acrescentadas as seguintes espécies:

- *Anathenantha peregrina*;
- *Casearia ulmifolia*;
- *Mabea fistulifera*;
- *Xylopia sericea*;
- *Piptadenia gonoacantha*;
- *Tapirira guianensis*;
- *Alchornea triplinervia*.

Além dessas espécies, outras que estão sendo vistas em campo em grande abundância estão sendo acrescentadas à lista para que sua frequência das áreas de estudo seja mensurada. O número de indivíduos de cada espécie avistado dentro da área de referência de cada transecto está sendo registrado em uma planilha eletrônica, preenchida em campo.

Após as equipes percorrerem todos os transectos poderão ser selecionadas as quatro espécies que ocorrem em quantidade suficiente em todos transectos ou no maior número de transectos possível, dando preferência àquelas que ocorrem em quantidade suficiente dentro das parcelas. Os dados de frequência das plantas nos transectos, bem como a sugestão inicial das espécies alvo, serão encaminhados para a gerência e fiscalização do contrato assim que finalizada essa etapa de campo.

6.1.2. Pergunta 2 - Quais concentrações de contaminantes na vegetação poderiam ser consideradas como vetores de impacto biológico (danos)?

As amostras destinadas à avaliação de danos biológicos serão obtidas das mesmas plantas e preferencialmente dos mesmos ramos das amostras que serão utilizadas para a avaliação de

contaminantes, seguindo o mesmo protocolo de escolha e coleta de amostras. No entanto, o protocolo de acondicionamento das amostras será diferente, já que para a análise de MDA é necessário um rigor maior para a preservação do material no que diz respeito à temperatura e ao tempo entre a coleta e o resfriamento.

A análise de MDA é uma bioquímica bastante sensível e por isso a coleta seguindo todo protocolo é importante para a acurácia da técnica, principalmente em campo, onde as variáveis são muitas. O material coletado deve ser congelado imediatamente, assim essas coletas serão realizadas de acordo com protocolos amplamente reconhecidos na literatura (HODGES *et al.*, 1999; BIAIS *et al.*, 2011), sendo realizado por equipe treinada, que portarão sacos metálicos já identificados, onde o material será imediatamente colocado e armazenado em gelo. Durante todo o procedimento de coleta, bem como transporte até o laboratório e manipulação em bancadas para separar os lotes, macerar a amostra e iniciar o processo de extração, as amostras permanecerão congeladas.

Análises laboratoriais

A análise de danos biológicos será realizada quando forem detectadas diferenças significativas nos indicativos de contaminação entre as áreas alvo e áreas referência. Esta proposta técnica, bem como a proposta comercial vinculada à mesma, considera a possibilidade de se realizar essa análise em 100% das plantas utilizadas no estudo de contaminação.

As análises de MDA serão realizadas nos laboratórios da Unidade de Crescimento de Plantas, vinculados ao Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa-MG), por profissionais da equipe dos professores Adriano Nunes Nesi e Wagner L. Araujo, supervisionados pela profissional sênior Larisse de Freitas Silva. Os procedimentos a serem realizados são descritos a seguir.

A peroxidação lipídica é definida pelo conteúdo de Malondialdeído (MDA). Sua extração será realizada segundo protocolo descrito por Hodges *et al.*, (1999). Para tal, Aproximadamente 0,015 g de folhas e raízes serão trituradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas com 2 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. Os extratos obtidos serão centrifugados durante 15 minutos a 10.000 xg a 4 0 C. 0,5 mL de extrato serão pipetados em dois microtubos: um para reação e outro representando o branco da reação.

Aos microtubos de reação, serão adicionados 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,5% (TBA) em TCA 20%. Aos tubos do branco da reação serão adicionados 1,5 mL de TCA 20%. Os tubos permanecerão em banho úmido a 95 0C durante meia hora e as reações serão paralisadas

imediatamente em banho de gelo. Após resfriamento, o conteúdo de malondialdeído será determinado através da leitura das absorvâncias das reações a 532 nm e a absorvância inespecífica será determinada a 600 e 400 nm e subtraída das amostras. A concentração de MDA será calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 155 mM⁻¹ cm.

Abaixo é apresentada a descrição detalhada de cada etapa da metodologia acima descrita:

- 1) Previamente, serão identificados tubos eppendorfs, racks de armazenamento de eppendorfs, preparo de frascos para estocagem de reagentes, identificação de caixas condicionadoras em ultrafreezer – 80 0C e separo, esterilização e lavagem de vidrarias para maceração do material, compra, recebimento e condicionamento de nitrogênio líquido em câmara fria.
- 2) Recepção das amostras, separação destas em caixas condicionadoras seguindo a separação feita em campo no momento da coleta.
- 3) Pesagem do material e separação destes por lotes.
- 4) Maceração do material vegetal.
- 5) Pesagem e preparo dos reagentes.
- 6) Extração das amostras e leitura para determinação das absorvâncias (será realizada por lotes)

6.1.3. Pergunta 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?

Para avaliar os efeitos da deposição de rejeito na estrutura, funcionamento e provimento de serviços ecossistêmicos em florestas remanescentes do domínio espacial do PG 30 será utilizada a metodologia de avaliação dos benefícios ambientais e do provimento de serviços ecossistêmicos proposta por Brancalion & Rodrigues (2019), onde em cada parcela de 30x30m serão amostrados os seguintes indicadores de diversidade, de composição, de estrutura e de provimento de serviços ecossistêmicos: inventário florestal (diversidade, composição e

estrutura das comunidades vegetais) e funções ecossistêmicas (madeira morta caída, serrapilheira, solos, infiltração de água no solo e raízes finas).

Um esquema representativo das metodologias a serem aplicadas em cada parcela para responder a Pergunta 4 é apresentado na **Figura 2**.

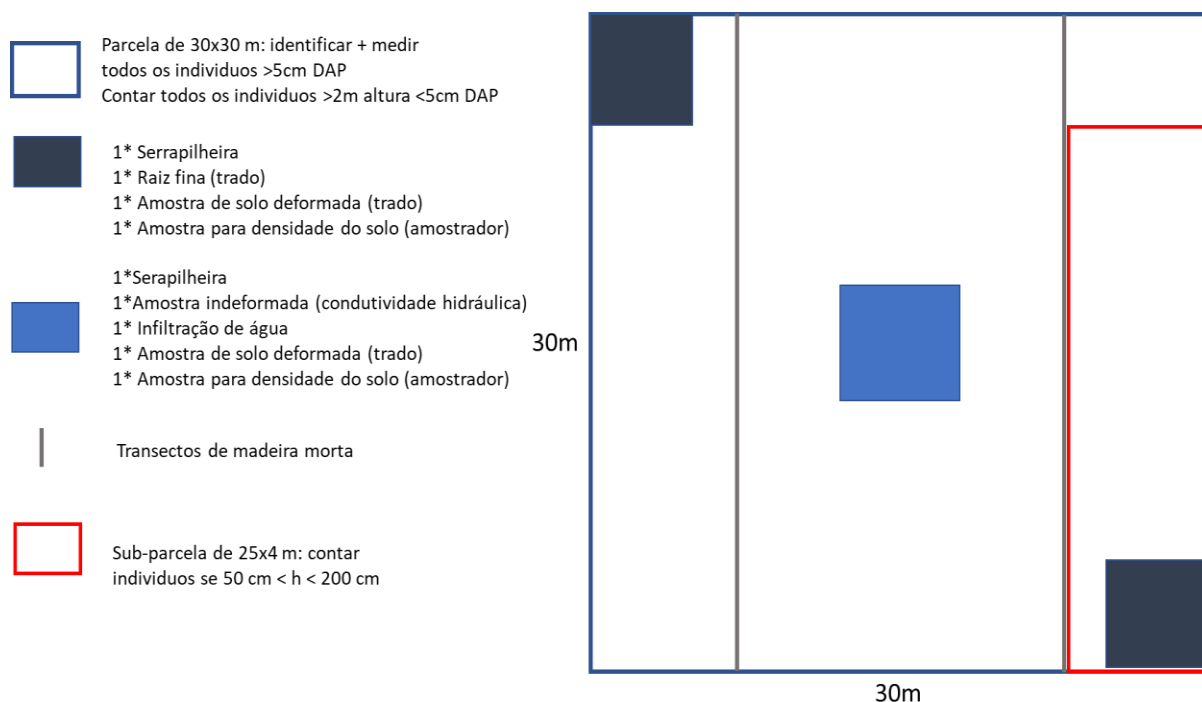


Figura 2 - Esquema representativo das metodologias a serem aplicadas para avaliar os efeitos da deposição de rejeito na estrutura, funcionamento e provimento de serviços ecossistêmicos em florestas remanescentes no Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

6.1.3.1. Marcação de plantas, fitossociologia e funções ecossistêmicas

Visando garantir a qualidade, aumentar o dinamismo e a eficiência dos trabalhos de campo, a marcação das plantas, a coleta de dados estruturais da comunidade vegetal e de funções ecossistêmicas serão realizados por equipes específicas, formadas por biólogo pleno com experiência em estudos de flora e por auxiliar experiente. Será função do auxiliar realizar a marcação e a medição das plantas. A função do profissional pleno será coletar os dados estruturais e de funções ecossistêmicos, bem como registrar todos os dados em planilha eletrônica.

Todos os indivíduos de arbustos, árvores, palmeiras ou samambaia-açu com pelo menos um fuste com diâmetro à altura do peito – DAP (diâmetro à altura do peito) ≥ 5 cm serão

plaqueados, mensurados. Os dados de CAP (circunferência à altura do peito) serão coletados com fita diamétrica e, posteriormente transformados em DAP na planilha de dados, para evitar erros. As placas numeradas foram feitas de alumínio e serão fixadas nas árvores com pregos galvanizados, sempre voltadas para o mesmo sentido, para facilitar o controle de campo e garantir que nenhum indivíduo deixe de ser mensurado ou seja mensurado mais de uma vez. Todos os fustes com $DAP \geq 5$ cm de um mesmo indivíduo deverão ser mensurados e seus valores informados na planilha de campo.

A dominância das copas de árvores de cada arbusto, árvores, palmeiras ou samambaia-açu será classificada pelo profissional pleno em uma das seguintes classes:

- 1) suprimida (S): árvores cujas copas estão abaixo do nível geral do dossel e não recebem luz direta. As copas são geralmente curtas, esparsas e estreitas;
- 2) intermediária (I): árvores cujas copas ocupam uma posição subordinada no dossel. Elas recebem alguma luz direta de cima, mas nenhuma luz direta dos lados. As copas são geralmente estreitas e / ou unilaterais, e mais curtas que as árvores dominantes e codominantes.
- 3) co-dominante (C): árvores cujas copas compõem o nível geral do dossel. Elas recebem luz direta de cima, mas pouca ou nenhuma luz dos lados. Geralmente são menores que as árvores dominantes.;
- 4) dominante (D): Árvores cujas coroas se estendem acima do nível geral do dossel. Elas recebem luz total de cima e alguma luz dos lados. Geralmente, elas têm as maiores e mais completas coroas do estande.

Serão mensurados, mas não marcados, os indivíduos mortos em pé com $DAP \geq 5$ cm (i.e. árvores sem folhas e com câmbio abaixo da casca morta. Será registrado o DAP da árvore (quando a árvore não tiver altura de 1,30 m, medir a circunferência à altura do peito - CAP a 0,30 m do solo) e a mesma será classificada quanto ao seu grau de decomposição (GD):

- GD1: Árvore morta (sem folha e floema aparentemente seco), em que o processo de decomposição ainda não é evidente;
- GD2: Árvore com sinais iniciais de decomposição, com casca já “desmanchando” e galhos se soltando com facilidade;
- GD3: Árvore em que o processo de decomposição já se encontra em estágio avançado, com casca e tronco se desfazendo ao toque;

- GD4: Árvore em fase final de decomposição, em que todo o tronco cai no chão ou se desfaz com um leve toque

Os indivíduos com DAP < 5 cm mas com altura \geq 2 m serão contados, mas não serão plaqueados e medidos. Indivíduos regenerantes com altura entre 50 e 200 cm serão contados em uma sub-parcela de 4 m x 25 m. Em monoculturas abandonadas ou em uso, consórcios de poucas espécies ou maciços de invasoras, será medida a altura de 15 indivíduos com DAP \geq 5 cm, sendo cinco grandes, cinco médios e cinco pequenos. Essa classificação será definida em função da distribuição diamétrica do plantio, com o uso de um hipsômetro digital Vertex. Esses dados serão posteriormente utilizados para a formulação de uma equação alométrica (Altura ~ CAP). O grau de infestação por lianas ou gramíneas na parcela será classificado como 0; 0% – 25%; 25% – 50%; 50% – 75%; e 75% – 100%. Essa informação constará nos dados referentes a cada parcela.

Serão coletadas amostras da serapilheira depositada sobre o solo, considerando-se como serapilheira todo o material vegetal (folhas, galhos, cascas, frutos, flores), sem distinção do tipo de planta a que o material pertence, disponível sobre a superfície, incluindo-se materiais em qualquer nível de decomposição. A serapilheira será coletada em três pontos por parcela, ao longo de sua diagonal, sendo um ponto de coleta no centro e dois próximos às extremidades da diagonal. Essa coleta será realizada com quadrados amostrais confeccionados com madeira, com dimensões de 25 x 25 cm, dentro dos quais a serapilheira será cuidadosamente removida, tomando-se o cuidado para não desestruturar o solo embaixo da serapilheira. As amostras de serapilheira serão acondicionadas em sacos de papel e identificadas. Posteriormente as amostras serão secas em estufa de circulação forçada a \sim 40°C por no mínimo 2 dias, até obter o peso seco constante. O material já seco será pesado em balança de precisão de 1g, e serão registrados os resultados em gramas.

6.1.3.2. Coleta de material botânico e identificação das plantas

A coleta de material botânico e a identificação das plantas é um ponto crítico deste trabalho. As análises que se referem às comunidades vegetais dependem de dados de composição e estrutura, que consistem respectivamente na lista de espécies e no número de indivíduos de cada espécie. Além disso, a lista de espécies é um resultado fundamental do trabalho. Nesse sentido, o depósito de material botânico é importante para confirmação de identificação por outros pesquisadores e para registro em caso de eventuais revisões taxonômicas.

Além de sua importância, essa etapa do trabalho é crítica porque depende da expertise de especialistas e demanda coleta, triagem, preparo e depósito de material, além de comparação com materiais de referência.

Por isso, visando garantir a qualidade desse trabalho, bem como fornecer o dinamismo necessário ao cumprimento do cronograma geral, o trabalho de identificação das plantas, coleta e preparo de material botânico será realizado por duas equipes específicas para essa atividade, chamadas equipes de florística, compostas por botânicos sêniores especialistas em identificação taxonômica e auxiliares, apoiada por parobotânico com excepcional conhecimento da flora da região que atuará na identificação de material pré-selecionado cuja identificação em campo não for possível.

Assim todo o material botânico será identificado ao menor nível possível e, todos os indivíduos dentro das parcelas serão identificados ou morfotipados. A morfotipagem é um recurso indispensável para permitir as análises referentes à comunidade (composição, estrutura, riqueza e diversidade), uma vez que a identificação em nível de espécie geralmente demanda a existência de material fértil, o que depende da época de floração e frutificação de cada espécie. Além da expertise dos profissionais, é imprescindível que esse trabalho seja realizado com as equipes atuando conjuntamente na identificação das plantas, seguindo a mesma classificação de morfotipos. Por isso, ambas as equipes irão atuar sempre em áreas próximas, usando a base de apoio para realizar a triagem do material conjuntamente. Eventualmente, equipes designadas para fitossociologia darão apoio ao trabalho de identificação caso seja estratégico para dar agilidade ao trabalho, mas sempre atuando conjuntamente e sob a supervisão da equipe de identificação.

Essas equipes estarão equipadas com todo o material de coleta e de preparo de exsicatas, além de estufas portáteis que poderão ser transportadas para a base e locais de apoio, que consiste em caixa de compensado com sistema de aquecimento para a secagem do material.

Sempre que necessário será coletada uma amostra das espécies registradas nas parcelas, que será devidamente preparada, identificada de acordo com as especificações do herbário de depósito e em relação ao número do indivíduo da parcela. Para cada material botânico coletado, será criado um código de identificação único do coletor (ex.: “AP100”, onde “AP” corresponde às iniciais de nome e sobrenome do coletor e o “100” ao número de coleta do respectivo coletor). Como procedimento, todas as espécimes não identificadas em campo serão coletadas para a realização de morfotipagem. Também serão coletadas as plantas fértil para preparo de exsicatas. Espécies naturalmente comuns ou com bastante representatividade nas áreas

amostradas serão coletadas em menor número possível, respeitando sempre as exigências dos herbários, nas quantidades e qualidade. Também é interessante comentar que em alguns casos não será possível a coleta e identificação de indivíduos arbóreos, devido à ausência de folhas, altura ou até mesmo segurança da equipe em campo.

A coleta de material botânico será realizada com podão e vara retrátil de 8m a 12m. Não serão realizadas coletas com escalada, para evitar acidentes de trabalho.

6.1.3.3. Coleta, armazenamento, triagem e fornecimento de dados

Todos os dados serão coletados em formulários eletrônicos através da plataforma Coletum ou outro similar, o que permite o envio diário dos dados já em planilha nos formatos xlsx, csv e kml. Isso garante a segurança dos dados, pois evita a perda ou danificação de planilhas de campo e eventuais erros de digitação no planilhamento de dados coletados em papel, além de representar um grande ganho de tempo de análise de dados. Esse procedimento também permitirá a garantia da fidelidade dos dados coletados, pois os mesmos serão organizados e verificados diariamente no escritório pelo PMO da equipe, sob supervisão do coordenador geral e do gestor. Todos os responsáveis técnicos pela coleta de dados em campo (líderes de cada equipe) receberão aparelho celular com o aplicativo de coleta de dados e planilhas em papel apenas para uso em caso de perda ou dano ao aparelho. Caso os dados precisem ser coletados em papel, os mesmos deverão ser tabulados na planilha eletrônica assim que o dano for solucionado ou o aparelho substituído.

Serão utilizadas planilhas de dados detalhadas, com planilhas específicas para amostras de solo, amostras de plantas, parcelas e indivíduos marcados. Cada linha da planilha representará uma amostra, no caso de solos e tecidos vegetais, ou indivíduo, no caso da comunidade vegetal. Será adotada a para nomenclatura de colunas dos dados o padrão de Darwin Core, estabelecido pelo sistema Sistema de Informações sobre a Biodiversidade Brasileira - SiBBr.

Todos esses dados serão armazenados no servidor da empresa com backup em HD externo em formato xlsx. Além das planilhas de dados brutos, serão guardados no servidor, e em backup externo, todas as planilhas de dados a serem utilizados nas análises (já tratadas para as análises), no formato csv, assim como os metadados de cada planilha em formato xlsx.

6.1.4. Pergunta 11¹ - É possível detectar uma mudança ambientalmente positiva na estrutura e composição da paisagem natural na bacia do rio Doce ao longo do tempo?

Para quantificar a área de floresta nativa que foi eliminada com o derramamento de rejeito e a modificação na cobertura de vegetação a partir do rompimento, será avaliada a cobertura florestal nativa, na faixa ribeirinha onde ocorreu a deposição direta de rejeito (faixa da ADA), no domínio espacial do PG30, considerando diferentes momentos temporais, sendo uma amostragem um ano antes do derramamento de rejeito (2015); uma segunda amostragem um ano após o derramamento do rejeito (2016), uma terceira amostragem no tempo presente (2021), e a partir disso, medições bianuais, durante os próximos 10 anos, com avaliação após 5 anos.

Em cada um dos tempos indicados acima, cada mancha de cobertura florestal nativa será quantificada em hectares e classificada de acordo com seu estado de sucessão (estágios inicial, médio e final), usando os parâmetros definidos na Resolução CONAMA nº 7, de 23 de Julho de 1996, na Resolução CONAMA nº 417, de 23 de novembro de 2009 e na Instrução Normativa nº 5, IBAMA, de 20 de abril de 2011.

6.1.5. Pergunta 12¹ - 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?

Para avaliar se a restauração ativa planejada e já implantada no domínio espacial do PG30 vai conseguir restaurar a diversidade e estrutura das comunidades vegetais, bem como o funcionamento e o provimento de serviços ecossistêmicos, serão avaliadas 40 áreas em processo de restauração, sendo 20 áreas em restauração ativa e 20 áreas em restauração passiva. Das 40 áreas em processo de restauração, 10 áreas de restauração ativa e 10 de restauração passiva receberão parcelas permanentes, para monitoramento de uma série temporal nos seguintes intervalos:

¹ As metodologias para as perguntas 11 e 12 serão executadas a partir da estação seca de 2022.

- Tempo 1: áreas em restauração ativa e passiva estabelecidas até abril de 2020, com 2 anos de idade;
- Tempo 2: as mesmas parcelas do tempo 1, com 4 anos de idade;
- Tempo 3: as mesmas parcelas do tempo 1, com 6 anos de idade;
- Tempo 4: as mesmas parcelas do tempo 1, com 10 anos de idade e
- Tempo 5: as mesmas parcelas do tempo 1, com 16 anos de idade.

As outras 10 áreas de restauração de cada situação receberão parcelas não permanentes, sorteadas aleatoriamente em cada tempo ou período de avaliação, nas áreas de restauração ativa e passiva estabelecidas em cada período temporal, constituindo assim uma cronossequência, sendo o período 1: áreas em restauração ativa e passiva estabelecidas até abril de 2020, com 2 anos de idade; período 2: áreas em restauração ativa e passiva estabelecidas até abril de 2022, com 4 anos de idade; período 3: áreas em restauração estabelecidas até abril de 2024, com 6 anos de idade; período 4: áreas em restauração implantadas até abril de 2028, com 10 anos de idade e período 5: áreas de restauração implantadas até abril de 2034, com 16 anos de idade.

O mesmo procedimento metodológico de avaliação de estrutura das comunidades vegetais, funções ecossistêmicas e avaliação de danos e contaminação utilizadas para as perguntas 1 e 2 devem ser praticadas nos fragmentos em restauração ativa e passiva, inclusive com mesmo desenho amostral de parcelas.

Para as áreas em restauração, além do monitoramento de campo feito com as parcelas amostrais (permanentes e não permanentes), buscando ganhar escala e amostrar todas as áreas em restauração desse trecho da bacia, propõe-se um monitoramento usando imagens de alta resolução, de forma integrada na paisagem (EVANS *et al.*, 2018). Assim, os polígonos onde as parcelas de avaliação da multifuncionalidade estão instaladas deverá ser sobrevoado com um drone, equipado com um sensor Lidar (Phoenix Lidar VLP-16 dual-return Lidar) e um hiperespectral (Headwall Photonics Nano-Hyperspec). Serão utilizadas algumas métricas coletadas pelo sensor Lidar (ex: altura média do dossel, abertura do dossel, distribuição vertical da área foliar, rugosidade do dossel) para avaliar a estrutura das florestas e estimar sua biomassa.

6.1.6. Ajustes necessário na metodologia proposta para flora e solos

É importante mencionar que, frente a realidade de campo, foi necessário realizar algumas alterações à metodologia dos estudos e flora e solos inicialmente proposta por Ekos Brasil

(2020). O **Quadro 1** apresenta os itens que precisaram ser modificados e as justificativas técnicas para essas alterações

Quadro 2 – Ajustes à metodologia de estudos de flora e solo originalmente proposta pelo Instituto Ekos Brasil (2020) que foram necessárias frente a realidade de campo e as justificativas técnicas para estas alterações para o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre na bacia do rio Doce.

| Item proposto originalmente | Item que foi alterado | Justificativa técnica |
|--|---|---|
| <p>"Em cada fragmento deverão ser selecionados indivíduos pertencentes a espécies que possam fornecer pelo menos 10 espécimes por transecto (borda e interior)" ... "Não há restrição na variação das espécies em áreas distintas, desde que tenha correspondência com a área de referência". Páginas 52 e 53.</p> | <p>A equipe buscará amostrar 5 indivíduos por espécie por transecto, de espécies que estejam presentes no maior número possível de pares de fragmentos afetados e controle, com uma média de 4 espécies por fragmento. Na impossibilidade de se conseguir 5 indivíduos por transecto, o eventual baixo número de indivíduos em algum transecto poderá ser compensado seguindo, em ordem, os critérios a seguir:</p> | <p>Em relação ao número de plantas a serem amostradas para a análise de contaminantes, a metodologia não especifica o número de espécies a serem amostradas, deixando o número total de amostras dependente da interpretação. De acordo com a proposta original, poderiam ser amostradas espécies que ocorressem apenas em um conjunto pequeno de fragmentos alvo e referência (ex. 1 fragmento de cada), o que demandaria um n maior por amostra (10 indivíduos por fragmento). No entanto, foi ponderado que seria mais adequado priorizar espécies com o maior número de réplicas (pares de fragmentos) possíveis. Assim, as espécies a serem amostradas são aquelas com maior frequência entre os fragmentos estudados. Esse elevado número de réplicas faz com que o n de 5 indivíduos por transecto seja suficiente. Foi utilizado como base de cálculo o quantitativo de 40 indivíduos em média por fragmento, podendo fazer compensações respeitando os critérios considerados. Essa alteração metodológica foi acordada em consenso com o professor Juraci Alves, da UFV, quem participou da elaboração da metodologia proposta pelo Instituto Ekos.</p> |
| | <p>- complementar a amostragem com indivíduos do outro transecto no mesmo fragmento, considerando que o fragmento é uma unidade amostral;</p> | |
| | <p>- Coletar indivíduos de outra espécie além das 4 mais frequentes, desde que essa possua n amostral e número de réplicas considerável, com correspondência entre fragmentos alvo e controle;</p> | |
| <p>- Coletar um número de indivíduos maior que 5 e até 10 de uma espécie em outro fragmento na mesma região, para compensar o n amostral para análises lineares.</p> | | |

| Item proposto originalmente | Item que foi alterado | Justificativa técnica |
|--|---|---|
| <p>“Em cada fragmento deverão ser selecionados indivíduos pertencentes a espécies que possam fornecer pelo menos 10 espécimes por transecto (borda e interior), considerando plantas com diâmetro a altura do peito (DAP) maior do que 5 cm, evitando árvores muito jovens”.</p> | <p>Será dada preferência à coleta em plantas que estejam dentro das parcelas e com DAP maior que 5 cm, porém caso não haja número de plantas suficientes nessas condições, os indivíduos serão selecionados usando os transectos como referência (do transecto para fora ou a até 10m do mesmo) e eventualmente incluir plantas com DAP um pouco menor que 5cm, quando o pesquisador julgar que a coleta não resultará na morte do indivíduo.</p> | <p>Foi realizado um levantamento prévio da frequência das espécies mais comuns nos fragmentos a serem estudados com o objetivo de avaliar as quatro espécies com o maior número possível de réplicas de fragmentos alvo e referência. Como em alguns fragmentos as espécies alvo não ocorrem na quantidade pretendida, algumas premissas foram revistas de modo a permitir a inclusão de mais indivíduos na amostragem.</p> |
| <p>“As amostragens deverão contemplar os compartimentos biológicos raízes, folhas e, havendo disponibilidade, frutos, coletados em quatro pontos ao redor das plantas, dando origem a uma amostra composta por planta.” Página 53.</p> | <p>As amostras de raízes deverão ser provenientes das porções terminais de diferentes ramos. Quando possível serão coletados em quatro pontos ao redor da planta. Quando a coleta comprometer a sobrevivência ou estabilidade do indivíduo, deverá ser realizada em diferentes ramos, mas não necessariamente em quatro pontos ao redor das plantas.</p> | <p>Alguns dos indivíduos amostrados são jovens, devido aos seguintes fatores: os ramos primários das raízes são mais lignificados e a coleta dos ramos terminais de plantas maiores acarreta danos em outras plantas, se tornando inviável; a coleta de folhas em plantas muito altas é inviável por questões de segurança; muitas vezes não há indivíduos mais maduros na quantidade necessária.</p> <p>Em indivíduos mais jovens - que na maioria das vezes são os mais adequados e disponíveis – a coleta de raízes em quatro pontos compromete sua estabilidade no solo e consequentemente sua sobrevivência.</p> |

| Item proposto originalmente | Item que foi alterado | Justificativa técnica |
|--|---|---|
| <p>“Deve-se coletar o material botânico, conforme descrição abaixo, de um indivíduo de cada espécie presente na parcela. Ou seja, mesmo que uma determinada espécie já tenha sido coletada na parcela vizinha, novamente deverá ser coletado um ramo para identificação botânica no caso dessa mesma espécie voltar a ser encontrada numa outra parcela da mesma área.” Página 78.</p> | <p>Será coletado material botânico de todas as espécies amostradas, com no mínimo duas amostras por espécie por região (conjunto de fragmentos próximos). Preferencialmente serão coletadas amostras de material fértil. Coletas adicionais serão realizadas sempre que necessário para a confirmação taxonômica ou para acrescentar material testemunho regional. Todo o material terá duplicatas que serão destinadas a dois herbários diferentes, em MG ou no ES. Todo o material será enviado em devidas condições de preservação e com seus dados pertinentes e será tombado, desde que aceito por coleções. Será feito um esforço para realizar o tombamento de todo o material, incluindo material não fértil, buscando coleções que possam ter interesse e justificando sua importância. Porém o depósito desse material estará sujeito ao interesse das coleções. No caso de material não fértil que não for aceito por coleções, o mesmo terá suas características botânicas descritas e registradas por fotografias específicas. O material a ser coletado e enviado para coleções será determinado pela equipe de florística buscando a melhor representatividade possível da flora estudada e seu registro em pelo menos duas coleções diferentes, garantindo a segurança do material e sua disponibilidade para eventuais conferências.</p> | <p>Os botânicos e os curadores herbários seguem procedimentos de coletas e depósito de material de acordo com padrões que já são prática comum em estudos científicos e técnicos. Normalmente os herbários evitam o tombamento de volume desnecessário de material para evitar problemas de espaço nas coleções. Além disso material não fértil normalmente não é aceito em herbários porque não atende às finalidades a que se destinam as amostras, pois não contém informação taxonômica precisa. Assim, ficará a cargo dos botânicos da equipe fazer o depósito mais representativo possível das plantas estudadas, coletando amostras férteis de todas as espécies disponíveis por região e procurando depositar material não fértil que seja relevante para registro do trabalho e que possa ser aceito nos herbários. Quando não for possível o tombamento de material não fértil, será feito registro fotográfico detalhado, permitindo o registro das características botânicas presentes no material e as tornando disponíveis para futuras verificações.</p> |

| Item proposto originalmente | Item que foi alterado | Justificativa técnica |
|---|---|---|
| <p>“Os indivíduos devem ser marcados, medidos, mapeados (“x” e “y”) e identificados.” Página 53.</p> | <p>Os indivíduos estão sendo identificados e marcados com placas numeradas. As coordenadas geográficas estão sendo registradas com precisão entre 3m e 5m e, adicionalmente, os indivíduos estão sendo marcados com fitas de cores vívidas que se destacam no ambiente, para facilitar seu reconhecimento visual.</p> | <p>O mapeamento – “x” e “y” – é preconizado no protocolo RAPELD, para mapear árvores. Nesse caso o método é adequado pois as parcelas são adjacentes às linhas de acesso, que por sua vez seguem rigorosamente a curva de nível, e fornece a precisão necessária para mapear árvores muito próximas dentro de cada parcela. No entanto, no presente trabalho os transectos não são retilíneos e, devido à escassez de espécimes alvo dentro das parcelas, os indivíduos têm sido encontrados, por vezes, relativamente longes dos transectos de referência. Isso faz com que a precisão do método “x e y” seja inferior à obtida com aparelho GPS. Tem sido utilizada uma marcação bastante conspícua que permite encontrar as plantas facilmente; além disso, o afastamento entre indivíduos, aliado à marcação com placas numeradas, permite o reconhecimento seguro de cada indivíduo.</p> |

6.2. Insetos

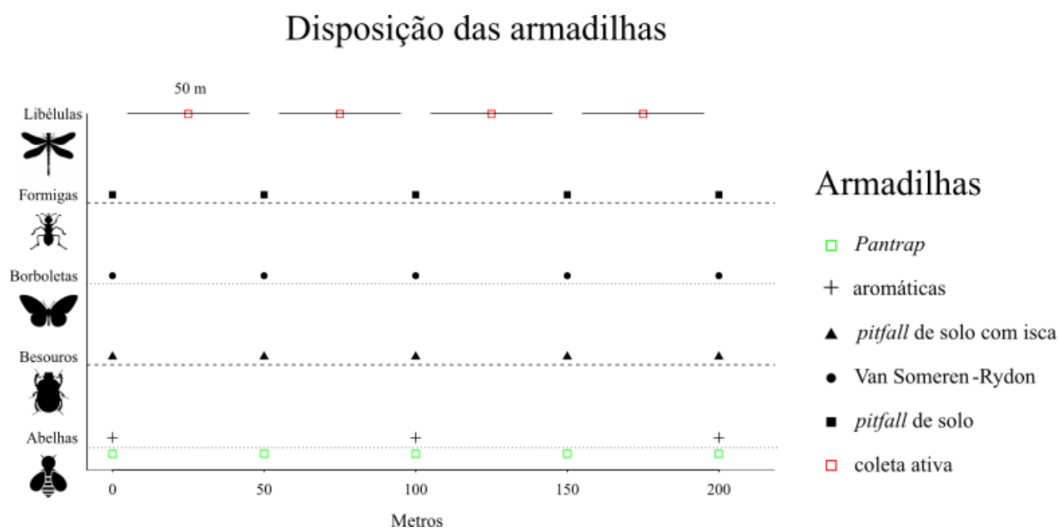
6.2.1. Pergunta 3 - Está ocorrendo contaminação por elementos químicos e consequentes danos em espécies de invertebrados e de pequenos vertebrados (anfíbios, répteis, roedores e marsupiais) que estão em contato direto com o rejeito?

Nos 40 fragmentos florestais, 20 FA e 20 FR, serão instaladas parcelas de coleta (**Anexo 1**). 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 3**).

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 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 sítios amostrais impactados, quando comparados aos sítios 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 3 - 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.



6.2.1.1. 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. Os demais detalhes de métodos e procedimentos obrigatoriamente adotados são detalhados no Parecer Técnico no 01/2017 (IBAMA-COREC, 2017).

Será utilizada literatura específica para determinar os valores de referência de cada metal pesado, baseando-se 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.

6.2.2. 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?

Em cada um dos 40 sítios amostrais (20 FA e 20 FR) 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 escarabaeíneos 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 (**Quadro 3**).

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 3**).

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 3**).

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 3**).

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 3**).

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:

Quadro 3 -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.

6.2.3. Pergunta 13 - 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?

Anualmente, durante a estação chuvosa, serão amostrados 60 sítios amostrais, sendo 20 sítios em áreas de restauração ativa diretamente sobre a faixa de rejeito, 20 sítios de restauração passiva sobre a faixa de rejeito e 20 sítios de fragmentos de florestas remanescentes de referência.

Em cada sítio amostral será alocada uma parcela de 30 x 30 m (**Figura 4**). 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 4**).

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 4**).

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 4**).

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 4**).

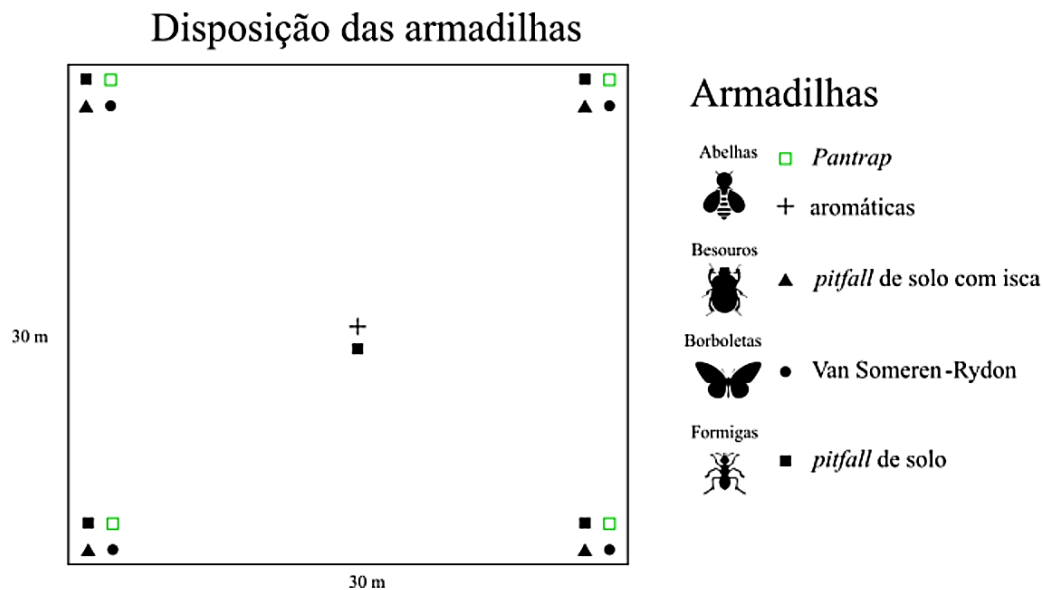
Em resumo, o esforço amostral empregado nos sítios amostrais por grupo e por pergunta ficará da seguinte forma conforme descrito no **Quadro 4**.

Quadro 4. 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 4 - 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.



6.2.4. 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.

6.2.4.1. 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.

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 5**).

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



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

6.2.4.2. 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. 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.

6.2.4.3. Remoção de sementes por formigas (Formicidae) e besouros escarabaeíneos (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.

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.

6.2.4.4. 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, exsiccatas 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. 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. Mastofauna terrestre

6.3.1. 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 (**Anexo 1; Quadro 1**).

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 biológico 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. 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. Os indicadores escolhidos para responder a esta pergunta são diversidade, estrutura e composição das comunidades.

6.4. Mastofauna voadora (morcegos)

6.4.1. 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?

6.4.1.1. Dispersão de sementes por morcegos

Serão amostrados 20 sítios naturais afetados (fragmentos alvo), 20 sítios naturais não afetados (fragmentos referência), 10 sítios afetados em restauração passiva e 10 sítios em restauração ativa (**Anexo 1; Quadro 1**).

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 detalhada mais adiante.

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 passiva, 10 sítios de restauração ativa, 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. 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 eppendorf 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.

6.5. Herpetofauna

6.5.1. 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?

6.5.1.1. 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 (**Anexo 1; Quadro 1**). 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.

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*).

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 denticulos 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 denticulos 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 estereó 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.

6.5.1.2. 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.

6.5.2. 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 (**Anexo 1; Quadro 1.**). Cada trecho estará ao menos 1 km um do outro .

Em cada trecho serão instaladas 20 armadilhas do tipo covo 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.

6.5.3. 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 5**). 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 covo/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.

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.

Quadro 5- 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 |

| Riacho | UTM 23K | | Riacho | UTM 23K | |
|--------|---------------|----------------|-----------|---------------|----------------|
| 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 | | | |

6.5.4. 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 1**).

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 (**Anexo 1; Quadro 1**). 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.

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.

6.6. Avifauna

6.6.1. 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.

6.6.2. 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.

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.

6.6.3. 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 ativa 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 passiva (**Anexo 1; Quadro 1**). 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.

6.6.4. 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?

6.6.4.1. 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 (**Anexo 1; Quadro 1**).

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 ativa e 10 sítios em restauração passiva. 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.

6.6.4.2. 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 ativa e 10 sítios em restauração passiva (**Anexo 1; Quadro 1**). Em cada um dos sítios serão amostrados quatro pontos, equivalentes aos pontos de contagem de aves da Pergunta 8.

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 cardinal. 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.

7. 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 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. Contudo, vale destacar, que nas duas primeiras campanhas a execução está sendo realizada por duas empresas contratadas. Assim, neste primeiro ano de monitoramento as análises de flora e fauna ainda serão apresentadas separadamente. Esta questão será corrigida, a partir dos relatórios do segundo ano do Programa. Relembrando que os resultados serão tratados sempre de forma cumulativa.

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, áreas de restauração passiva e ativa, 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).

7.1. Análise de dados de flora e solos

Para a amostragem da comunidade vegetal será feita a curva de acúmulo de espécies em função das unidades amostrais trabalhadas. Este procedimento tem como objetivo fornecer aos órgãos

ambientais, tomadores de decisão e cientistas uma noção do tamanho da lacuna amostral que ainda existe na área de estudo. Estas funções são implementadas pelos pacotes vegan (OKSANEN et al., 2019) e iNEXT 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:

- o número bruto de espécies acumulado por ponto amostral, sendo que sabidamente este representará a riqueza das espécies no local influenciada pelas distribuições de abundâncias encontradas; - a rarefação da riqueza de espécies em função do acúmulo de indivíduos; - 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 ($q=1$).

Para se avaliar a variação na composição de espécies entre as áreas e entre os diferentes tempos do monitoramento, deverá ser utilizada a métrica de diversidade beta, como diversidade gama/diversidade alfa. 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. 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, no caso deste estudo poderá ser calculada, a depender da escala da pergunta específica:

- 1) por fragmento (ou trecho de rio) para fornecer uma medida de mudança na composição interna do fragmento (medida de homogeneização taxonômica, SOLAR et al., 2015). Neste caso, a diversidade alfa é a riqueza em cada unidade amostral (parcela) e a diversidade gama a riqueza acumulada do fragmento. A diversidade beta fornece uma medida da heterogeneidade de cada réplica.
- 2) entre fragmentos da mesma classe (p. ex. entre fragmentos alvo e entre referência), de maneira a se obter a diferença na composição de espécies entre os diferentes tratamentos.

Neste caso, a diversidade beta deve ser calculada entre todos os pares possíveis de fragmentos do nível do tratamento. A diversidade alfa é a riqueza em cada fragmento do tipo (alvo/referência) e a diversidade gama a riqueza acumulada em cada par de fragmentos por nível do tratamento (p. ex. dois fragmentos alvo). A diversidade beta fornece uma medida da

heterogeneidade da composição de espécies entre alvo e referência ao longo da bacia, permitindo a análise da heterogeneidade da composição de espécies.

Se houver desbalanceamento entre as amostras, sugere-se proceder uma rarefação das áreas para o cálculo da diversidade beta, tendo como linha de base a área com menor número de amostras.

As 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 - partem do pressuposto que se quer saber o efeito do contato (atual ou pretérito) das áreas afetadas com o rejeito. Este conjunto de análises também deverá ser 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, serão utilizados Modelos Lineares Generalizados (GLMs) onde a variável resposta será cada métrica a ser considerada e a variável explicativa será a categoria de impacto (alvo ou referência). De acordo com as hipóteses propostas poderão ser usadas co-variáveis no modelo (solo, clima, vegetação, etc). 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. De maneira geral, pode-se adotar algumas situações de exemplo de escolha da distribuição de probabilidade para referência. A escolha da distribuição é teórica e, portanto, após a construção do mesmo é necessário fazer a checagem através da análise de resíduos.

- i. se a medida da variável é contínua, podendo assumir qualquer valor e com distribuição de erros homogênea (como por exemplo, medida de tamanho), a distribuição escolhida deverá ser Normal.
- ii. se a variável for de contagem, assumindo apenas valores inteiros e maiores que zero (p.ex. riqueza de espécies), deve-se optar por uma distribuição Poisson. Para modelos, como Poisson, onde se assume uma relação linear entre a média e a variância (ou seja, calcula-se a variância a partir da média, é necessário checar para a sobredispersão. Caso haja desvio do parâmetro de dispersão, é necessário adotar-se uma nova distribuição adequada, que no caso dos dados de contagem é a Binomial Negativa ou quasiPoisson. As distribuições Poisson, Binomial Negativa

e quasiPoisson utilizam a função de ligação log, devendo esta ser observada quando da plotagem dos dados.

iii. se a variável envolver estados binários (presente/ausente, vivo/morto) ou probabilidades a variável tem uma contenção forçada entre 0 e 1, devendo-se, portanto, adotar uma distribuição de probabilidades que acomode esta característica. Neste caso, deve-se adotar a distribuição Binomial, que é capaz de acomodar a estrutura de erros dos dados binários. Similar à distribuição Poisson, também esperamos que o parâmetro de dispersão do modelo seja igual a 1. Caso haja desvio do mesmo, é necessário adotar-se uma nova distribuição adequada, que no caso dos dados binários é a quasiBinomial. As distribuições Binomial e quasiBinomial utilizam a função de ligação logit, devendo esta ser observada quando da plotagem dos dados.

Em relação à construção do modelo, quando a unidade de observação da métrica for menor do que a unidade de réplica – por exemplo, se cada fragmento tem 3 transectos e cada transecto gera uma medida na tabela de dados – deve-se lançar mão dos Modelos Lineares Generalizados Mistos para considerar esta pseudoreplicação criada nos dados. Estes modelos permitem informar tanto efeitos fixos (variáveis que são medidas), quanto efeitos aleatórios (variáveis que não são medidas, mas de influência conhecida), como por exemplo a identidade do fragmento que agrupa as observações. Este procedimento permite ao modelo entender que medidas tomadas dentro do mesmo fragmento têm estrutura de variâncias distintas às aquelas esperadas para amostras verdadeiramente independentes. Quando a unidade de observação da métrica for a mesma da unidade de réplica, isto é, quando a variável resposta for medida na escala do fragmento, não é necessário usar os GLMMs, bastando utilizar os GLMs. Todavia, em ambos os casos é mandatória a checagem dos modelos, através de análise de resíduos, como mencionado acima.

Em resumo, a análise dos dados para esta pergunta deverá relacionar as métricas indicadoras propostas nos protocolos de cada grupo como variável resposta e a variável explicativa será a categoria de impacto (alvo ou referência). Os modelos devem ser construídos através de Modelos Lineares Generalizados ou Modelos Lineares Generalizados Mistos, optando-se pela distribuição de probabilidades adequada.

Todos os modelos devem ser criticados através de análise de resíduos e ter todas as suas premissas então checadas. Para as métricas de estrutura de comunidades (riqueza, abundância

e composição e diversidade beta será realizada análise multitaxa, com todos os grupos em uma mesma análise. Todas as padronizações necessárias nas medidas serão adotadas.

7.2. Análises para levantamento da suficiência amostral e riqueza de espécies da fauna

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 ($q = 1$).

7.3. Métrica de composição de espécies da fauna

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:

- 1) por fragmento (ou trecho de rio) para fornecer uma medida de mudança na composição interna do fragmento (SOLAR et al., 2015);

- 2) 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;
- 3) entre tempos distintos dos mesmos fragmentos, para obter a heterogeneidade da composição de espécies ao longo do tempo de recuperação (NUNES et al., 2020).

7.4. Status Populacional e Endemismo das espécies da fauna

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.

7.5. Coleta, eutanásia e depósito de espécimes da fauna 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). 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 $\mu\text{g/g}$ 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.

7.6. 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 restauro, uma vez que medidas ativas estão sendo tomadas neste sentido.

7.7. 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.

7.8. 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.

8. Cronograma da campanha

A seguir está apresentado o cronograma resumido do projeto para a campanha chuvosa de 2021/2022. Os cronogramas detalhados da campanha de campo atual (chuvosa 2021/2022), constam no **Anexo 2**. Destacamos que a periodicidade de amostragem por grupo e por pergunta encontra-se explicitado nos métodos de amostragem descritos neste documento.

| Atividade | 2021 | | | 2022 | | | | | | | | | | | |
|--|------|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| | Set | Out | Nov | Dez | Jan | Fev | Mar | Abr | Mai | Jun | Jul | Ago | Set | Out | |
| Vistoria das áreas e instalação das armadilhas | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de morcegos | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de aves | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha da herpetofauna | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de pequenos mamíferos | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de abelhas | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de besouros | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de borboletas | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de formigas | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de odonatas | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de flora | | | | | | | | | | | | | | | |
| Campanha de solo | | | | | | | | | | | | | | | |
| Análises laboratoriais | | | | | | | | | | | | | | | |
| Protocolo do relatório da campanha | | | | | | | | | | | | | | | |
| Realização do workshop | | | | | | | | | | | | | | | |

9. Equipe técnica da Fundação Renova

| Nome completo | Formação | Função/ Renova | Conselho de classe | CV Lattes |
|--------------------------------------|----------|---|-----------------------|---|
| MSc. Juliana Oliveira Lima | Bióloga | Coordenadora de biodiversidade | CRBio 57508/04 | http://lattes.cnpq.br/4928691369744886 |
| MSc. Aline Gaglia Alves | Bióloga | Analista de biodiversidade Sênior | CRBio 44047/02 | http://lattes.cnpq.br/8351214712570738 |
| Esp. Thiago Henrique Soares Alves | Biólogo | Especialista de biodiversidade | CRBio 44383/04 | http://lattes.cnpq.br/0515941533035145 |
| MSc. Andréia Aparecida Dias | Bióloga | Analista de biodiversidade Sênior | CRBio 87322/04 | http://lattes.cnpq.br/2208170103977999 |

10. Equipe técnica responsável pela execução - Contratada

10.1. Equipe de flora e solos

| Nome completo | Formação | Função | CV Lattes |
|--|---------------------|---|---|
| Coordenação | | | |
| MSc. Eduardo Hoffmam de Barros | Biólogo | Gestor/ Preposto | http://lattes.cnpq.br/4347529973289428 |
| Dr. Eduardo Mariano Neto | Biólogo | Coordenador geral e coordenador técnico de comunidades vegetais | http://lattes.cnpq.br/8063056764614828 |
| Estudos de solo | | | |
| MSc. João Santiago Reis | Geógrafo | Coordenador técnico de solos | http://lattes.cnpq.br/2587214189684250 |
| Dr. Daví do Vale Lopes | Geógrafo | Analista de solos | http://lattes.cnpq.br/0058947401153553 |
| Matheus Torezani Rossi | Engenheiro Agrônomo | Responsável pela coleta de solos | http://lattes.cnpq.br/5624425229400025 |
| Estudos florísticos | | | |
| MSc. Daniel Quedes Domingos | Biólogo | Estudos de florística | http://lattes.cnpq.br/2182376237529414 |
| MSc. William dos Santos Ribeiro | Biólogo | Estudos de florística | http://lattes.cnpq.br/7872647560490513 |
| MSc. Cauê Paiva Vidigal Martins | Biólogo | Estudos de florística | http://lattes.cnpq.br/4523931846412266 |
| Estudos fitossociológicos e marcação de espécimes | | | |

| Nome completo | Formação | Função | CV Lattes |
|--|---|--|---|
| Dra. Andreza Magro Moraes | Bióloga | Responsável técnica de fitossociologia e marcação | http://lattes.cnpq.br/2879731973446743 |
| MSc. Jackson Gurtler | Biólogo | Responsável técnico de fitossociologia e marcação | http://lattes.cnpq.br/7269508188188508 |
| Estudos de Contaminação Vegetal e Danos Biológicos na flora | | | |
| Pos Doc. Larisse de Freitas Silva | Bióloga | Coordenadora técnica de Contaminação Vegetal e Danos Biológicos na flora | http://lattes.cnpq.br/8151104296269659 |
| Dr. Hugo Galvão Candido | Biólogo | Coleta de amostras Contaminação Vegetal e Danos Biológicos na flora | http://lattes.cnpq.br/3454224907107589 |
| Instalação de parcelas e transporte de amostras | | | |
| Eduardo Amorim Obermuller | Biólogo | Instalação de parcelas e transporte | http://lattes.cnpq.br/0833388520791838 |
| Thais da Penha Camatta | Técnica em meio ambiente e engenheira ambiental | Instalação de parcelas e transporte | http://lattes.cnpq.br/4132606424093039 |
| Johnny da Silva Rodrigues | Engenheiro agrônomo | Instalação de parcelas e transporte | http://lattes.cnpq.br/3444560333311118 |
| Lucas Corrêa Souza | Biólogo | Instalação de parcelas e transporte | http://lattes.cnpq.br/4704901719504384 |
| Vitória Serra Bernardes | Engenheira florestal | Instalação de parcelas e transporte | http://lattes.cnpq.br/5876591118327191 |
| Mateus Sandrini | Biólogo | Instalação de parcelas e transporte | http://lattes.cnpq.br/0386755167390705 |
| Rafael Souza Laurindo | Biólogo | Instalação de parcelas e transporte | http://lattes.cnpq.br/5617834650441734 |
| Renan Luxinger Betzel | Biólogo | Assistente de meio ambiente | http://lattes.cnpq.br/3485987459099183 |

| Nome completo | Formação | Função | CV Lattes |
|----------------------------|----------------------|------------------|---|
| Geoprocessamento | | | |
| Fernanda de Jesus da Silva | Engenheira ambiental | Geoprocessamento | http://lattes.cnpq.br/3470336021662801 |

10.2. Equipe de fauna

| Nome | Função | CRBio | CTF | CV lattes |
|--|------------------------|------------|---------|---|
| Coordenação | | | | |
| Edeltrudes Maria Valadares Calaça Câmara | Diretora Técnica | 008619/04D | 974777 | http://lattes.cnpq.br/1460392536766198 |
| Diogo Loretto Medeiros | Coordenador do projeto | 38477/04D | 331826 | http://lattes.cnpq.br/5962407771637750 |
| Abelhas | | | | |
| José Eustáquio dos Santos Júnior | Coordenador temático | 062641/04D | 3599545 | http://lattes.cnpq.br/2501778821520387 |
| Agnis Cristiane de Souza | Biólogo de campo | 104035/04D | 5769709 | http://lattes.cnpq.br/7911463465419781 |
| Kamilla Ingrid Castelan Vieira | Biólogo de campo | 112137/04D | 6824670 | http://lattes.cnpq.br/6164023702548907 |
| Aves | | | | |
| Adriano Luiz Tibães | Biólogo de campo | 080382/04D | abrindo | http://lattes.cnpq.br/9146141459994121 |
| Alice Rabelo de Sá Lopes | Biólogo de campo | 062877/04D | 4479908 | http://lattes.cnpq.br/7952452154981040 |
| Allan Suhett de Moraes | Biólogo de campo | 098524/04D | 5470715 | http://lattes.cnpq.br/8735717706587692 |
| Carlos Bizarro Esteves | Biólogo de campo | 32381/02D | 271247 | http://lattes.cnpq.br/8042195673984862 |
| Estevão Luis Pereira Lima | Biólogo de campo | 044710/04D | 975510 | http://lattes.cnpq.br/9837619840635892 |
| Gefferson Guilherme Rodrigues Silva | Biólogo de campo | 098768/04D | 5651850 | http://lattes.cnpq.br/6409411916502127 |
| José Eduardo Garcia Campos | Biólogo de campo | 112575/04D | 5470345 | http://lattes.cnpq.br/8958381847678329 |
| Karen Mirele Caldeira | Biólogo de campo | 104364/04D | 2211909 | http://lattes.cnpq.br/1411777882396888 |
| Kassius Klay Santos | Biólogo de campo | 112531/04D | 5432325 | http://lattes.cnpq.br/3741957154519333 |

| Nome | Função | CRBio | CTF | CV lattes |
|---|-----------------------|------------|---------|---|
| Luciana Barçante Ferreira | Coordenadora temática | 037080/04D | 1929188 | http://lattes.cnpq.br/4816789815122787 |
| Magda dos Santos Rocha | Biólogo de campo | 080897/04D | 5170656 | http://lattes.cnpq.br/2898468110962846 |
| Rafael Fiúza Lanna | Biólogo de campo | 080055/04D | 4878040 | http://lattes.cnpq.br/3854756576598314 |
| Samuel Vinícius da Silva | Biólogo de campo | 117271/04D | 7431167 | http://lattes.cnpq.br/3665402276519309 |
| Wallace dos Santos Correa | Biólogo de campo | 104985/04D | 6156921 | http://lattes.cnpq.br/6502492688321860 |
| Warley Bruce dos Reis Xavier | Biólogo de campo | 104976/04D | 5523900 | http://lattes.cnpq.br/3014472157940180 |
| Besouros | | | | |
| André Luiz Batista Tavares | Coordenador temático | 093670/04D | 5769659 | http://lattes.cnpq.br/0048360096460295 |
| Matheus Carvalho Soares de Aguiar Pereira | Biólogo de campo | 093257/04D | 5930728 | http://lattes.cnpq.br/0716738440471718 |
| Borboletas | | | | |
| Alexia Estefânia Furtado Fernandes | Biólogo de campo | 112331/04D | 6909664 | http://lattes.cnpq.br/5218624751466346 |
| Diogo França Dias Braulio Santos | Taxonomista | 062775/04D | 3826260 | http://lattes.cnpq.br/5545804570437012 |
| Geanne Carla Novais Pereira | Biólogo de campo | 087629/04D | 5375995 | http://lattes.cnpq.br/0149966201689056 |
| Glória Ramos Soares | Taxonomista | 070486/04D | 4519365 | http://lattes.cnpq.br/4653773242430969 |
| Holbiano Saraiva de Araújo | Biólogo de campo | 013368/04D | 227835 | http://lattes.cnpq.br/2903559184198581 |
| Isabela Maciel Monteiro Carneiro | Biólogo de campo | abrindo | 7999694 | http://lattes.cnpq.br/4900457527816697 |
| Isabella Lopes | Biólogo de campo | abrindo | 8002732 | http://lattes.cnpq.br/8700070619805739 |
| Laura Braga de Oliveira | Coordenadora temática | 049754/04D | 2903181 | http://lattes.cnpq.br/5954530012544997 |
| Nayara Vieira Trevisani | Biólogo de campo | 104288/04D | 5194356 | http://lattes.cnpq.br/0529333070692593 |
| Rosana Maria Pereira Rocha | Biólogo de campo | 098938/04D | 5508558 | http://lattes.cnpq.br/3368055516640082 |
| Formigas | | | | |
| Larissa de Souza Fietto | Biólogo de campo | 112127/04D | 7541483 | http://lattes.cnpq.br/262256492173153 |
| Maria Olivia Dourado Sanna | Biólogo de campo | 112349/04D | 6359451 | http://lattes.cnpq.br/2539626939242857 |
| Letícia Fernanda Ramos Leite | Biólogo de campo | NA | NA | http://lattes.cnpq.br/7651156484434309 |
| Vanessa Soares Ribeiro | Coordenadora temática | 123996/04D | abrindo | http://lattes.cnpq.br/4430938745970126 |
| Herpetofauna | | | | |

| Nome | Função | CRBio | CTF | CV lattes |
|-----------------------------------|----------------------|-------------|---------|---|
| Bárbara Fernandes Zaidan | Biólogo de campo | 093554/04D | 5118524 | http://lattes.cnpq.br/9666913598888147 |
| Bárbara Larissa Ferreira Vitorino | Biólogo de campo | 093733/04D | 5944733 | http://lattes.cnpq.br/3610653058445846 |
| Danielle Christine Ribeiro Costa | Biólogo de campo | 049356/04D | 4838202 | http://lattes.cnpq.br/8822866352997968 |
| Emannuelle Luize Diniz Aguiar | Biólogo de campo | 117324/04D | 7503865 | http://lattes.cnpq.br/8194513839649622 |
| Fernanda Cesconetto Degasperri | Biólogo de campo | 115129/RS | 6760063 | http://lattes.cnpq.br/0744195578132509 |
| Luiz Fernando Soares Veiga | Biólogo de campo | 112324/04D | 6901200 | http://lattes.cnpq.br/9876046467469392 |
| Maria Olivia Dourado Sanna | Biólogo de campo | 112349/04D | 6359451 | http://lattes.cnpq.br/2539626939242857 |
| Paula Araújo Coelho | Biólogo de campo | 117753/04D | 7008425 | http://lattes.cnpq.br/0265847872386406 |
| Rodrigo Fink Muniz | Biólogo de campo | 115168/02 | 6758638 | http://lattes.cnpq.br/7007677193446742 |
| Rodrigo Gomes Tinoco | Biólogo de campo | 087621/04D | 5545833 | http://lattes.cnpq.br/7661097356491563 |
| Tiago Leite Pezzuti | Coordenador temático | 062209/04D | 1730737 | http://lattes.cnpq.br/8822866352997968 |
| Odonata | | | | |
| Henrique Paprocki | Coordenador temático | 016.104/04D | 734892 | http://lattes.cnpq.br/1414333591017031 |
| Isabela Cristina Rocha | Biólogo de campo | 098208/04-D | 5452953 | http://lattes.cnpq.br/4874109464787092 |
| Larissa Moreira Silva | Biólogo de campo | 117414/04-D | 6396895 | http://lattes.cnpq.br/8388015037052701 |
| Pequenos mamíferos | | | | |
| Atila Colombo Ferregueti | Biólogo de campo | 11165802 | 5213012 | http://lattes.cnpq.br/6605597502238136 |
| Beatris Felipe Rosa | Biólogo de campo | 082937/04RS | 5019004 | http://lattes.cnpq.br/5411984321186896 |
| Diogo Loretto Medeiros | Coordenador temático | 38477/04D | 331826 | http://lattes.cnpq.br/5962407771637750 |
| João Marcelo Rocha Biagini | Biólogo de campo | 080847/04D | 4922642 | http://lattes.cnpq.br/9134770024122758 |
| Lucas Henriques de Carvalho Possi | Biólogo de campo | 96854/02D | 5681417 | http://lattes.cnpq.br/0683146721517766 |
| Pedro Paulo Rezende Alves | Biólogo de campo | 098257/04D | 7386178 | http://lattes.cnpq.br/9192498524938245 |
| Reginaldo dos Santos Honorato | Biólogo de campo | abrindo | 5146126 | http://lattes.cnpq.br/0838385720124706 |
| Rone Fernando de Carvalho | Biólogo de campo | 123993/04D | 7555196 | http://lattes.cnpq.br/0250348269509128 |
| Taciano Paula e Paula | Biólogo de campo | 070490/04D | 3528990 | http://lattes.cnpq.br/7542049813557226 |
| Quelônios | | | | |

| Nome | Função | CRBio | CTF | CV lattes |
|------------------------------------|-----------------------|------------|---------|---|
| Barbara Larissa Ferreira Vitorino | Biólogo de campo | 093733/04D | 5944733 | http://lattes.cnpq.br/3610653058445846 |
| Danielle Christine Ribeiro Costa | Biólogo de campo | 049356/04D | 4838202 | http://lattes.cnpq.br/8822866352997968 |
| Elizangela Silva de Brito | Coordenadora temática | 054159/RS | 665528 | http://lattes.cnpq.br/2352362962073756 |
| Indaiá Maria Martins Pinehiro Rosa | Biólogo de campo | 117364/04D | 6854492 | http://lattes.cnpq.br/9309472879390864 |
| Paula Cristina Barnabe | Biólogo de campo | 117268/04D | 6884026 | http://lattes.cnpq.br/2081626529672185 |
| Rafael Scherrer Mathielo | Biólogo de campo | 121260/02 | 7598676 | http://lattes.cnpq.br/4031224175413290 |
| Rodrigo Gomes Tinoco | Biólogo de campo | 087621/04D | 5545833 | http://lattes.cnpq.br/7661097356491563 |
| Quirópteros | | | | |
| Daniele Pedrosa de Oliveira | Biólogo de campo | 57873/04D | 3310627 | http://lattes.cnpq.br/8268717965073441 |
| Fábio de Carvalho Falcão | Coordenador temático | 046444/RS | 1006458 | http://lattes.cnpq.br/5409022408796905 |
| Guilherme Barbosa Frigo | Biólogo de campo | 117484/04D | 5628153 | http://lattes.cnpq.br/6078198624231955 |
| Júlia Lins Luz | Biólogo de campo | 55691/02D | 591019 | http://lattes.cnpq.br/0092121295998009 |
| Michael Bruno | Biólogo de campo | 070498/04D | 4213746 | http://lattes.cnpq.br/3440858730965244 |
| Sérgio Barbiero Lage | Biólogo de campo | 78077/02D | 5040029 | http://lattes.cnpq.br/8709820238854028 |
| Tatiana Rodrigues de Jesus | Biólogo de campo | 104103/04D | 6347669 | http://lattes.cnpq.br/1024164534882857 |

11.Referências Bibliográficas

11.1. Geral

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.].

CETESB. **Manual para elaboração de estudos ambientais com AIA**. São Paulo, SP: CETESB, 2019.

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.].

EKOS BRASIL. 2020. **Proposta de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre**. Instituto Ekos Brasil. São Paulo, Brasil.

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.].

11.2. Flora e solos

BIAIS, B. *et al.* 2011. Precautions for Harvest, Sampling, Storage, and Transport of Crop Plant Metabolomics Samples. In: Hardy N., Hall R. (eds) Plant Metabolomics. **Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)**, vol 860. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-594-7_4.

BRANCALION, PHS, BONGER, F, RODRIGUES, RR, MOLIN, PG, POORTER, L, PEÑA CLAROS, M, 2019. Understanding restored forests for benefiting people and nature – “NewFor”. **Research Proposal Form: Joint Research Projects The Atlantic forest**. FAPESP/NWO.

CASTILHO, C.; SCHIETTI, J.; FREITAS, M. A. de; ARAÚJO, M. C. de; COELHO, F.; MAGNUSSON, W.; COSTA, F. **Manual para Medição e Marcação de Árvores em grades e módulos RAPELD do PPBio**. Disponível em < http://ppbio.inpa.gov.br/sites/default/files/Protocolo_estrutura_vegetacao_2014_0.pdf >. Acesso em 12 ago. 2020.

EKOS BRASIL. 2020. **Proposta de Monitoramento da Biodiversidade Terrestre**. Instituto Ekos Brasil. São Paulo, Brasil.

EVANS K, GUARIGUATA MR, BRANCALION PHS. 2018. Participatory monitoring to connect local and global priorities for forest restoration. **Conservation Biology** 32:525-534.

HILL, M. 1973. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. **Ecology** 54:427–432.

HODGES, D. M.; DELONG, J. M.; FORNEY, C. F.; PRANGE, R. K. 1999. **Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds.**

JOST, L. 2007, Partitioning Diversity Into Independent Alpha and Beta Components. *Ecology*, 88: 2427-2439. <https://doi.org/10.1890/06-1736.1>

OKSANEN J, F. GUILLAUME BLANCHET, MICHAEL FRIENDLY, ROELAND KINDT, PIERRE LEGENDRE, DAN MCGLINN, PETER R. MINCHIN, R. B. O'HARA, GAVIN L. SIMPSON, PETER SOLYMOS, M. HENRY H. STEVENS, EDUARD SZOECZ AND HELENE WAGNER. 2019. **vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-6.** <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

SOLAR, R., BARLOW, J., FERREIRA, J., BERENGUER, E., LEES, A.C., THOMSON, J.R., LOUZADA, J., MAUÉS, M., MOURA, N.G., OLIVEIRA, V.H.F., CHAUL, J.C.M., SCHOEREDER, J.H., VIEIRA, I.C.G., MAC NALLY, R. AND GARDNER, T.A. 2015. How pervasive is biotic homogenization in human-modified tropical forest landscapes? *Ecol Lett*, 18: 1108-1118. <https://doi.org/10.1111/ele.12494>

TAYLOR, G. J.; CROWDER, A. A. 1983 Use of the DCB technique for extraction of hydrous iron oxides from roots of wetland plants. *Am J Bot* 70:1254–1257.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo.** 3ª ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2017. 573p.

URE, A.M.; QUEVAUVILLER, P.H.; MUNTAU, H.; GRIEPINK, B. Speciation of heavy metal in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v.51, p.135-151, 1993.

U.S. EPA. 2007 Method 3051A SW-846: **Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, and oils, Revision 1.** Washington, DC.

11.3. Fauna

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 Brasi**, 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 edition. 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 Conceia** 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 Altântica, 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.