## UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

#### MARINA REGHINI VANDERLEI

Contaminação aquática por rejeito de mineração: o caso do desastre ambiental de Mariana (MG)

#### MARINA REGHINI VANDERLEI

## Contaminação aquática por rejeito de mineração: o caso do desastre ambiental de Mariana (MG)

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Ciências – Programa em Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola

## AUTORIZO A REPRODUÇAO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

Vanderlei, Marina

V235c

Contaminação aquática por rejeito de mineração: o caso do desastre ambiental de Mariana (MG) / Marina Vanderlei; orientador Evaldo Espíndola. São Carlos, 2022.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2022.

1. Rejeito de mineração. 2. Desastre ambiental de Mariana. 3. Metais. 4. Manganês. 5. Ferro. 6. Mesocosmos. 7. Ecossistemas Aquáticos. 8. Efeitos subletais. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

#### **FOLHA DE JULGAMENTO**

Candidata: Licenciada MARINA REGHINI VANDERLEI.

Título da tese: "Contaminação aquática por rejeito de mineração: o caso do desastre ambiental de Mariana (MG)".

Data da defesa: 29/08/2022.

Comissão Julgadora	<u>Resultado</u>
Prof. Titular <b>Evaldo Luiz Gaeta Espindola</b> (Orientador) (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)	_aprovada
Profa. Dra. <b>Eneida Maria Eskinazi Sant'Anna</b> (Universidade Federal de Ouro Preto/UFOP)	_aprovada
Profa. Dra. <b>Andréa Novelli</b> (Universidade Federal de Sergipe/UFS)	aprovada
Profa. Dra. <b>Juliane Silberschmidt Freitas</b> (Universidade Estadual de Minas Gerais/UEMG)	appovada
Profa. Dra. <b>Suzelei Rodgher</b>	aprovada

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:

(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP-São José

Prof. Titular Marcelo Zaiat

dos Campos)

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular Murilo Araujo Romero



Por tudo aquilo que foi silenciado no mar de lama e por todos aqueles que ainda lutam por seus direitos!

À minha família, pai, mãe e irmã, por entenderem minha ausência e incentivarem meu caminhar.

#### **AGRADECIMENTOS**

Sou grata a todos os que me acompanharam durante este trajeto longo e movimentado do doutorado. Primeiramente, gratidão imensa à minha família, Mãe, Pai e irmã (Rose, Sidnei e Diana) por toda compreensão, amor incondicional, apoio e base que sempre me proporcionaram. Estas palavras são simples, mas cada uma delas abriga histórias, sentimentos sinceros e o maior amor do mundo! Agradeço ao Prof. Evaldo Espindola, por, além da orientação, sempre ser tão humano e enxergar os seus alunos com individualidade e para além da academia. Minha enorme admiração, carinho e respeito a você, Evaldo! Agradeço imensamente a todos os meus amigos de laboratório por terem feito parte dessa minha trajetória, cada um de sua maneira, cada qual em um ou outro momento mais presente. Em especial ao Thandy por além da amizade de todas as horas, pela disposição incondicional em me ajudar em toda a construção deste trabalho. Não há linhas o suficiente para descrever toda a gratidão que tenho pela sua sábia ajuda e pela sua carinhosa amizade, Thandy! Seu coração é imenso e você merece o mundo! Raquel, a quem eu tanto admiro como bióloga, cientista e mulher forte que é. Obrigada por toda ajuda, exemplo e inspiração! E à Dayane, que mora no meu coração e na minha gratidão sincera por ter me acolhido quando precisei me dando muito, mas muito mais do que um lugar. Agradeço também aos demais queridos que cruzamos caminhos em algum momento pelo NEEA: Maria Paula (que as idas e vindas da vida felizmente se incumbiu de religar e estreitar este laço. Te desejo um lindo caminho e que nossa amizade esteja sempre presente); Diego (não importa o tempo, você sempre vai encontrar em mim o mesmo carinho, admiração e olhos e ouvidos atentos para aprender com toda sua sabedoria), Carol, Lucas, Gabi, Isa, Juliane, Lívia, Lais (1, 2 e 3), Allan, Obede, Vanessa, Edna, Clarice, Letícia (saudades dessa parceria) e Bruna (meu primeiro exemplo que levo para a vida! Sou e serei sempre grata pela sua passagem na minha trajetória). Não posso deixar de expressar todo meu carinho e gratidão também à Carol e Lorenza, minhas alunas de IC, que tanto me ajudaram e contribuíram para o meu crescimento. Minhas filhas partenogênicas, muita gratidão pela confiança! Agradeço aos técnicos Amândio e Marcelo por manterem as condições laboratoriais adequadas para que este trabalho pudesse ser desenvolvido. Além disso, fora dos muros do laboratório existe um círculo enorme de amizades que me mantiveram firme, sã e que são parte fundamental destes anos de pósgraduação: Mari, Denise, Camila, Allita, Gabi, Daniele, Maíra, Neto, Matheus, Mari Miguel, Heidi, Fran, Willian, Júnior, Gizele, Regiane, Laura e Raul. Meu muito obrigada, amigos,

pelo todo que já compartilhamos! Acreditem, cada um de vocês é muito especial. Ainda, agradeço imensamente a amiga de graduação que o universo trouxe de volta de forma inesperada para minha vida, Manuela, que me acompanhou nos momentos mais difíceis e também nos mais especiais durante o doutorado sanduíche. Foram apenas 5 meses dentre os vários anos da história desta tese, mas, com certeza, você, Manu, mudou tudo nesse caminho tornando o "fim dessa história" mais feliz e significativo. Agradeço à Kimberly que, mesmo sem saber, surgiu na hora certa sendo o respiro e apoio que eu precisava. Por fim, sou muito grata ao Prof. Kees e aos técnicos Rudo e Riet da Universidade Livre de Amsterdã (*Vrije Universiteit*) por terem me recebido tão bem e por toda contribuição gerada nos meses de intercâmbio. Agradeço aos órgãos financiadores desta pesquisa (CNPq e CAPES) e ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental (PPG-SEA), da EESC-USP. A todos vocês e a outros que não pude mencionar, minha maior e sincera gratidão!

#### **RESUMO**

Vanderlei, M. R. Contaminação aquática por rejeito de mineração: o caso do desastre ambiental de Mariana (MG). 2022. Tese (Doutorado) — Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.

O rompimento da barragem do Fundão contendo rejeitos de mineração de Fe na cidade de Mariana (MG) foi, no final do ano de 2015, um grande desastre socioambiental para o Brasil. Além de ter deixado um rastro de mortes, várias famílias desabrigadas e desempregadas, o derrame do rejeito devastou mais de mil hectares de matas e adentrou diversos corpos d'água até atingir o oceano Atlântico. Mesmo seis anos após tamanho desastre pouco se sabe ainda sobre os reais impactos toxicológicos provenientes do derramamento dos 34 milhões de m<sup>3</sup> de rejeito nos diversos ambientes atingidos. Neste contexto, este trabalho objetivou identificar os efeitos da contaminação ambiental por rejeitos de mineração para comunidades aquáticas de água doce de diferentes níveis tróficos afetadas pela intrusão da lama potencialmente tóxica. Para tal, o rejeito do próprio local foi coletado, caracterizado quanto à composição de metais e testado em sistemas aquáticos representativos de ambientes reais, os mesocosmos, de tal forma que simulasse o impacto causado nos locais adjacentes à barragem rompida. Amostras de água e sedimento foram coletadas para realização de testes laboratoriais agudos e crônicos com organismos representativos dos estratos tróficos, tais como algas (R. subcapitata), cladoceros (C. silvestrii e D. similis), organismos bentônicos (C. sancticaroli e A. inaequalis) e peixes (D. rerio). Tendo em vista as quantidades elevadas de metais que compõem o rejeito quantificadas neste estudo, com destaque para manganês e ferro, foi elaborado um design experimental de testes com a mistura binária destes contaminantes, o qual foi desenvolvido na Universidade de Vrije, em Amsterdã, possibilitando um melhor entendimento dos possíveis efeitos destes compostos presentes no rejeito para o cladócero D. magna, representante da base da cadeia trófica. Os resultados observados indicaram efeitos letais principalmente nos organismos bentônicos e subletais nos organismos planctônicos, evidenciando que a proximidade com o contaminante, que tende a se depositar no fundo dos sistemas aquáticos, causa efeitos nocivos até mesmo à sobrevivência. Os metais testados, apesar de serem essenciais ao desenvolvimento de seres vivos e, muitas vezes serem erroneamente considerados inofensivos, foram considerados tóxicos por causar efeitos subletais em concentrações mensuradas em águas afetadas pela lama. Além disso, tanto isolados quanto em mistura, ambos foram altamente acumuláveis na espécie D. magna. Em conjunto, os dados gerados nesta tese e a discussão proposta nos capítulos subsequentes contribuem para o melhor entendimento dos danos causados à biota aquática presente nos ecossistemas atingidos pelo desastre do rompimento da barragem de Mariana (MG) e, consequentemente, nos leva a refletir sobre a proporção em escala trófica que os efeitos tóxicos podem atingir como será discutido em cada capítulo.

Palavras-chave: rejeito, toxicidade, metais, manganês, ferro, biota aquática, mesocosmos.

#### **ABSTRACT**

Vanderlei, M. R. Aquatic contamination by mining tailings: the case of the environmental disaster in Mariana (MG). 2022. Thesis (PhD) – São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, 2022.

At the end of 2015 the Fundão dam rupture containing iron mining tailings in Mariana (MG, Brazil) was the major environmental and social disaster for Brazil. The disaster left several families homeless and unemployed. The tailings spill devastated more than a thousand hectares of forests and entered several bodies of water until reaching the Atlantic Ocean. Even six years later, little is known about the real toxicological impacts resulting from the spill of 34 m<sup>3</sup> of waste in the different environments. In this context, this work aimed to investigate the effects of mining tailings on freshwater aquatic communities affected by the input of this potentially toxic mud. To this end, the tailings from the site were collected, characterized as to the composition of metals, and tested in aquatic systems representative of a natural environment, the mesocosms, in such a way as to simulate the impact caused in the adjacent places to the ruptured dam. Water and sediment samples were collected for acute and chronic laboratory tests with representative of trophic strata organism such as algae (R. subcapitata), cladocerans (C. silvestrii and D. similis), benthic organisms (C. sancticaroli and A. inaequalis) and fish (D. rerio). In view of the high amounts of metals quantified in this study, especially manganese and iron, an experimental test design was developed with the binary mixture of these contaminants (developed at the University of Vrije in Amsterdam). This enabled a better understanding of the possible effects of these compounds present in the tailings for the cladoceran D. magna representative of the base of the trophic chain. Lethal effects were observed mainly in benthic organisms and sublethal in planktonic organisms. Evidencing that the proximity to the contaminant, which tends to settle on the bottom, causes harmful effects even on survival. The tested metals, despite being essential to the development of living beings and, many times being erroneously considered harmless, were considered toxic for causing sublethal effects in quantified concentrations in waters affected by the mud. Furthermore, both, isolated and in mixture, were highly accumulative in the D. magna organism. Together, the data generated in this thesis and the discussion proposed in the subsequent chapters contribute to a better understanding of the damage caused to the aquatic biota present in the ecosystems affected by the Mariana dam failure disaster and, consequently, lead us to reflect on the trophic scale proportion that toxic effects can reach.

**Keywords:** tailings, toxicity, metals, manganese, iron, aquatic biota, mesocosms.

#### LISTA DE FIGURAS

- <u>Capítulo I:</u> Contextualização, importância, objetivos e hipóteses da pesquisa
- **Figura 1:** Localização das três barragens de contenção do município de Mariana construídas pela mineradora SAMARCO.
- <u>Capítulo II:</u> Alterações estruturais da comunidade de zooplâncton após exposição ao rejeito da Barragem do Fundão (Mariana, MG, Brasil): um experimento em mesocosmos
- **Figura 1:** Mesocosmo T3 considerando as fases de pré-contaminação, imediatamente após a contaminação e ao final do experimento.
- **Figura 2:** Mesocosmo T5 considerando as fases pré-contaminação, imediatamente após a contaminação e ao final do experimento.
- **Figura 3:** Mesocosmo T6 considerando as fases pré-contaminação, imediatamente após a contaminação e ao final do experimento.
- **Figura 4:** Metais quantificados na água dos mesocosmos nos períodos antes da contaminação (AC), no dia da contaminação (C) e depois da contaminação (DC).
- **Figura 5:** Metais quantificados no sedimento dos mesocosmos nos períodos antes da contaminação (AC) e depois da contaminação (DC).
- **Figura 6:** Densidade numérica e abundância de macroinvertebrados bentônicos nos mesocosmos T3, T5 e T6 nas fases pré e pós-contaminação com o rejeito.
- **Figura 7:** Índices bióticos para a) comunidade de macroinvertebrados e b) macroinvertebrados divididos por grupo funcional do Mesocosmo 3, sendo A=antes da contaminação e B=após a contaminação.
- **Figura 8:** Índices Bióticos para a) comunidade de macroinvertebrados e b) macroinvertebrados divididos por grupo funcional do Mesocosmo 5, sendo A=antes da contaminação e B=após a contaminação.
- **Figura 9**: Índices bióticos para a) comunidade de macroinvertebrados e b) macroinvertebrados divididos por grupo funcional do Mesocosmo 6, sendo A=antes da contaminação e B=após a contaminação.
- **Figura 10:** Índices bióticos do mesocosmos T3. [Obs.: análises estatísticas foram aplicadas apenas para os índices de riqueza (Taxa\_S), abundância (Indivíduos), dominância (Dominance\_D), diversidade de Shannon (Shannon\_H) e equitabilidade (Equitability\_J)]
- **Figura 11:** Índices bióticos do mesocosmo T5. [Obs.: análises estatísticas foram aplicadas apenas para os índices de riqueza (Taxa\_S), abundância (Indivíduos), dominância (Dominance\_D), diversidade de Shannon (Shannon\_H) e equitabilidade (Equitability\_J)]
- **Figura 12:** Índices bióticos do mesocosmo T6. [Obs.: análises estatísticas foram aplicadas apenas para os índices de riqueza (Taxa\_S), abundância (Indivíduos), dominância (Dominance\_D), diversidade de Shannon (Shannon\_H) e equitabilidade (Equitability\_J).]
- **Figura 13:** Variação temporal da turbidez obtida nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.

- **Figura 14:** Variação temporal da condutividade de fundo e superfície obtidas nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 15:** Variação temporal da dureza obtida nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 16:** Variação temporal da temperatura de fundo e superfície obtidas nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 17:** Variação temporal do oxigênio dissolvido de fundo e superfície obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 18:** Variação temporal do pH de fundo e superfície obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 19:** Variação temporal da concentração de nutrientes totais (nitrogênio e fósforo) obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 20:** Variação temporal da concentração de nutrientes dissolvidos (nitrito, nitrato, íons amônio, fosforo total dissolvido, fósforo orgânico e inorgânico e silicato) obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 21:** Variação temporal de material suspenso (total, inorgânico e orgânico) obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 22:** Variação temporal dos valores da produção primária (bruta e líquida) e da respiração obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- **Figura 23:** Variação temporal da concentração de clorofila a obtidas nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.
- <u>Capítulo III:</u> Efeitos agudos e crônicos em diferentes espécies de água doce expostas ao rejeito de mineração da barragem do Fundão Mariana, MG (Brasil)
- **Figura 1:** Concentração de metais (mg L<sup>-1</sup>) quantificadas na água nas três unidades experimentais no dia anterior a contaminação, no dia da contaminação e no dia seguinte à contaminação.
- **Figura 2:** Concentração de metais (mg/kg) quantificadas no sedimento nas três unidades experimentais anteriormente a contaminação e posteriormente à contaminação.
- **Figura 3:** Respostas da (a) densidade, (b) tamanho, (c) complexidade celular e (d) fluorescência da microalga *R. subcapitata* expostas em bioensaios laboratoriais crônicos a amostras de água contaminada pelo rejeito proveniente do desastre ambiental de Mariana. CLAB: controle laboratorial e (\*): efeito estatisticamente significativo (p<0,05).
- **Figura 4:** Efeitos crônicos em número de neonatos (a) e dia médio de início da reprodução (b) da contaminação por rejeito na reprodução de *C. silvestrii*. C: controle laboratorial e (\*): efeito estatisticamente significativo (p<0.05).
- **Figura 5:** Efeitos agudo (a) e crônico (a) da exposição de *A. inaequalis* a sedimento contaminado por rejeito. \* asterisco indica diferenças em relação ao controle ou ao período antes da contaminação.

- <u>Capítulo IV</u>: Efeitos da contaminação dos rejeitos da mineração na emergência, reprodução e bioacumulação de metais em mosquitos da espécie Chironomus riparius
- **Figura 1:** Emergência total (a), dia da primeira emergência (b) e tempo médio de emergência (c) de *C. riparius* expostos a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.
- **Figura 2:** Emergência total (a), dia da primeira emergência (b) e tempo médio de emergência (c) de machos de *C. riparius* expostos a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.
- **Figura 3:** Emergência total (a), dia da primeira emergência (b) e tempo médio de emergência (c) de fêmeas de *C. riparius* expostos a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.
- **Figura 4:** Razão de adultos emergidos machos e fêmeas. As diferenças estatísticas foram do controle de laboratório em relação ao controle com sedimento não contaminado, do solo Lufa em relação a M3 e M5 e do sedimento não contaminado em relação a M3 e M5 (p<0,05).
- **Figura 5:** Dia da primeira desova (a), média no número de ovos (b) e taxa de eclosão (c) de *C. riparius* expostos a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.
- **Figura 6:** Porcentagem de desovas produzidas por organismos expostos à contaminação, consideradas normais, com alguma anormalidade ou extremamente anormais.
- **Figura 7:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em larvas de 8 e 15 dias de idade de *C. riparius* expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.
- **Figura 8:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em exúvias de larvas de *C. riparius* expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.
- **Figura 9:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em adultos de *C. riparius* emergidos de larvas expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.
- **Figura 10:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em adultos de *C. riparius* emergidos de larvas expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.

- **Figura 11:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em desovas de *C. riparius* de larvas expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.
- <u>Capítulo V:</u> Efeitos nocivos da mistura dos metais Mn e Fe em Daphnia magna caso baseado no derramamento de rejeitos do desastre ambiental de Mariana (MG/Brasil)
- **Figura 1**: CE50, limite inferior e limite superior obtidos em testes agudos (48h) com *D. magna* expostas a diferentes concentrações de manganês e ferro (mg/L).
- **Figura 2:** Curvas dose-resposta referentes aos testes agudos CE<sub>50,48h</sub> com Mn e Fe, respectivamente e *D. magna*.
- **Figura 3:** Gráfico isobolograma representativo do efeito agudo (48h) na imobilidade de Daphnia magna pela mistura de Mn e Fe (mg/L). O efeito apresentado corresponde ao efeito dependente da razão de dose (DR) do modelo de concentração de adição (CA) evidenciando o efeito antagônico da mistura dos metais.
- **Figura 4:** Efeito crônico (número de neonatos) em *D. magna* obtidos nos bioensaios com mistura dos metais Mn e Fe. A) Efeito na reprodução frente a exposição ao Mn (7.5 60mg/L) isoladamente; B) Efeito na reprodução frente a exposição ao Fe (0.313 3.75mg/L) isoladamente; C) Efeito na reprodução frente a exposição a misturas em diferentes proporções de Mn e Fe. Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,001<p<0,01; (\*\*\*) 0<p<0,001.
- **Figura 5:** Efeito crônico (início da reprodução) em *D. magna* obtidos nos bioensaios com mistura dos metais Mn e Fe. A) Efeito na reprodução frente a exposição ao Mn (7.5 60mg/L) isoladamente; B) Efeito na reprodução frente a exposição ao Fe (0.313 3.75mg/L) isoladamente; C) Efeito na reprodução frente a exposição a misturas em diferentes proporções de Mn e Fe. Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,001<p<0,01; (\*\*\*) 0<p<0,001.
- **Figura 6:** Efeito na A) biomassa (mg) e na B) bioacumulação ( $\mu$ g/g) dos metais Mn e Fe respectivamente em *D. magna* após exposição aguda (48h) aos metais manganês (37.5 600mg/L) e ferro (20 101.5mg/L). Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,001<p<0,01; (\*\*\*) 0<p<0,001.
- **Figura 7:** Biomassa de *D. magna* (mg) após exposição crônica (21d) aos metais A) manganês (7.5-60mg/L) e B) ferro (1.25-5mg/L) isolados e em C) misturas de diferentes proporções (Mn: 1.88-45mg/L; Fe: 0.313-3.75mg/L). Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,0010,0010,0010,001
- **Figura 8:** Bioacumulação dos metais A) manganês e B) ferro em *D. magna* ( $\mu$ g/g) após exposição crônica (21d) isoladamente (Mn: 7.5 60mg/L e Fe: 1.25 5mg/L) e em misturas (Mn: 1.88 45mg/L e Fe: 0.313 3.75mg/L) em diferentes proporções. Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,001<p<0,01; (\*\*\*) 0<p<0,001.

#### LISTA DE TABELAS

- Capítulo I: Contextualização, importância, objetivos e hipóteses da pesquisa
- **Tabela 1:** Resumo das barragens onde houveram extravasamento de rejeito no Brasil entre 2010 e 2021.
- **Tabela 2:** Metais quantificados em água de rios, lagoas, mangues e praias atingidas pelo rejeito da barragem do Fundão. Todos os valores estão em mg/L.
- **Tabela 3:** Metais quantificados em sedimento de rios, lagoas, mangues e praias atingidas pelo rejeito da barragem do Fundão. Todos os valores estão em mg/Kg.
- **Tabela 4:** Metais quantificados em rejeito proveniente da barragem do Fundão. Todos os valores estão em mg/Kg.
- <u>Capítulo II:</u> Alterações estruturais da comunidade de zooplâncton após exposição ao rejeito da Barragem do Fundão (Mariana, MG, Brasil): um experimento em mesocosmos
- **Tabela 1:** Composição, abundância relativa e dominância de macroinvertebrados bentônicos coletados nos mesocosmos durante o período de estudo, nas fases pré e pós-contaminação, sendo dominante: > 50%; comum: 10-29,9%; ocasional: 1-9,9%; raro: < 1%.
- **Tabela 2:** Principais táxons da comunidade de macroinvertebrados bentônicos encontrados nas fases pré e pós-contaminação com rejeito.
- **Tabela 3:** Composição das espécies de zooplâncton identificadas nos mesocosmos durante período de estudo, considerando as fases pré e pós-contaminação com rejeito.
- **Tabela 4:** Composição das espécies encontradas em cada mesocosmos nas fases pré e póscontaminação com rejeito. Os quadros verdes representam presença da espécie e os vermelhos a ausência da espécie em comparação ao mesmo mesocosmo em outro período experimental.
- **Tabela 5**: Dados da regressão linear múltipla realizada para comparação entre os índices ecológicos: riqueza, abundância, dominância, diversidade e equitabilidade e parâmetros físicos e químicos obtidos para cada um dos mesocosmos. Obs:  $R^2$  ajustado é o poder explicativo da equação para cada índice, B é a importância explicativa da variável e p é o nível de significância.
- <u>Capítulo III:</u> Efeitos agudos e crônicos em diferentes espécies de água doce expostas ao rejeito de mineração da barragem do Fundão Mariana, MG (Brasil)
- **Tabela 1:** Organismos e matrizes testados por este estudo, respectivos *endpoint*s e a norma utilizada nos bioensaios.
- **Tabela 2:** Faixa de concentrações das substâncias de referências (NaCl e KCl) para as diferentes espécies avaliadas nos testes de sensibilidade

<u>Capítulo V:</u> Efeitos nocivos da mistura dos metais Mn e Fe em Daphnia magna – caso baseado no derramamento de rejeitos do desastre ambiental de Mariana (MG/Brasil)

**Tabela 1:** Parâmetros do modelo de concentração de adição (CA) aplicados aos resultados do bioensaio agudo com *Daphnia magna* (48h) expostas a diferentes concentrações de misturas de Mn e Fe.

**Tabela 2:** Nomenclaturas das concentrações utilizadas no teste crônico de misturas com D. magna. Contém: força tóxica utilizada no teste, TU: unidade tóxica e concentrações (mg/L) de cada contaminante (Mn e Fe).

**Tabela 3:** Biomassa (mg); perda de biomassa em relação ao controle (%) concentrações de Mn e Fe nos organismos (ug/g) e bioacumuação (%) em relação ao controle em *D. magna* expostas em bioensaios crônicos aos metais Mn e Fe isolados e em mistura binária.

### **SUMÁRIO**

APRE	ESENTAÇAO DA TESE	20
Capíti	ulo I: Contextualização, importância, objetivos e hipóteses da pesquisa	23
1 Iı	ntrodução	23
1	.1 Contaminação por resíduos de mineração	24
1	.2 Rompimento de barragens	26
1	.3 O desastre ambiental de Mariana (MG)	30
1	.4 Características do rejeito	31
1	.5 Compartimentos ambientais atingidos	35
1	.6 Efeitos físicos e químicos do aporte da lama	36
1	.7 Metais	36
2 J	ustificativa	40
30	Objetivos Gerais	41
3	3.1 Objetivos específicos	41
4 H	lipóteses	42
Ref	ferências	43
-	ulo II: Alterações estruturais da comunidade zooplanctônica após exposição ao rejeito gem do Fundão (Mariana, MG, Brasil): um experimento em mesocosmos	
1 Iı	ntrodução	51
2 N	1etodologia	53
2	2.1 Mesocosmos	53
2	2.2 Coleta de rejeito e contaminação	54
2	2.3 Monitoramento e amostragem	54
2	2.3.1 Parâmetros físicos e químicos	55
2	2.3.2 Comunidade planctônica	55
2	2.3.3 Comunidade de macroinvertebrados	56
2	2.4 Análises dos dados	56
3 R	Resultados e discussão	57
3	3.1 Metais	58
3	3.2 Comunidade de macroinvertebrados bentônicos	59
3	3.3 Comunidade zooplanctônica	63
	3.4 Variáveis físicas e químicas da água	
	3.5 Relação entre as comunidades bióticas e as variáveis físicas e químicas	
4 C	Conclusões	69

Referências	70
Anexo A - Tabelas	76
Anexo B – Figuras	81
Anexo C – estruturação dos mesocosmos	102
Capítulo III: Efeitos agudos e crônicos em diferentes espécies de água doce expostas ao mineração da barragem do Fundão - Mariana, MG (Brasil)	•
1 Introdução	104
2 Metodologia	107
2.1 Mesocosmos.	107
2.2 Coleta de rejeito e contaminação	107
2.3 Amostragens	107
2.4 Análise de metais	108
2.5 Bioensaios de toxicidade	108
2.5.1 Ensaios laboratoriais com amostras de Água	108
2.5.1.1 Raphidocelis subcapitata	108
2.5.1.2 Ceriodaphnia silvestrii	109
2.5.1.3 Danio rerio	110
2.5.2 Ensaios laboratoriais com amostras de sedimento	111
2.5.2.1 Allonais inaequalis	111
2.5.2.2 Chironomus sancticaroli	111
2.6 Sensibilidade dos organismos teste	112
2.7 Análises estatísticas	112
3 Resultados	112
3.1 Metais na água e sedimento	113
3.2 Ensaios laboratoriais	113
3.2.1 Raphidocelis subcapitata	113
3.2.2 Ceriodaphnia silvestrii	114
3.2.3 Allonais inaequalis	115
3.2.4 Chironomus sancticaroli e Danio rerio	115
4 Discussão	115
5 Conclusões	122
Referências	122
Anexo A - Tabelas	130
Anexo B - Figuras	131
Capítulo IV: Efeitos da contaminação dos rejeitos da mineração na emergência, repbioacumulação de metais em mosquitos da espécie <i>Chironomus riparius</i>	•

1 Int	trodução	136
2 Me	etodologia	139
2.1	1 Organismo-teste	139
2.2	2 Testes de emergência e reprodução	140
2.3	3 Teste de bioacumulação	140
2.4	4. Análise dos dados	141
3 Re	sultados	141
4 Dis	scussão	144
5 Co	nclusões	148
Refe	rências	148
Anex	xo A – Lista de Figuras	154
derrama	<b>lo V:</b> Efeitos nocivos da mistura dos metais Mn e Fe em <i>Daphnia magna</i> – camento de rejeitos do desastre ambiental de Mariana (MG/Brasil)	165
1 Int	trodução	165
	etodologia	
	1 Organismo-teste e cultivo	
2.2	2 Bioensaios com metais	
2.2	2.1 Bioensaios agudos com metais isolados	
2.2	2.2 Bioensaios agudos com mistura de metais	169
2.2	2.3 Bioensaios crônicos com mistura de metais	170
2.3	3 Biomassa e Bioacumulação	171
2.4	4 Análise de dados	171
3 Re	sultados	172
3.1	1 Bioensaios agudos com metais isolados	172
3.2	2. Bioensaios agudos com mistura de metais	172
3.3	3 Bioensaios crônicos com mistura dos metais	172
3.4	4 Biomassa e bioacumulação	173
4 Dis	scussão	175
5 Co	nclusões	183
Refe	rências	183
Anex	xo A – Lista de tabelas	192
Anex	xo B – Lista de figuras	195
CONCI	LUSÃO GERAL	202

#### APRESENTAÇÃO DA TESE

Esta tese é fruto das pesquisas desenvolvidas durante o período de realização do doutorado da autora no Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA), pelo Programa de pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental, da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), da Universidade de São Paulo (USP), bem como do período de doutorado sanduíche da autora na universidade livre de Amsterdã (*Vrije Universiteit*). De forma a facilitar a apresentação dos resultados obtidos, estruturou-se esta tese em cinco (5) capítulos que serão melhor apresentados a seguir. Cada capítulo, com exceção do primeiro, é subdividido em: **resumo**, **introdução/objetivos**, **material e métodos**, **resultados**, **discussão** e **conclusões**, seguindo a estruturação proposta pelas normas para apresentação das teses e dissertações da EESC/USP. Uma breve descrição do conteúdo de cada capítulo é apresentada a seguir:

#### <u>Capítulo I:</u> Contextualização, importância, objetivos e hipóteses da pesquisa.

Neste capítulo foi introduzido o tema da tese e realizada uma revisão bibliográfica dos assuntos que permeiam o tema central, tais como a contaminação ambiental por rejeito de mineração, o rompimento de barragens, o desastre ambiental de Mariana (MG), características do rejeito e compartimentos ambientais atingidos. Apresenta-se, ainda, a pertinência da pesquisa por meio da problematização do assunto e do contexto explicitado no item Justificativas. Por fim, são apresentados os principais objetivos que foram abordados nos capítulos e as subsequentes hipóteses.

# Capítulo II: Alterações estruturais da comunidade de zooplâncton após exposição ao rejeito da Barragem do Fundão (Mariana, MG, Brasil): um experimento em mesocosmos

Nesse capítulo, são descritos todos os procedimentos adotados para a instalação dos mesocosmos usados na simulação da contaminação ambiental provocada pelo rompimento da Barragem de Fundão. Essas unidades experimentais foram contaminadas com rejeito proveniente da barragem rompida em condições realísticas e próximas em turbidez ao observado nos dias imediatamente após o desastre. No capítulo, serão descritos os dados de monitoramento das características físico-químicas e químicas da água e das comunidades de

macroinvertebrados bentônicos e zooplanctônica. Além disso, são discutidos os efeitos das alterações da qualidade da água na composição dessas comunidades ao longo do tempo.

<u>Capítulo III:</u> Efeitos agudos e crônicos em diferentes espécies de água doce expostas ao rejeito de mineração da barragem do Fundão - Mariana, MG (Brasil).

Neste capítulo, amostras de água e sedimento coletadas nos mesocosmos contaminados pelo rejeito de mineração proveniente da barragem rompida foram usadas em testes de toxicidade com diversas espécies aquáticas. Assim, o objetivo deste capítulo foi avaliar os efeitos agudos e crônicos causados pela água e sedimento em bioensaios laboratoriais.

<u>Capítulo IV</u>: Efeitos da contaminação dos rejeitos da mineração na emergência, reprodução e bioacumulação de metais em mosquitos da espécie *Chironomus* riparius

Nesse capítulo, amostras de sedimento provenientes dos mesocosmos foram usadas em testes de toxicidade crônica com a espécie de mosquito *C. riparius*. Diversos parâmetros do ciclo de vida da espécie foram monitorados, tais como desenvolvimento, emergência, razão sexual, reprodução e biomassa de larvas, pupas e adultos. Além disso, a bioacumulação dos dois principais metais encontrados no rejeito, ferro e manganês, foi determinada em larvas, exúvias, nos imagos (adultos) e nas massas de ovos. Este capítulo foi proveniente do período de doutorado sanduíche na universidade livre de Amsterdã (*Vrije Universiteit*, Países Baixos).

<u>Capítulo V:</u> Efeitos nocivos da mistura dos metais Mn e Fe para Daphnia magna— caso baseado no derramamento de rejeitos do desastre ambiental de Mariana (MG/Brasil)

Neste capítulo, a abordagem foi baseada na mistura dos dois metais mais presentes no rejeito derramado em Mariana (MG), manganês (Mn) e ferro (Fe). Foram realizados bioensaios agudos e crônicos com estes metais isolados e em misturas binárias em *Daphnia magna*. O objetivo deste estudo foi obter a resposta aguda (imobilidade) e crônica (reprodução/biomassa/bioacumulação) do cladócero exposto aos contaminantes e discutir as

possíveis consequências causadas pela toxicidade dos metais inseridos nos ambientes aquáticos atingidos pela lama proveniente do desastre. Este capítulo também foi proveniente do período de doutorado sanduíche.

#### Capítulo I: Contextualização, importância, objetivos e hipóteses da pesquisa

#### 1 Introdução

Com a finalidade de abastecer a indústria em ascensão, a exploração mineral se intensificou durante a primeira revolução industrial entre o fim do século XVIII e início do século XIX (CALLENDER, 2003). O Brasil extrai cerca de 235 milhões de toneladas de minério de ferro anualmente, sendo o segundo país que mais extrai este minério no mundo. Dentre os maiores responsáveis estão a Companhia Vale (antiga Vale do Rio Doce) e a *BHP Billiton*, que juntas possuem a empresa extratora Samarco mineração exploradora da região do quadrilátero ferrífero em Minas Gerais (IBRAM, 2012). Cerca de 20% dos casos de problemas associados à mineração ocorrem na região sudeste, especificamente em Minas Gerais, tais como, poluição da água, poluição do ar, poluição sonora, subsidência do terreno, incêndios causados pelo carvão e rejeitos radioativos (FERNANDES *et al.*, 2016). Tais problemas são profundamente intensificados em casos de acidentes ou desastres ambientais como o rompimento da barragem de mineração ocorrido em 2015 no município de Mariana (MG, Brasil).

O rompimento da barragem do Fundão em Mariana (MG, Brasil) foi considerado na época o maior desastre ambiental do país, ocasionando inúmeros impactos tais como mortes, devastação de quilômetros de vegetação, destruição de reservas ambientais e indígenas, soterramento de rios e nascentes, comprometimento da biota terrestre e aquática e consequências econômicas e sociais (AGUIAR *et al.*, 2020). O rejeito proveniente do beneficiamento de ferro é constituído por uma fração líquida e uma solida de areia e metais sem valor comercial tais como caulinita, gibbsita, goethita, hematita, magnetita e quartzo (ALMEIDA, 2018). Portanto, além dos efeitos físicos imediatos deixados pela passagem da lama, também existem os potenciais efeitos dos componentes químicos deste rejeito que se acumulam no ambiente.

Dentre os efeitos que a toxicidade de metais pode causar estão: interferência nos processos fisiológicos, na reprodução e consequentemente no ciclo de vida dos organismos; alterações em padrões comportamentais que modificam interações biológicas e a dinâmica de populações podendo causar desequilíbrios ecológicos no ecossistema aquático (BRULAND *et al.*, 1991). Desta forma, além de desempenhar papel de agente tóxico para algumas espécies,

estes compostos podem causar alterações em toda a cadeia trófica, seja por acúmulo ou por exclusão de espécies e dominância de outras.

#### 1.1 Contaminação por resíduos de mineração

O sistema de extração de minérios é altamente impactante ao meio ambiente em suas diversas fases (BENEDICTO et al., 2005) e a poluição da água e do solo, seja por metais ou outros agentes poluidores, constituem risco eminente de intoxicação ao homem (NOGUEIRA, 2007). Exemplos de extrações de mineração e seus subprodutos ou ações danosas aos ambientes onde as mineradoras estão presentes são os rejeitos com elevadas concentrações de cádmio (Cd) provenientes da etapa de beneficiamento do caulim (SILVA et al., 2001); contaminação por mercúrio (Hg) proveniente de processos físico-químicos da extração do ouro (Au) e por derivados do cianeto (CN) utilizados em etapas mais complexas de separação deste (CIMINELLI & GOMES, 2002); cromo (Cr) proveniente da extração química de níquel (Ni) (GARNIER et al., 2006) e arsênio (As), além do próprio manganês (Mn), provenientes de mineradoras deste minério (SANTOS et al., 2003). Além de materiais carbonosos e sólidos ricos em sulfetos de ferro provenientes da extração do carvão que oxidam no ambiente desencadeando um processo de acidificação de drenagem e a dissolução de metais, caracterizando a "drenagem ácida de mina (DAM)" que carreia para o ambiente íons metálicos dissolvidos (FUNGARO, 2005).

Sabendo-se que metais são potencialmente tóxicos aos seres vivos, estudos sobre os efeitos nocivos de metais provenientes da ação mineradora biodisponíveis à biota aquática, terrestre e aos seres humanos, são recorrentes no mundo todo como nos exemplos a seguir. Desde 1960 ocorre atividade mineradora em Viburnum Trend, distrito de Ozark Plateau. BESSER *et al.* (2008), ao avaliarem a toxicidade crônica do sedimento de rios do sudeste de Missouri para *Hyalella azteca*, encontraram valores significativos para os sedimentos coletados até 14 km após os locais de mineração (principalmente de chumbo - Pb). No estudo a toxicidade foi correlacionada a concentrações de níquel (Ni), zinco (Zn), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) determinadas no local.

No sul de Marrocos, existe um grande número de zonas metalíferas e esta região é considerada uma zona tradicionalmente mineradora há séculos devido as suas reservas de ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), prata (Al) e chumbo (Pb). Segundo estudos de BOULARBAH *et al.* (2006) a extração destes coloca em risco a comunidade por contaminação dos solos, das plantas e das águas subterrâneas e superficiais.

Outro exemplo a ser citado é a Mina Mount Todd, localizada no norte da Austrália, cuja produção de águas residuais é responsável por problemas de drenagem ácida. Análises químicas demonstraram que cobre (Cu), zinco (Zn) e alumínio (Al) são os componentes mais prováveis para a toxicidade observada no local. No estudo, DAM *et al*, (2008) constataram toxicidade da água de uma lagoa de retenção para todas as seis espécies testadas (*Chlorella sp, L. aequinoctialis, A. cumingi, Moinodaphnia macleayi, H. viridissima e M. mogurnda*). Em uma análise de distribuição sensível cumulativa (SSD) foi determinado que para que houvesse proteção de 95% das espécies, seria necessária a diluição de uma parte da água da lagoa em 20.000 partes de água do Rio Edith.

No Brasil, a mineração do carvão é uma importante atividade econômica da região sul de Santa Catarina e tais práticas produzem rejeitos ácidos com concentrações elevadas de cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), ferro (Fe), alumínio (Al), manganês (Mn), zinco (Zn) e sulfatos responsáveis pelas drenagens ácidas de minas (BENASSI *et al.*, 2006). Em ensaios ecotoxicológicos com Artemia sp, realizado com águas superficiais do Rio Molha (SC) e seu afluente, verificou-se para o rio 10% de letalidade em concentração de 12,5% e 100% de letalidade em concentração de 65%. No afluente houve letalidade de 10 e 30% dos organismos nas concentrações de 85% e 100%, respetivamente, sendo a CL50 para o rio de 37,44% (BORTOLOTTO *et al.*, 2007). O mesmo estudo mostrou que em ensaios de toxicidade com *Allium cepa* houve inibição do crescimento de raízes por exposição a amostras do rio Molha e afluente por 5 dias, 10 dias e 15 dias. No rio Molha verificou-se crescimento significativamente inferior ao grupo controle e ao afluente. Desta forma, a mineração de carvão demonstrou, por meio dos testes ecotoxicológicos, influenciar de maneira negativa a qualidade das águas superficiais no Rio Molha.

Em outros estudos, como o realizado no rio Mãe Luzia, na região de Criciúma/SC, foram encontradas elevadas concentrações de ferro (Fe) (principalmente), manganês (Mn), zinco (Zn), níquel (Ni), cádmio (Cd), e chumbo (Pb) em água e sedimento. As amostras do sedimento foram submetidas aos testes ecotoxicológicos e mostraram-se afetadas pela drenagem ácida e tóxicas ao organismo-teste *D. magna* (LATTUADA, 2009).

Desta forma, nota-se a abrangência da atividade mineradora no mundo e no Brasil e seus possíveis danos aos seres vivos, ressaltando-se a importância das análises ecotoxicológicas na determinação do risco e dos impactos provenientes das extrações. Neste contexto, o objetivo deste artigo de revisão é reunir informações publicadas nos últimos 6 anos e discutir os efeitos nocivos causados pela dispersão da lama proveniente da barragem do Fundão, rompida em 05 de novembro de 2015 em Mariana, MG (Brasil).

#### 1.2 Rompimento de barragens

As barragens caracterizam a principal forma de disposição de rejeitos minerários no estado de Minas Gerais, Brasil, armazenando em torno de 85% do rejeito de mineração (FEAM, 2010). Barragens de rejeito de mineração são, de forma geral, de grande porte e, portanto, consideradas um dos métodos de armazenamento menos seguros e potencialmente suscetíveis a infiltrações no solo, vazamentos e rompimentos. Ao redor do mundo várias rupturas de barragens de mineração acontecem com certa frequência. Um dos primeiros desastres registrados foi da barragem de San Ildefonso (Potosi), na Bolívia, em 1626 cujo rompimento liberou prata (Ag) e mercúrio (Hg) provenientes da exploração de sulfureto no ambiente. Na ocasião, deixou aproximadamente 4000 mortos, destruiu 126 das 132 fábricas existentes na cidade, 370 casas de bairros espanhóis e 800 moradas indígenas (RUDOLPH, 1936).

Já em 1965, devido a um terremoto duas barragens da mina El cobre situada no Chile se romperam liberando 1,900,000 m³ de rejeito da barragem mais antiga e 350,000 m³ de rejeito de mineração de cobre da barragem nova. O rompimento provocou mais de 300 mortos, percorreu 12 km ao longo do rio e destruiu a cidade de El Cobre (IDRISS, 2003; NEIC, 2008). Mais tarde, em 1985, devido ao mesmo motivo, outra mina de cobre Chilena, chamada Cerro Negro, também se partiu derramando 2,000,000 m³ de rejeito (RUDOLPH & COLDEWEY, 1971). Outros exemplos de rompimento de barragens de rejeito que, devido a sua instabilidade, foram rompidas por terremotos são: barragem Barahona, Chile (1928); barragem Chungar, Peru (1971), barragem de San Francisco, Northridge/USA (1994) e barragem Marcopper, Filipinas (1996) (RICO *et al.* 2008; HARDER & STEWART 1996; BELLEFANT *et al.*, 2013).

No Novo México em 1979, a mina Church Rock derramou 400,000 m³ de rejeito de urânio que atingiu a bifurcação norte do rio Puerco, afetou dois aquíferos, formou lagoas contaminadas nas margens dos rios e transportou contaminantes por 130 km rio abaixo até os arredores de Navajo no Arizona (BRUGGE *et al.*, 2007). Em 1988, devido ao volume excessivo e pobre manutenção, a mina de Molibdênio em Jinduicheng (China) se rompeu, derramando 700,00 m³ de rejeito e causando aproximadamente 20 mortes. No sul da África em 1994 a mina Harmony de ouro que já estava inativada se rompeu depois de uma chuva forte e derramou 600,000 de rejeito causando 17 mortes. Seguindo o mesmo cenário, em 1995, a mina Stava localizada no Norte da Itália também se partiu despejando 190,000 m³ de rejeito e levado a morte aproximadamente 250 pessoas, destruindo 14 casas, dois

estabelecimentos comerciais, algumas fazendas, 3 km de ruas locais, prejudicando o sistema de esgoto e eletricidade além de varrer, árvores e veículos pelo caminho (ALEXANDER, 1986). Em 1996 na Bolívia, a mina Porco de sulfideo também sofreu uma série de pequenos vazamentos que carreou metais tóxicos como Ag, Cd, Cu, Sb e Zn para a cabeceira do rio Pilcomayo e, consequentemente, nos afluentes Paraguay e Paraná, expondo populações indígenas da Bolívia e exterminando massivamente peixes por 500 km de rio (MACKLIN *et al.*, 2006). Outros incidentes com barragens rompidas ocorreram na Espanha em 1998 na mina de Aznalcóllar (HUDSON-EDWARDS *et al.*, 2003), na Romênia, em 2000, nas minas de Baia Mare e Maia Borsa, no Tennessee, EUA, na mina de Kingston plant (RUHL *et al.*, 2009) e na Hungria em 2010 na mina Ajkai Timfoldgyar Zrt alumina plant (RUYTERS *et al.*, 2011).

De forma similar, no Brasil, além dos desastres ocorridos em Mariana e Brumadinho, ocorridos em 2015 e 2019 respectivamente, aconteceram vários outros rompimentos de barragens de menor porte, porém significativos para a sociedade entre os anos de 2000 e 2019 (RSB,2011). Em 2001 uma barragem da mineradora Rio Verde localizada no distrito de Macacos em Nova Lima, região metropolitana de Belo Horizonte (MG) se rompeu despejando 600 mil m³ de rejeito da mineração de ferro. Dentre os danos causados estão a morte de cinco pessoas, devastação de 79 hectares de mata atlântica e 30 hectares de uma área de proteção ambiental, destruição da principal via de acesso e parte do município de São Sebastião das Águas Claras além do grande aporte de lama no córrego Taquaras (PINTO-COELHO, 2021).

Em 2003 em Cataguases (MG), o rompimento de uma barragem industrial liberou no córrego do Cágado e no rio Pomba cerca de 1,4 bilhão de litros de lixívia, rejeito proveniente da produção de papel e celulose. Além do impacto ambiental este desastre também deixou aproximadamente 600 mil habitantes desabastecidos de água por quase um mês. Em 2004, ainda na fase de construção, houve o rompimento da barragem de Camará na Paraíba, atingindo parte dos municípios de Alagoa Nova, Areia e os sítios urbanos das cidades de Alagoa Grande e Mulungu. As cidades ficaram destruídas, 800 famílias desabrigadas e quatro pessoas mortas (ARAÚJO SILVA, 2006). No Piauí em 2009 a barragem de Algodões I também se rompeu levando a morte de 9 pessoas, soterrando casas e deixando 1.200 famílias desabrigadas além de dizimar plantações e animais. Em Itabirito, município de Minas Gerais, ocorreu em 2014 o rompimento da barragem B1 da Herculano mineração deixando três trabalhadores mortos. Uma lista que reúne 144 vazamentos de barragens de mineração desde

1961 até 2021 pode ser encontrada em https://www.wise-uranium.org/mdaf.html. A tabela 1 enumera os rompimentos dos últimos 11 anos ocorridos no Brasil.

**Tabela 1:** Resumo das barragens onde houveram extravasamento de rejeito no Brasil entre 2010 e 2021.

Mês/Ano	Mina/Local	Companhia Responsável			Volume	Impactos
Out/2019	Nossa senhora do livramento, mato grosso	VM mineração e construção, Cuiabá	Ouro	Rompimento da barragem	582.171,51 m <sup>3</sup>	Lama espalhada por cerca de 2 km e danos na distribuição de energia
Mar/2019	Machadinho d'oeste, oriente novo, Rondônia	Metalmig mineração indústria e comércio s/a		Forte chuva causou vazamento da mina já inativa	Desconhecido	Cerca de cem famílias isoladas por danos em sete pontes
Jan/2019	Mina do Córrego de feijão, brumadinho, região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais	Vale s/a	Ferro	Quebra da barrage Nº1	12 milhões de m <sup>3</sup>	Devastação da estação de carregamento da mina, sua área administrativa e duas bacias menores de retenção de sedimentos. Contaminação do rio Paraopeba. Destruição da ponte do ramal ferroviário da mina. 259 pessoas foram mortas e 11 estão desaparecidas.
Fev/2018	Barcarena, Pará	Hydro alunorte/norsk hydro asa	Bauxita	Forte chuva causou sobrevolume que transbordou (ainda negado pela empresa)	Desconhecido	Deterioração da água potável devido à entrada de líquidos altamente alcalinos e carregados de metais.  Assassinato de um ativista ambiental chamado Paulo Nascimento
Nov/2015	Barragem do Fundão, Bento Rodrigues, Distrito de Mariana Minas Gerais	Samarco mineração s.a. (50% bhp billiton, 50% vale)	Ferro	Drenagem insuficiente causou sobrecarga da barragem que acabou se rompendo	32 milhões de m <sup>3</sup>	158 casas destruídas, cerca de 17 pessoas mortas, 2 desaparecidas.  Devastação de 663 km de mata nativa, contaminação de três rios: Gualaxo do Norte, Rio do Carmo e Rio Doce.  Danos à terra da população indígena da tribo krenak
Ago/2014	Mina do Herculano, Centro de Itabirito, Minas Gerais	Herculano mineração ltda	Ferro	Quebra da barragem	Desconhecido	Dois trabalhadores mortos e um dado como desaparecido

#### 1.3 O desastre ambiental de Mariana (MG)

Com área de 1.194,21 km² e aproximadamente 58 mil habitantes, o município de Mariana localiza-se na região centro-sul do estado de Minas Gerais e pertence a microrregião de Ouro Preto. No contexto geomorfológico, por conter grandes reservas minerais, o município se insere na unidade denominada de Quadrilátero Ferrífero juntamente com os municípios de Belo Horizonte, Itabira, Ouro Preto e Congonhas (ROESER & ROESER, 2010).

O estado de Minas Gerais é em percentual o local de maior reserva de ferro do Brasil, contendo 66% do total de ferro do País, principalmente nos municípios Barão de Cocais, Itabira, Itabirito, Mariana, Nova Lima, Ouro Preto e Santa Bárbara (BRASIL, 2009). Na região, a empresa responsável pela mineração de ferro é a SAMARCO formada pela VALE e pela BHP Billiton que desde 1977 explora o itabirito. As atividades de lavra, beneficiamento, transporte, pelotização e exportação ocorrem de maneira integrada entre a usina de Germano e usina industrial de Ubu (SAMARCO, 2022).

A barragem do Fundão foi construída para receber todos os rejeitos gerados durante o processamento do minério em Germano, e possuía capacidade de contenção de 79.674.744 m³ de rejeito argiloso e de 32.208.299 m³ de rejeito arenoso (SAMARCO, 2022). Das três barragens construídas na região (figura 1), a de Germano teria a função de tratamento para deposição de sólidos no rejeito, a do Fundão a função de clarificação e a de Santarém seria o sítio responsável pela recirculação e devolução do volume ao Córrego Santarém (SAMARCO, 2022).

A mineração de Fe sempre foi uma das principais fontes de renda e emprego no município de Mariana (MG, Brasil) até que no dia cinco de novembro de 2015 uma das três barragens de contenção da mineradora Samarco, a barragem do Fundão, rompeu-se extravasando todo seu conteúdo até atingir a segunda barragem, a barragem de Santarém que não se rompeu, porém contribuiu para o aumento do volume de rejeito extravasado. A barragem do Germano permaneceu estável. Na barragem do Fundão estima-se que havia 50 milhões de metros cúbicos de lama (rejeitos sólidos e água resultantes da mineração) que se espalharam primeiramente atingindo os distritos mais próximos, Bento Rodrigues e Paracatu de Baixo e, subsequentemente, outras 41 cidades dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo (IBAMA, 2015).

Barragem de

Barragem do Germano

**Figura 1:** Localização das três barragens de contenção do município de Mariana construídas pela mineradora SAMARCO.

Fonte: Gabinete Militar do Governador.

Imagem:

Google Earth

**Fonte:** Governo do estado de Minas Gerais (2016). Link: https://www.agenciaminas.mg.gov.br/ckeditor\_assets/attachments/770/relatorio\_final\_ft\_03\_02\_2016 \_15h5min.pdf.

Barragem de Santarém

O rejeito chegou a atingir diversos rios e percorreu quase 700 km até a foz do Rio Doce, no Espírito Santo achegando, assim, ao oceano Atlântico após 16 dias do rompimento da barragem. Nos primeiros 77 km, onde a velocidade do rejeito foi maior, a devastação foi de 1.469 ha de mata. Também foram afetados outros 770,23 hectares de áreas de preservação permanente. Neste território, em contato direto com os rios estão localizadas a área protegida dos índios Krenak, Tupiniquim e Guarani, as três Unidades de Conservação de Proteção Integral e seis Unidades de Conservação de Uso Sustentável. Além disso, o acidente atingiu pelo menos 128 residências, deixando dezenove mortos mais de 600 desabrigados e toda uma série de efeitos sociais que repercutem até hoje (FERNANDES *et al.*, 2016; GUERRA *et al.*, 2017; ANDRADES *et al.*, 2020). O "desastre ambiental de Mariana", como passou a ser chamado, foi considerado o maior desastre socioambiental da história do Brasil e provavelmente um dos maiores rompimentos de barragens de mineração do mundo (FERNANDES *et al.*, 2016; CARMO *et al.*, 2017).

#### 1.4 Características do rejeito

Uma vez que o minério de ferro explorado no quadrilátero ferrífero é proveniente do itabirito, o teor de ferro obtido é de aproximadamente 50% (IBRAM, 2022). Quando processado com o objetivo de aumentar o teor de ferro no produto final, um rejeito composto

por sólidos e água é produzido. Normalmente, os minerais presentes nos rejeitos da mineração de ferro são caulinita, gibbsita, goethita, hematita, magnetita e quartzo (WOLFF, 2009). Em concordância, em análise da lama remanescente dentro da barragem do Fundão após sua quebra, Davila *et al* (2020), a caracterizaram composta predominantemente por hematita, goethita e quartzo, enquanto Figueiredo *et al* (2020) encontraram 68% de hematita e 21% de goethita. Como não haviam dados sobre a composição química e caracterização física do rejeito estocado na barragem do Fundão antes de seu extravasamento, as pesquisas provenientes do pós-desastre que proveram informações a respeito deste contaminante. Figueiredo *et al* (2020), por exemplo, utilizaram a lama que ficou retida na hidrelétrica de Candonga após o desastre em seu trabalho e por meio deste, identificaram a presença de silicato, ferro e alumínio como principais componentes

Quanto à classificação granulométrica, DE PÁDUA *et al* (2021), classificou as partículas de rejeito como "muito pequenas" com média de 1.187 μm de diâmetro, já caracterizações anteriores encontraram valores variando de 1 a 200 μm de diâmetro (ALMEIDA *et al*, 2018; SEGURA *et al*, 2016) referente a duas frações distintas, a maior (~100 μm) composta principalmente por quartzo e a menor (~15 μm) composta por óxidos de ferro e argila. Outras características físicas do rejeito foram obtidas, tais como: pH (geralmente alcalino como verificado por Couto *et al*, 2021 – igual a 7,5); densidade (variando de 2.94 – 3.06 g/cm³) e baixa concentração de matéria orgânica (abaixo de 0.25%) (FIGUEIREDO *et al*, 2020).

Além das características supracitadas dados como a concentração de macronutrientes, micronutrientes e metais potencialmente tóxicos podem ser encontrados na literatura (CAETANO, 2021; COUTO, 2021; DAVILA, 2020; ESTEVES, 2020; FERREIRA, 2021; GIONGO, 2020; DE PÁDUA, 2021; SCHETTINI, 2020). Quanto aos macronutrientes foram encontrados valores de 150,7 – 663,1 mg/kg de fósforo, 79,4 – 281,8 mg/kg de magnésio, 87,9 – 274,7 mg/kg de potássio e 3879 – 16.837,4 mg/kg de cálcio (CAETANO, 2021; DE PÁDUA, 2021). Micronutrientes e metais potencialmente tóxicos mensurados em amostras de rejeito foram reunidos na tabela 2. O metal encontrado em maiores concentrações foi naturalmente, o Fe chegando a concentrações de até 386 g/kg seguido do Al que atingiu 244 g/kg e do Mn que chegou a ser detectado em 14,04 g/kg (FERREIRA, 2021). Apesar de serem considerados micronutrientes do solo e não terem concentração máxima regulamentada, por outro lado existem normas recomendadas para plantas usadas para nutrição humana e tanto o Fe quanto Mn estavam, na maior parte dos estudos, acima destes valores recomendados (GUIMARÃES *et al.* 1999).

Outros metais potencialmente tóxicos como Pb, Zn, Cd, Cr, Cu, Ni, Ba, V e As também foram detectados em amostras de lama da barragem dentre eles, Pb, Cd, Cr e Cu foram encontrados em valores 1,9; 6,4; 126,3 e 1,32 vezes respectivamente acima dos permitidos pela resolução CONAMA 420/2009 para solos. Dos 14 componentes potencialmente tóxicos identificados no rejeito e aqui compilados, dez possuem valores máximos de concentração previstos em legislação para solos. Dentre eles o Pb estava acima do permitido em um caso, o Cd em 4 casos, o Cr em 3 estudos, o Cu em um e o Hg em um (CAETANO, 2021; DAVILA, 2020; ESTEVES, 2020; FERREIRA, 2021; GIONGO, 2020; DE PÁDUA, 2021; SCHETTINI, 2020).

Tendo em vista que o rejeito derramado cobriu por completo os distritos localizados imediatamente após o local de rompimento, tais como, Bento Rodrigues e Paracatu de Baixo, além de ter coberto uma área total de 663,2 km, é inevitável que estes metais estejam agora presentes no solo afetado sendo motivo de preocupação quanto a contaminação ambiental remanescente, principalmente os encontrados em níveis maiores que os permitidos por lei.

Tabela 2: Metais quantificados em água de rios, lagoas, mangues e praias atingidas pelo rejeito da barragem do Fundão. Todos os valores estão em mg/L.

	Fe	Al	Mn	Pb	Zn	Cd	Ba	Cr	Cu	Ni	Со	V	As	Hg	Matriz
CONAMA (357/2005)	0,3	0,1	0,1	0,01	0,18	0,001	0,7	0,05	0,009	0,025	0,05	0,1	0,01	0,0002	Água (mg/L)
Segura, 2016	0.0611	0,0123	0,00173	0.00009	0,019	0.000009	0,00149	0.000092	-	0.0003	0.000015	-	0.000035	-	Corpo d'água de classe 1 de Bento Rodrigues
Hatje, 2017	0.0807	0.020	0.100	-	-	-	0.110	-	0,00156	-	0.00088	-	-	-	Rio Gualaxo do Norte
Silva, 2018	-	-	-	0.0081	0.074	0.00075	-	0.00077	0.00093	0,0118	0.0025	-	-	-	Riacho Tripuí e Rio do Carmo
Gomes, 2019	0.00591	-	0.2653	-	-	-	-	-	3,90	-	-	-	-	-	Rio Doce
Foesch,2020	3.253	-	0.262	0.041	-	0.007	-	0.007	0.024	0,014	-	-	-	-	Rio Gualaxo do Norte
Girotto, 2020	29230	3910	3320	100	800	7	-	-	-	-	-	-	-	-	Solução estoque contendo rejeitos de mineração do Fundão
Giongo, 2020	0,05	0,037	-	-	-	-	0,04	-	-	0,02	-	-	-	-	Rio Doce
<i>Macêdo</i> , 2020	0.218	0.025	0,056	0.000084	0.009	0.00017	0.0468	0.00062	0.00070	0.00027	0.000051	0.0003	0.0029	0.00037	Rio do Carmo e Rio Doce
Merçon, 2021	0.90088	0.98683	0.07618	0.000002	-	-	-	0.00586	-	-	-	-	-	-	Rio Doce
Santana, 2021	3.013	1.388	0.989	-	0.710	0.109	-	0.137	0.359	-	-	-	-	-	Rio Gualaxo do Norte e Rio Carmo
Santos, 2021	0.342	0.0834	2.590	0.00385	0.0227	0.000307	0.0912	0.00276	0.00989	0.00203	0.000923	0.00054 2	0,00165	-	Rio Gualaxo do Norte e Rio Doce
Bonecker,2022	3.260	1.545	0,0139	-	-	-	0.0289	0,018	0.0637	-	0.00251	0.00539	-	-	Rio Doce
Costa, 2022	0,008889		0,003792	0,000381	0,001933	0,000288		0,000095	0,000153				0,000393	0,000086	Rio Doce do estado do ES
Costa, 2022	0,4112		0,01066	0,000797	0,01764	0,000114		0,003967	0,002584				0,000244	0,000289	Água do mar da foz do rio Doce
Costa, 2022	0,004765		0,01066	0,000797	0,01764	0,000069		0,000629	0,000109				0,000066	0,000016	Água de manguezais da costa atlântica do estado do ES
Costa, 2022	0,2309		0,009226	0,001153	0,02391	0,000118		0,003841	0,001879	·			0,000898	0,000118	Água da praia do estado do ES
Merçon, 2022	0,8	0,7	0,1	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Rio Doce

#### 1.5 Compartimentos ambientais atingidos

Desde o local do rompimento da barragem do Fundão no subdistrito de Bento Rodrigues até a foz do Rio Doce no Espírito Santo, os quase 50 milhões de m³ de rejeito de minério de ferro percorreram mais de 40 cidades e quase 700 km até atingir o oceano. Neste percurso, inevitavelmente, a lama entrou em contato com os mais diversos compartimentos ambientais desde a vegetação nativa, o solo, riachos de baixa ordem, nascentes e lagoas locais, até rios de ordens superiores como o rio do Carmo, Gualaxo do Norte e Rio Doce, mangues, praias e finalmente o compartimento marinho quando aproximadamente 16 milhões de metros cúbicos do rejeito atingiram o oceano atlântico 16 dias após o rompimento. Nota-se que o rejeito se depositou sobre o solo, sobre sedimento de rios e lagoas de água doce, sobre ecossistemas salobros como o mangue e ecossistemas costeiros como praias e ambientes de água salgada.

No que diz respeito a vegetação, estudo na região proximal a barragem estima que 1289 ha foram atingidos somente nos primeiros quilômetros causando uma redução de 13,02% da vegetação local (DA SILVA JUNIOR, 2018). Outros estudos mostram ainda que 1176,6 ha somente de área ribeirinha foram cobertas pela lama e devastou 457,6 ha de floresta atlântica principalmente nos primeiros 74 km rio abaixo da barragem do Fundão (OMACHI, 2018). Para o compartimento aquático de áreas mais próximas à barragem do Fundão este cenário é ainda mais grave sendo que a perda de cobertura de água observada em sensoriamento remoto foi de 1347 ha acusando uma redução em 68,57% em área de corpos hídricos.

Os compartimentos ambientais mais investigados foram, até então, água e sedimento do Rio Doce (QUEIROZ, 2021; VANELI, 2022; GIONGO, 2020; BONECKER, 2022; MERÇON, 2021; QUADRA, 2019, GOMES, 2018; MACÊDO, 2020; MERÇON, 2022; QUARESMA, 2021; SANTOS, 2021; COSTA, 2022; MARQUES, 2022; MANHÃES, 2022), água e sedimento do rio do Carmo (MACÊDO, 2020; DA SILVA, 2018; COUTO 2021; SANTANA, 2021), água e sedimento do rio Gualaxo do Norte (SANTANA, 2021; HATJE, 2017; FOESCH, 2020; SANTOS, 2021). Além de terem sido encontrados estudos com água do riacho Tripui (DA SILVA, 2018), solos da área afetada nos arredores da barragem (BUCH, 2020; COELHO, 2020), ambientes menores de água doce, mangues, praias e ambientes de água salgada de áreas adjacentes ao ponto de descarga do rejeito no mar

(COSTA, 2022). As tabelas 2 e 3 sumarizam os metais quantificados em água e sedimento de ambientes aquáticos atingidos pela lama proveniente da barragem rompida (tabela 2; tabela 3).

#### 1.6 Efeitos físicos e químicos do aporte da lama

Mesmo após anos do ocorrido, o desastre ambiental de Mariana ainda deixa dúvidas sobre a extensão de suas consequências ao meio ambiente. Mesmo após todo este tempo do maior desastre com barragens do Brasil e tendo em vista a extensão e diversidade das áreas afetadas, menos de cem artigos científicos nesta temática foram produzidos. Porém importantes trabalhos foram desenvolvidos que nos permitem entender melhor quais consequências a contaminação ambiental pelo rejeito do Fundão trouxe para os ecossistemas da região. Estudos como os de Da Silva *et al* (2018), Couto *et al* (2021); Hatje *et al* (2017) e Santana *et al* (2020), por exemplo, permitiram verificar que o pH característico do rejeito é predominantemente alcalino chegando a valores extremamente altos (~10.67) como mensurados nas águas dos rios Gualaxo do Norte e do Carmo (SANTANA, 2021).

Estudos como o de Vaneli *et al* (2022), Foesch *et al* (2020) e Santana *et al* (2021), trouxeram importantes dados de turbidez. Estes mostram que, corpos d'agua da bacia do rio Doce e Gualaxo do Norte, anteriormente apresentando valores de 74 e 4 NTUs respectivamente, chegaram a 6690 e 360,2 NTUs respectivamente. Representando aumentos de mais de 90 vezes para ambos. Tais estudos também evidenciam coloração da água variando de de 22,2 mg/L para 370,2 mg/L após a contaminação e sólidos suspensos atingindo 33.000 mg/L também após a contaminação (FOESCH, 2020; HATJE, 2017).

Vaneli *et al* (2022) constataram que o ferro dissolvido em águas da bacia do Rio Doce chegou a aumentar 10,4 vezes enquanto o fósforo total chegou a aumentar 19,7 vezes chegando a 1,003 mg/L e 2, 56 mg/L respectivamente. Queiroz *et al* (2021), obtiveram quantidade de fosforo total inda maior em sedimentos estuarinos do Rio Doce que chegou a 430 mg/kg.

#### 1.7 Metais

Embora existam os metais essenciais presentes em baixas concentrações na crosta terrestre (BAIRD, 1998), quando em altas concentrações estes tornam-se tóxicos à biota e podem ser incorporados à cadeia alimentar chegando a causar danos também à saúde humana (KHAN *et al.*, 2005). É nítido que o aporte do rejeito da barragem rompida no Fundão causou

drásticas alterações físicas e químicas aos compartimentos ambientais atingidos devido ao aumento da turbidez, pH, condutividade além de material particulado dentre outros. No entanto, como já mencionado, a lama resultante do processo de extração do minério de ferro era rica em metais potencialmente tóxicos como Pb, Zn, Cd, Cr, Cu, Ni, Ba, V e As (ver tabela 2) que consequentemente foram também carreados para os ecossistemas que estavam presentes no caminho percorrido pela lama.

Diferentemente de outros compostos orgânicos, os metais não são degradados química ou biologicamente e, portanto, tendem a se acumular no ambiente. Além da possível letalidade, dentre os efeitos nocivos dos metais aos organismos vivos pode-se mencionar alterações reprodutivas, alterações em processos fisiológicos como crescimento e desenvolvimento, por exemplo, alterações comportamentais e, consequentemente, interferência nas interações biológicas (BRULAND et al., 1991). Portanto, estudos que identifiquem a presença de metais potencialmente tóxicos e que mensurem as concentrações reais encontradas nos ambientes afetados pela lama da barragem do Fundão, são de extrema importância na caracterização deste cenário pós-desastre. Na tabela 4 encontram-se as concentrações dos metais quantificadas em diferentes porções do rejeito anteriormente estocado na barragem rompida.

Tabela 3: Metais quantificados em sedimento de rios, lagoas, mangues e praias atingidas pelo rejeito da Barragem do Fundão. Valores estão em mg Kg<sup>-1</sup>.

	Fe	Al	Mn	Pb	Zn	Cd	Ba	Cr	Cu	Ni	Co	As	Hg	Matriz
CONAMA (420/2009)	-	-	-	72	300	1,3	150	75	60	30	25	15	0,5	Solo (Mg/kg)
Reis, 2017	-	-	-	93,7	2.623	-	-	278	5.827	63,4	-	-	-	Sedimentos da bacia do rio Matipó
Guerra, 2017	-	-	2.410	-	-	-	-	-	-	-	-	55	-	Solo da margem do Rio do Carmo
Silva, 2018	-	-	-	58,6	78,4	0,25	-	214,2	47	64,8	42,4	301,9	-	Sedimento do Riacho Tripuí e Rio Carmo
Quadra, 2019	519.302	37.621	4.696	-	-	-	-	-	54	-	-	-	-	Particulado na água do Rio Doce
Buch, 2020	450	310	847	7,8	19	1	-	24	30,7	9,2	-	10	0,3	Solo coletado ao redor do rompimento da barragem de Fundão
Coelho, 2020	44.726,9	-	287.6	6,1	23,4	1,28	-	41,1	17,9	-	-	0,49	-	Amostras de solo de áreas afetadas por resíduos
Couto, 2021	92,2	-	53.0	-	0,40	-	-	-	0,37	-	-	-	-	Sedimento do Rio do Carmo
Quaresma 2021	108.901,32	-	-	48,74	105,58	-	-	140,04	22,12	46,61	-	-	-	Sedimento da plataforma continental adjacente ao Rio Doce
Santos, 2021	216.780	5546	1.733	8,1	17,7	-	148.5	32,6	8,4	11,7	-	11,3	-	Sedimento do rio Gualaxo do Norte
Costa, 2022	324,2	-	171,8	5,990	46,26	1,086	-	19,22	2,219	-	-	1,634	0,120	Sedimentos de água doce do Rio Doce no estado do ES
Costa, 2022	92,24	-	118,1	0,956	44,79	0,063	-	39,88	1,544	-	-	0,171	0,431	Sedimento marinho da foz do rio Doce
Costa, 2022	107,1	-	18,93	1,596	19,11	0,669	-	5,376	0,839	-	-	0,804	0,445	Sedimento de mangues da costa atlântica do estado do ES
Costa, 2022	276,9	-	172,3	0,390	38,74	0,090	-	4,029	2,066	-	-	0,110	0,572	Sedimentos de praia do estado do ES
Vaneli, 2022	12.074	-	227	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sedimentos da bacia do rio Doce

Tabela 4: Metais quantificados em rejeito proveniente da barragem do Fundão. Todos os valores estão em mg/Kg.

	Fe	Al	Mn	Pb	Zn	Cd	Ba	Cr	Cu	Ni	V	As	Co	Hg	Matriz
CONAMA (420/2009)	-	-	-	72	300	1,3	150	75	60	30	-	15	25	0,5	Rejeito (Mg/kg)
Guerra, 2017	-	-	2.298	-	-	-	-	-	-	-	-	164	-	-	Barragem de Fundão
Davila, 2020	128.000	-	600	-	17,3	-	22,2	79	4,8	9,3	17.4	-	-	-	Barragem do Fundão
Esteves, 2020	55.211	-	562,37	4,159	0,004	-	-	9.473	-	1,705	-	1,429	-	-	Rejeitos de mineração local
Giongo, 2020	17.534,75	4162,92	-	-	-	2,07	19,4	38,87	3,83	9,06	-	-	-	-	Rejeitos de mineração local
Schettini, 2020	170.893	2.617	256	9,71	26,3	8,35	24,8	21,8	4,5	12,3	-	-	8,51	15,4	Suspensão no local
Caetano, 2021	23.608,3	1962,84	400,4	5,68	5,8	1,95	-	11,85	6,3	-	-	-	-	-	Rejeitos de mineração local
Couto, 2021	216	-	248,7	-	0,8	-	-	-	1,13	-	-	-	-	-	Rejeitos de mineração local
Ferreira, 2021	386.000	244.000	14.040	135	55			385	79	-	-	-	-	-	Lama de áreas ripárias
De Pádua, 2021	37.873	2971,8	472,7	13,29	24,7	3,53	-	16,58	5,8	-	-	-	-	-	Barragem do Fundão

### 2 Justificativa

As ações antrópicas são responsáveis por inúmeros impactos no meio ambiente e a extração de minérios, por si só, já é nociva em todas as suas fases (LEMES, 2001; BENEDICTO *et al.*, 2005). Num cenário catastrófico como o ocorrido no município de Mariana (MG), é inevitável a potencialização destes danos ao meio ambiente podendo gerar impactos severos e até mesmo irreversíveis. O rompimento da barragem do Fundão em novembro de 2015 trouxe à Minas Gerais não só problemas sociais (como famílias desabrigadas, vilas inteiras desapropriadas e soterradas e mortes trágicas) como também uma paisagem devastada de nascentes soterradas, áreas de preservação dizimadas e corpos d'água totalmente transformados pela entrada de grande parte dos 34 milhões de metros cúbicos de rejeito nos quase 700 km percorridos pela onda de lama.

Naturalmente, o ambiente aquático tende a ser um compartimento ambiental destino de poluentes dentre eles os metais (LEMES, 2001). Uma vez que a mineração do ferro produz dois tipos de rejeito, o argiloso e o arenoso, e que estes, por sua vez, são compostos principalmente por metais (52% de ferro e 14% de dióxido de silício e 82% de dióxido de silício e 12% de ferro respectivamente), nota-se o potencial risco de acúmulo destes metais nas regiões afetadas pelo desastre.

Ainda, apesar de sua importância, ecossistemas aquáticos são considerados os mais ameaçados atualmente (DUDGEON *et al.*, 2005), principalmente devido a perda em biodiversidade (SALA *et al.*, 2000). Em estruturas tróficas a biodiversidade desempenha um importante papel na redundância ecológica e na estabilidade dinâmica dos ecossistemas (THOMPSON *et al.*, 2012), dessa forma, danos causados à biodiversidade podem desencadear perdas importantes de funções e serviços ecossistêmicos como alterações de ciclos biogeoquímicos e processos de decomposição, perda de diversidade genética e mudanças nos processos evolutivos, queda ou aumento excessivo de biomassa que podem gerar prejuízos econômicos e ainda alterações de paisagens e serviços chamados de culturais que contribuem ao bem estar físico e mental da espécie humana (DE GROOT, 2002).

Tendo em vista todos os possíveis perjúrios supracitados que podem ter sido causados pelo desastre ambiental do rompimento da barragem do Fundão no município de Mariana (MG), o maior desastre socioambiental da história brasileira e o maior do mundo envolvendo barragens de rejeitos, ressalta-se a eminente necessidade de trabalhos exploratórios dos efeitos nocivos às comunidades aquáticas da região e estudos que abordem a amplitude dos danos em nível ecossistêmico e com extrapolações às alterações dos serviços ecossistêmicos. Neste

contexto, este trabalho tem sua importância na elucidação de algumas questões sobre o impacto causado por rejeitos de mineração nos ecossistemas aquáticos.

# 3 Objetivos Gerais

Identificar os efeitos da contaminação ambiental por rejeitos de mineração proveniente do rompimento das barragens da mineradora Samarco, em Mariana (MG), para as diversas comunidades aquáticas, considerando a simulação do aporte de rejeitos em modelos ecossistêmicos, bem como verificar a toxicidade dos dois metais presentes em maior concentração no rejeito e em sua mistura binária para *D. magna*.

# 3.1 Objetivos específicos

- 1. Avaliar as alterações nas características físicas, químicas e biológicas (zooplâncton e macroinvertebrados bentônicos) de ecossistemas aquáticos, por meio da simulação em modelos ecossistêmicos (mesocosmos), monitorados antes e após a adição do rejeito.
- Avaliar os efeitos agudos e crônicos causados pela água e sedimento contaminados experimentalmente (mesocosmos) pelo rejeito de mineração da barragem rompida da Samarco, localizada em Mariana (MG), em bioensaios laboratoriais com diferentes organismos-teste.
- 3. Avaliar os efeitos da contaminação do sedimento de ambientes aquáticos de água doce pelo rejeito da barragem do Fundão (Mariana/MG) na emergência e reprodução de mosquitos da espécie *C. riparius*. Bem como verificar a acumulação dos metais Fe e Mn em diversos estágios de vida da espécie.
- 4. Verificar se há resposta aguda (imobilidade) e crônica (reprodução/ biomassa/ bioacumulação) do cladócero *D. magna* exposta aos contaminantes existentes em maior quantidade no rejeito de mineração de Mariana, manganês e ferro isolados e em mistura binária.

# 4 Hipóteses

- 1. A entrada de rejeito de mineração em ecossistemas experimentais causa alterações abióticas e bióticas com potencial de desestruturação dos sistemas aquáticos.
- A contaminação da água e sedimento por rejeito de mineração causa toxicidade aos organismos aquáticos principalmente de forma crônica, alterando a reprodução e crescimento populacional de diferentes organismos pertencentes a diferentes estratos tróficos.
- 3. Sedimentos contaminados pelo rejeito da barragem do Fundão (Mariana/MG) causam efeitos nocivos à reprodução e desenvolvimento de mosquitos da espécie *C. riparius* bem como tem potencial de bioacúmulo nas fases de desenvolvimento do organismo.
- 4. Os metais encontrados em maiores proporções no rejeito contaminante, manganês e ferro, apesar de serem essenciais ao desenvolvimento dos organismos vivos, em mistura binária causam efeitos letais e subletais à *D. magna* e são passíveis de acúmulo na cadeia trófica.

### Referências

AGUIAR, Valquíria Maria de Carvalho; NETO, José Antônio Baptista; QUARESMA, Valéria da Silva; BASTOS, Alex Cardoso; ATHAYDE, João Pedro Moreno De. Bioavailability and ecological risks of trace metals in bottom sediments from Doce river continental shelf before and after the biggest environmental disaster in Brazil: The collapse of the Fundão dam. **Journal of Environmental Management**, [S. l.], v. 272, p. 111086, 2020. DOI: 10.1016/J.JENVMAN.2020.111086.

ALEXANDER, David. Northern Italian dam failure and mudflow, July 1985. **Disasters**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 3–7, 1986. DOI: 10.1111/J.1467-7717.1986.TB00560.X. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1467-7717.1986.tb00560.x. Acesso em: 1 abr. 2022.

ALMEIDA, Cristiane Aparecida; OLIVEIRA, André Fernando De; PACHECO, Anderson Almeida; LOPES, Renata Pereira; NEVES, Antônio Augusto; LOPES RIBEIRO DE QUEIROZ, Maria Eliana. Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin – Brazil. **Chemosphere**, [S. l.], v. 209, p. 411–420, 2018. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2018.06.071.

ALMEIDA, Cristiane Aparecida; OLIVEIRA, André Fernando De; PACHECO, Anderson Almeida; LOPES, Renata Pereira; NEVES, Antônio Augusto; LOPES RIBEIRO DE QUEIROZ, Maria Eliana. Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin — Brazil. **Chemosphere**, [S. l.], v. 209, p. 411–420, 2018. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2018.06.071.

ANDRADES, Ryan; GUABIROBA, Helder C.; HORA, Maik S. C.; MARTINS, Rebeka F.; RODRIGUES, Vitor L. A.; VILAR, Ciro C.; GIARRIZZO, Tommaso; JOYEUX, Jean Christophe. Early evidences of niche shifts in estuarine fishes following one of the world's largest mining dam disasters. **Marine Pollution Bulletin**, [S. l.], v. 154, n. January, 2020. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020.111073.

BENASSI, J. C.; LAUS, R.; GEREMIAS, R.; LIMA, P. L.; MENEZES, C. T. B.; LARANJEIRA, M. C. M.; WILHELM-FILHO, D.; FÁVERE, V. T.; PEDROSA, R. C. Evaluation of remediation of coal mining wastewater by chitosan microspheres using biomarkers. **Archives of environmental contamination and toxicology**, [S. l.], v. 51, n. 4, p. 633–640, 2006. DOI: 10.1007/S00244-005-0187-4. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16988869/. Acesso em: 31 mar. 2022.

BENEDICTO, J.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, C.; CAMPILLO, J. Induction of metallothioneins in Mullus barbatus as specific biomarker of metal contamination: A field study in the western Mediterranean. **Ciencias Marinas**, [S. l.], v. 31, n. 1 B, p. 265–274, 2005. DOI: 10.7773/CM.V31I12.89.

BESSER, John M.; BRUMBAUGH, William G.; ALLERT, Ann L.; POULTON, Barry C.; SCHMITT, Christopher J.; INGERSOLL, Christopher G. Ecological impacts of lead mining on Ozark streams: toxicity of sediment and pore water. **Ecotoxicology and environmental safety**, [S. l.], v. 72, n. 2, p. 516–526, 2009. DOI: 10.1016/J.ECOENV.2008.05.013.

BONECKER, Ana Cristina Teixeira *et al.* An integrated study of the plankton community after four years of Fundão dam disaster. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150613.

BORTOLOTTO, Tiago; SAVI, Geovana D.; PICH, Claus T. Influência da mineração de carvão na toxicidade das águas superficiais do Rio Molha, Urussanga, SC | Bortolotto | Tecnologia e Ambiente. **Tecnologia e ambiente**, [S. l.], v. 3, 2007. Disponível em: http://periodicos.unesc.net/tecnoambiente/article/view/954. Acesso em: 31 mar. 2022.

BOULARBAH, Ali; SCHWARTZ, Christophe; BITTON, Gabriel; ABOUDRAR, Wafae; OUHAMMOU, Ahmed; MOREL, Jean Louis. Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. **Chemosphere**, [S. l.], v. 63, n. 5, p. 811–817, 2006. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2005.07.076.

BRUGGE, Doug; DELEMOS, Jamie L.; BUI, Cat. The Sequoyah Corporation fuels release and the Church Rock spill: Unpublicized nuclear releases in American Indian communities. **American Journal of Public Health**, [S. l.], v. 97, n. 9, p. 1595–1600, 2007. DOI: 10.2105/AJPH.2006.103044. Disponível em: https://ajph.aphapublications.org/doi/full/10.2105/AJPH.2006.103044. Acesso em: 1 abr. 2022.

BRULAND, Kenneth W.; DONAT, John R.; HUTCHINS, David A. Interactive influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic waters. **Limnology and Oceanography**, [S. l.], v. 36, n. 8, p. 1555–1577, 1991. DOI: 10.4319/LO.1991.36.8.1555.

BUCH, Andressa Cristhy; SAUTTER, Klaus Dieter; MARQUES, Eduardo Duarte; SILVA-FILHO, Emmanoel Vieira. Ecotoxicological assessment after the world's largest tailing dam collapse (Fundão dam, Mariana, Brazil): effects on oribatid mites. **Environmental Geochemistry and Health**, [S. l.], v. 42, n. 11, p. 3575–3595, 2020. DOI: 10.1007/s10653-020-00593-4. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10653-020-00593-4.

CAETANO, Alessander Lopes; DE PÁDUA, Maxwell Pereira; POLO, Marcelo; PASQUAL, Moacir; PEREIRA, Fabricio José. Growth, anatomy, and gas exchange of Cenostigma pluviosum cultivated under reduced water levels in iron mining tailings. **Journal of Soils and Sediments**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 381–391, 2022. DOI: 10.1007/s11368-021-03060-4. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11368-021-03060-4.

CALLENDER, E. Heavy Metals in the Environment-Historical Trends. **Treatise on Geochemistry**, [S. l.], v. 9–9, p. 67–105, 2003. DOI: 10.1016/B0-08-043751-6/09161-1.

CARMO, Flávio Fonseca Do *et al.* Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. **Perspectives in Ecology and Conservation**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 145–151, 2017. DOI: 10.1016/J.PECON.2017.06.002.

CIMINELLI, Virgínia S. T.; GOMES, Áurea D. Princípios da cianetação. **Extração de ouro: princípios, tecnologia e meio ambiente.**, [S. l.], p. 277- 305., 2002. Disponível em: http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/handle/cetem/1233/extracao-ouro cap.11.pdf?sequence=1. Acesso em: 1 abr. 2022.

COELHO, Daniel Gomes; MARINATO, Claudio Sergio; DE MATOS, Letícia Paiva; DE ANDRADE, Heloísa Monteiro; DA SILVA, Vinicius Melo; NEVES, Pedro Henrique Santos; DE OLIVEIRA, Juraci Alves. Evaluation of Metals in Soil and Tissues of Economic-Interest Plants Grown in Sites Affected by the Fundão Dam Failure in Mariana, Brazil. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 596–607, 2020. DOI: 10.1002/ieam.4253. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1002/ieam.4253.

COSTA, Patrícia Gomes; MARUBE, Liziane Cardoso; ARTIFON, Vanda; ESCARRONE, Ana Laura; HERNANDES, Juliana Carriconde; ZEBRAL, Yuri Dornelles; BIANCHINI, Adalto. Temporal and spatial variations in metals and arsenic contamination in water, sediment and biota of freshwater, marine and coastal environments after the Fundão dam failure. **Science of the Total Environment**, *JS. l. J.*, v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151340.

COUTO, Fernanda Resende; FERREIRA, Angela de Mello; PONTES, Patrícia Procópio; MARQUES, Andréa Rodrigues. Physical, chemical and microbiological characterization of the soils contaminated by iron ore tailing mud after Fundão Dam disaster in Brazil. **Applied Soil Ecology**, [S.

l.], v. 158, n. April 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103811.

DA SILVA JUNIOR, Carlos Antonio; COUTINHO, Andressa Dias; DE OLIVEIRA-JÚNIOR, José Francisco; TEODORO, Paulo Eduardo; LIMA, Mendelson; SHAKIR, Muhammad; DE GOIS, Givanildo; JOHANN, Jerry Adriani. Analysis of the impact on vegetation caused by abrupt deforestation via orbital sensor in the environmental disaster of Mariana, Brazil. **Land Use Policy**, [S. l.], v. 76, n. April, p. 10–20, 2018. DOI: 10.1016/j.landusepol.2018.04.019.

DAM, Rick Van; HOGAN, Alicia; HARFORD, Andrew; MARKICH, Scott. Toxicity and metal speciation characterisation of waste water from an abandoned gold mine in tropical northern Australia. **Chemosphere**, [S. l.], v. 73, n. 3, p. 305–313, 2008. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2008.06.011.

DAVILA, Rafael Biscotto; FONTES, Mauricio Paulo Ferreira; PACHECO, Anderson Almeida; FERREIRA, Matheus da Silva. Heavy metals in iron ore tailings and floodplain soils affected by the Samarco dam collapse in Brazil. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 709, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.136151.

DE PÁDUA, Maxwell Pereira; CAETANO, Alessander Lopes; POLO, Marcelo; PASQUAL, Moacir; PEREIRA, Fabricio José. Ecophysiological Responses of Copaifera langsdorffii Grown in Mining Tailings Under Lower Water Availability. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. l.], v. 232, n. 2, 2021. DOI: 10.1007/s11270-021-05037-y.

ESTEVES, Gisele de Fátima; BRESSANIN, Leticia Aparecida; DE SOUZA, Kamila Rezende Dázio; DA SILVA, Adriano Bortolotti; MANTOVANI, José Ricardo; MARQUES, Daniele Maria; MAGALHÃES, Paulo César; PASQUAL, Moacir; DE SOUZA, Thiago Corrêa. Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 27, n. 31, p. 38662–38673, 2020. b. DOI: 10.1007/s11356-020-10013-w.

FERNANDES, Geraldo Wilson *et al.* Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza e Conservação**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 35–45, 2016. DOI: 10.1016/j.ncon.2016.10.003.

FERREIRA, Amanda D.; QUEIROZ, Hermano M.; KANEAGAE, Maira P.; NÓBREGA, Gabriel N.; OTERO, Xosé L.; BERNARDINO, Ângelo F.; FERREIRA, Tiago O. Gypsum amendment induced rapid pyritization in fe-rich mine tailings from doce river estuary after the Fundão dam collapse. **Minerals**, *[S. l.]*, v. 11, n. 2, p. 1–13, 2021. a. DOI: 10.3390/min11020201.

FIGUEIREDO, Marina Duarte; LAMEIRAS, Fernando Soares; ARDISSON, José Domingos; ARAUJO, Maria Helena; TEIXEIRA, Ana Paula de Carvalho. Tailings from Fundão Tragedy: Physical—Chemical Properties of the Material That Remains by Candonga Dam. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 636–642, 2020. DOI: 10.1002/jeam.4227.

FUNGARO, Denise Alves; IZIDORO, Juliana De Carvalho. Remediação de drenagem ácida de mina usando zeólitas sintetizadas a partir de cinzas leves de carvão. **Química Nova**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 735–740, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000400019. Disponível em: http://www.scielo.br/j/qn/a/Fs6456qt5DvCkP9gtFTMtqG/?lang=pt. Acesso em: 31 mar. 2022.

GARNIER, J.; QUANTIN, C.; MARTINS, E. S.; BECQUER, T. Solid speciation and availability of chromium in ultramafic soils from Niquelândia, Brazil. **Journal of Geochemical Exploration**, [S. l.], v. 88, n. 1–3, p. 206–209, 2006. DOI: 10.1016/J.GEXPLO.2005.08.040.

GIONGO, Adriana *et al.* Adaption of microbial communities to the hostile environment in the Doce River after the collapse of two iron ore tailing dams. **Heliyon**, [S. l.], v. 6, n. 8, 2020. DOI:

10.1016/j.heliyon.2020.e04778.

GOMES, L. C. *et al.* Genotoxicity effects on Geophagus brasiliensis fish exposed to Doce River water after the environmental disaster in the city of Mariana, MG, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, *[S. l.]*, v. 79, n. 4, p. 659–664, 2018. DOI: 10.1590/1519-6984.188086. Disponível em: http://www.scielo.br/j/bjb/a/vKSr8WtvMHVRnyf9CSZphHH/abstract/?lang=en. Acesso em: 31 mar. 2022.

GUERRA, Marcelo Braga Bueno; TEANEY, Brian T.; MOUNT, Brianna J.; ASUNSKIS, Daniel J.; JORDAN, Brennan T.; BARKER, Ryan J.; SANTOS, Eliana E.; SCHAEFER, Carlos Ernesto G. R. Post-catastrophe Analysis of the Fundão Tailings Dam Failure in the Doce River System, Southeast Brazil: Potentially Toxic Elements in Affected Soils. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. l.], v. 228, n. 7, 2017. DOI: 10.1007/s11270-017-3430-5.

HARDERJR., Leslie F.; STEWART, Jonathan P. Failure of Tapo Canyon Tailings Dam. **Journal of Performance of Constructed Facilities**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 109–114, 1996. DOI: 10.1061/(ASCE)0887-3828(1996)10:3(109). Disponível em: https://ascelibrary.org/doi/abs/10.1061/%28ASCE%290887-3828%281996%2910%3A3%28109%29. Acesso em: 1 abr. 2022.

HATJE, Vanessa; PEDREIRA, Rodrigo M. A.; DE REZENDE, Carlos Eduardo; SCHETTINI, Carlos Augusto França; DE SOUZA, Gabriel Cotrim; MARIN, Danieli Canaver; HACKSPACHER, Peter Christian. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-11143-x.

HUDSON-EDWARDS, Karen A.; MACKLIN, Mark G.; JAMIESON, Heather E.; BREWER, Paul A.; COULTHARD, Tom J.; HOWARD, Andy J.; TURNER, Jon N. The impact of tailings dam spills and clean-up operations on sediment and water quality in river systems: the Ríos Agrio-Guadiamar, Aznalcóllar, Spain. **Applied Geochemistry**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 221–239, 2003. DOI: 10.1016/S0883-2927(02)00122-1.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Laudo técnico preliminar do rompimento da barragem de mariana - Direito Ambiental. 2015. Disponível em: https://www.passeidireto.com/arquivo/21124833/laudo-tecnico-preliminar-do-rompimento-da-barragem-de-mariana. Acesso em: 31 mar. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. **Informacoes e analises da economia mineral brasileira**. [s.l: s.n.]. Disponível em: www.ibram.org.br,. Acesso em: 31 mar. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. **Informacoes e analises da economia mineral brasileira**. [s.l: s.n.]. Disponível em: www.ibram.org.br,. Acesso em: 31 mar. 2022.

LATTUADA, R. M.; MENEZES, C. T. B.; PAVEI, P. T.; PERALBA, M. C. R.; DOS SANTOS, J. H. Z. Determination of metals by total reflection X-ray fluorescence and evaluation of toxicity of a river impacted by coal mining in the south of Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 163, n. 2–3, p. 531–537, 2009. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.07.003. Disponível em: https://eurekamag.com/research/052/533/052533038.php. Acesso em: 31 mar. 2022.

MACÊDO, Anderson Kelvin Saraiva; SANTOS, Keiza Priscila Enes Dos; BRIGHENTI, Ludmila Silva; WINDMÖLLER, Cláudia Carvalhinho; BARBOSA, Francisco Antônio Rodrigues; RIBEIRO, Rosy Iara Maciel de Azambuja; SANTOS, Hélio Batista Dos; THOMÉ, Ralph Gruppi. **Histological and molecular changes in gill and liver of fish (Astyanax lacustris Lütken, 1875) exposed to water from the Doce basin after the rupture of a mining tailings dam in Mariana, MG, BrazilScience of the Total Environment, 2020.** DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139505.

MACKLIN, M. G.; BREWER, P. A.; HUDSON-EDWARDS, K. A.; BIRD, G.; COULTHARD, T. J.; DENNIS, I. A.; LECHLER, P. J.; MILLER, J. R.; TURNER, J. N. A geomorphological approach to the management of rivers contaminated by metal mining. **Geomorphology**, [S. l.], v. 79, n. 3–4, p. 423–447, 2006. DOI: 10.1016/J.GEOMORPH.2006.06.024.

MANHÃES, B. M. R. *et al.* Temporal trends of trace elements bioaccumulation by a vulnerable cetacean (Pontoporia blainvillei) before and after one of the largest mining disasters worldwide. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 804, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150196.

MARQUES, Joseane A. *et al.* Biochemical response and metals bioaccumulation in planktonic communities from marine areas impacted by the Fundão mine dam rupture (southeast Brazil). **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150727.

MERÇON, Julia; CABRAL, Dandara Silva; TEIXEIRA, Bárbara Chisté; PEREIRA, Tatiana Miura; BONA, Alliny Magalhães; ARMINI, Catharina Valadares Locateli; AGOSTINHO, Silvia Gabriela do Nascimento; VASCONCELOS, Christiane Mileib; GOMES, Levy Carvalho. Seasonality effects on the metal concentration and biochemical changes in Astyanax lacustris (Teleostei: Characiformes) from Doce River after the collapse of the Fundão dam in Mariana, Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S. l.], v. 89, n. November 2021, 2022. DOI: 10.1016/j.etap.2021.103777.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **RESOLUÇÃO CONAMA No 420**. 2009. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2017/09/resolucao-conama-420-2009-gerenciamento-de-acs.pdf. Acesso em: 31 mar. 2022.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **RESOLUÇÃO CONAMA Nº 357**, DE 17 DE MARÇO DE 2005. Disponível em: http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO\_CONAMA\_n\_357.pdf

OMACHI, Claudia Y.; SIANI, Sacha M. O.; CHAGAS, Felipe M.; MASCAGNI, Mario L.; CORDEIRO, Marcelle; GARCIA, Gizele D.; THOMPSON, Cristiane C.; SIEGLE, Eduardo; THOMPSON, Fabiano L. Atlantic Forest loss caused by the world's largest tailing dam collapse (Fundão Dam, Mariana, Brazil). **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [S. l.], v. 12, n. April, p. 30–34, 2018. DOI: 10.1016/j.rsase.2018.08.003.

PINTO-COELHO, R. M.; VIEIRA, E. M.; PIO, F. P. B; ALMEIDA, V. F. SANTOS, R. E. Atlas das barragens de mineração em Minas Gerais. Caderno de Geografia, [S. 1] v. 3, n. Especial 1, p. 208-259, 2021. Disponível em: http://periodicos.pucminas.br/index.php/geografia/article/view/25544/17780. Acesso em 13 nov. 2022.

QUADRA, Gabrielle R. *et al.* Far-reaching cytogenotoxic effects of mine waste from the Fundão dam disaster in Brazil. **Chemosphere**, [S. l.], v. 215, p. 753–757, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.104.

QUARESMA, V. S.; AGUIAR, V. M. C.; BASTOS, A. C.; OLIVEIRA, K. S.; VIEIRA, F. V.; SÁ, F.; BAPTISTA NETO, J. A. The impact of trace metals in marine sediments after a tailing dam failure: the Fundão dam case (Brazil). **Environmental Earth Sciences**, [S. l.], v. 80, n. 17, 2021. DOI: 10.1007/s12665-021-09817-x.

QUEIROZ, Hermano M.; FERREIRA, Tiago O.; BARCELLOS, Diego; NÓBREGA, Gabriel N.; ANTELO, Juan; OTERO, Xosé L.; BERNARDINO, Angelo F. From sinks to sources: The role of Fe oxyhydroxide transformations on phosphorus dynamics in estuarine soils. **Journal of Environmental Management**, *J. S. l. J.*, v. 278, n. October 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.111575.

RICO, M.; BENITO, G.; DÍEZ-HERRERO, A. Floods from tailings dam failures. Journal of

**Hazardous Materials**, [S. l.], v. 154, n. 1–3, p. 79–87, 2008. DOI: 10.1016/J.JHAZMAT.2007.09.110.

ROESER, Hubert Matthias Peter; ROESER, Patricia Angelika. O Quadrilátero Ferrífero - MG, Brasil: aspectos sobre sua história, seus recursos minerais e problemas ambientais relacionados. **Geonomos**, [S. l.], 2013. DOI: 10.18285/GEONOMOS.V18I1.67.

RUDOLPH, Tobias; COLDEWEY, Wilhelm G. Implications of Earthquakes on the Stability of Tailings Dams. [S. l.], [s.d.]. Disponível em: http://www.angeo.uni-muenster.de. Acesso em: 1 abr. 2022.

RUDOLPH, William E. The Lakes of Potosi. **Geographical Review**, [S. l.], v. 26, n. 4, p. 529, 1936. DOI: 10.2307/209714.

RUHL, Laura; VENGOSH, Avner; DWYER, Gary S.; HSU-KIM, Heileen; DEONARINE, Amrika; BERGIN, Mike; KRAVCHENKO, Julia. Survey of the potential environmental and health impacts in the immediate aftermath of the coal ash spill in Kingston, Tennessee. Environmental Science and Technology, 43, 6326-6333, 2009. DOI: IS. l.], 16. v n. p. 10.1021/ES900714P/SUPPL\_FILE/ES900714P\_SI\_001.PDF. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es900714p. Acesso em: 1 abr. 2022.

RUYTERS, Stefan; MERTENS, Jelle; VASSILIEVA, Elvira; DEHANDSCHUTTER, Boris; POFFIJN, André; SMOLDERS, Erik. The red mud accident in Ajka (Hungary): Plant toxicity and trace metal bioavailability in red mud contaminated soil. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 45, n. 4, p. 1616–1622, 2011. DOI: 10.1021/ES104000M/SUPPL\_FILE/ES104000M\_SI\_001.PDF. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es104000m. Acesso em: 1 abr. 2022.

SAMARCO MINERAÇÃO. RADA-Relatório de Avaliação do Desempenho Ambiental Barragem Fundão SAMARCO MINERAÇÃO RADA RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO AMBIENTAL Barragem de Fundão Tipo do Documento Município Data Área Volume RADA Mariana-MG Abril/2013 Barragem Fundão Único. Brasil. Disponível em: http://www.siam.mg.gov.br/siam/lc/2013/0001519840952013/7086862013.pdf. Acesso em: 31 mar. 2022.

SANTANA, Genilson Pereira; BARRONCAS, Priscila de Souza Rosa. Estudo de metais pesados (Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn) na Bacia do Tarumã-Açu Manaus (AM). **Acta Amazonica**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 111–118, 2007. DOI: 10.1590/s0044-59672007000100013.

SANTOS, Elisabeth C. de Oliveira *et al.* Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia: síntese dos estudos do Instituto Evandro Chagas/FUNASA. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 171–185, 2003. DOI: 10.1590/S1415-790X2003000200010. Disponível em: http://www.scielo.br/j/rbepid/a/3PmZtFcYhht3nLRS8T9BFgK/?lang=pt. Acesso em: 31 mar. 2022.

SANTOS, Eugênia Moreira; NALINI, Hermínio Arias; ABREU, Adriana Trópia; NOGUEIRA, Leonardo Brandão. Mobilization of heavy metals in river sediments from the region impacted by the Fundão dam rupture, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, [S. l.], v. 80, n. 24, 2021. a. DOI: 10.1007/s12665-021-10107-9.

SCHETTINI, Carlos A. F.; HATJE, Vanessa. The Suspended Sediment and Metals Load from the Mariana's Tailing Dam Failure to the Coastal Sea. **Integrated Environmental Assessment and Management**, *J. S. l. J.*, v. 16, n. 5, p. 661–668, 2020. a. DOI: 10.1002/ieam.4274.

SEGURA, Fabiana Roberta et al. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento

Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 218, p. 813–825, 2016. a. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.08.005.

SILVA, Alessandro Costa Da; VIDAL, Mariângela; PEREIRA, Madson Godoi. Impactos ambientais causados pela mineração e beneficiamento de caulim. **Rem: Revista Escola de Minas**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 133–136, 2001. DOI: 10.1590/S0370-44672001000200010. Disponível em: http://www.scielo.br/j/rem/a/BhDY5L7mHb7J3STpqp89sfp/abstract/?lang=pt. Acesso em: 31 mar. 2022.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SEGURANÇA DE BARRAGENS SNISB. **Relatório de Segurança de Barragens (RSB) - Exercício 2011**. 2011. Disponível em: https://www.snisb.gov.br/relatorio-anual-de-seguranca-de-barragem/2011. Acesso em: 1 abr. 2022.

VANELI, Bruno Peterle; ARAÚJO, Eliane Meire de Souza; DE OLIVEIRA, Daniel Ben Hur Silva; SPAGNOL, Izabela Tavares; TEIXEIRA, Edmilson Costa. Conceptual model to analyze the effects caused by technological disaster on the physical-chemical state of the lower Doce River waters, Brazil. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 809, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.152168.

Capítulo II: Alterações estruturais da comunidade zooplanctônica após exposição ao rejeito da Barragem do Fundão (Mariana, MG, Brasil): um experimento em mesocosmos

#### Resumo

Após o rompimento da Barragem do Fundão, em Mariana (MG/Brasil), a região ganhou visibilidade e atenção que anteriormente não possuía, mesmo sendo cenário da maior exploração de ferro do país. Devido a este fato, existem poucos estudos que contemplem uma maior análise das comunidades bióticas que foram atingidas pelo desastre. No entanto, estudos após o desastre indicam efeitos significativos sobre a estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos, associados ao aporte do rejeito e as alterações ambientais decorrentes. Nesse contexto, procurou-se avaliar as alterações nas características físicas, químicas e biológicas (zooplâncton e macroinvertebrados bentônicos) de exemplos de ecossistema aquático, por meio da simulação em modelos ecossistêmicos (mesocosmos), que foram monitorados quanto a alterações físico-quimicas além de riqueza, abundância e diversidade de espécies além da composição das comunidades antes e após a adição do rejeito coletado em áreas atingidas pelo rompimento da Barragem do Fundão. Pelos resultados obtidos, verificase que as maiores alterações ocorreram nos valores de turbidez, condutividade, material em suspensão e nutrientes dissolvidos. Em relação às comunidades biológicas, ambas sofreram alterações na sua composição e densidade após a adição do rejeito. Para os macroinvertebrados, foram verificadas diferenças em cada unidade experimental, incluindo o aparecimento e permanência de espécies mais resistentes e generalistas (T3), presença dos grupos funcionais dos coletores e catadores (T5) e ausência de variação dos táxons (T6), o que foi relacionado com diferenciação estrutural de cada mesocosmo, principalmente em relação à maior diversidade de macrófitas previamente instalada. Na comunidade de zooplâncton, verificou-se redução na riqueza e dominância, além do aumento da abundância, diversidade e equitabilidade (T3), aumento da riqueza de táxons (T5) e redução da dominância, aumento da diversidade e equitabilidade em T6, sendo que muitas das alterações foram relacionadas com aumento da turbidez, redução de oxigênio dissolvido e variações nas concentrações de nutrientes, especialmente de nitrito e íon amônio. Conclui-se que o aporte do rejeito nos ecossistemas aquáticos experimentais contribuiu para as alterações nas características limnológicas e, consequentemente, na organização estrutural e funcional das comunidades. Verifica-se, ainda, que os efeitos são mais evidenciados em sistemas menos complexos, principalmente quando se considera a diversificação de habitats decorrentes da biomassa de macrófitas aquáticas. Apesar de ser uma avaliação reduzida/experimental, os resultados indicam o potencial do rejeito em causar danos estruturais e funcionais nos ecossistemas aquáticos em escala real.

Palavras-chave: mesocosmos, rompimentos de barragem, zooplâncton, macroinvertebrados

# 1 Introdução

Por sua grande riqueza mineral, o Brasil é um país com intensa contribuição da atividade mineradora, incluindo o Estado de Minas Gerais. Os municípios de Belo Horizonte, Itabira, Ouro Preto e Congonhas fazem parte do chamado "quadrilátero ferrífero", que, devido a sua formação geológica rica principalmente em itabirito, contém 66% do total de ferro do país, sendo a maior reserva deste metal no Brasil (ROESER & ROESER, 2010). Nessa região, a Empresa Samarco, pertencente à Companhia Vale do Rio Doce, e a BHP Billiton, são as responsáveis pela extração e beneficiamento do minério de ferro.

A mineração, de forma geral, é um processo altamente impactante em todas as suas fases (BENEDICTO *et al.*, 2005). Dentre os problemas causados pela atividade extrativista estão a poluição da água e do solo por subprodutos da extração, poluição do ar, poluição sonora, subsidência do terreno, incêndios causados pelo carvão e rejeitos radioativos. No Brasil, cerca de 20% de casos destes problemas acontecem na região sudeste, mais especificamente em Minas Gerais (FERNANDES *et al.*, 2014). Os subprodutos não úteis gerados neste processo de obtenção de minério é chamado de rejeito e estes usualmente, são estocados em barragens até que passe por processos de purificação para, então, ser recirculado no ambiente. No estado de Minas Gerais as barragens são a principal forma de disposição de rejeitos, armazenando em torno de 85% do produzido na região. No entanto, barragens de grande porte são pouco seguras e suscetíveis a infiltrações no solo, vazamentos e até mesmo rompimentos, como ocorrido no munícipio de Mariana/MG em novembro de 2015, sendo reconhecido como "o desastre ambiental de Mariana".

Rompimentos de barragens de mineração são registrados desde 1626 quando a barragens de San Ildefonso (Potosi), na Bolívia, liberaram prata e mercúrio (subprodutos da exploração de sulfureto) no ambiente, deixando inúmeros mortos, destruindo bairros inteiros, fábricas locais e áreas indígenas (RUDOLPH, 1936). Uma série de outros rompimentos ocorridos pelo mundo podem ser citados (ver em RUDOLPH & COLDEWEY, 1971; ALEXANDER, 1986; HARDER & STEWART 1996; BRGM 2000; DAVIES *et al.*, 2000; FOURIE *et al.*, 2001; ICOLD 2001; HUDSON-EDWARDS *et al.*, 2003; BRUGGE *et al.*, 2007; RUHL *et al.*, 2009; RUYTERS *et al.*, 2011), inclusive no Brasil (ver em HOLANDA, 2003; VIOLA, 2013; CRUZ, 2014, VALE; KIEFER, 2019); porém, desastres de grande porte como os ocorridos em Mariana e Brumadinho (MG), não haviam sido antes reportados no Brasil.

O rompimento da Barragem do Fundão, uma das três barragens de contenção de rejeito de mineração localizada em Bento Rodrigues, subdistrito de Mariana (MG), despejou no ambiente aproximadamente 50 milhões de metros cúbicos de uma mistura de rejeitos sólidos e líquido, formando uma lama que, literalmente, encobriu ecossistemas inteiros. Segundo estudos, foram 1176,6 hectares somente de área ribeirinha cobertos por lama, sendo 457,6 hectares de Floresta Atlântica, além de que se estima uma redução de 13% da vegetação local nas adjacências do rompimento da barragem e de mais de 68% em área de corpos hídricos (JUNIOR, 2018; OMACHI, 2018). A onda de lama percorreu quase 700 km entre Minas Gerais e Espírito Santo em 16 dias quando atingiu a foz do rio Doce no oceano Atlântico inserindo os últimos 16 milhões de metros cúbicos de rejeito no mar (SILVEIRA et al., 2017; COIMBRA et al., 2020). Ressalta-se que esse grande volume de rejeito, em seu percurso, se depositou sobre o solo, sedimento de rios e lagoas de água doce, ecossistemas salobros como o mangue e ecossistemas costeiros como praias e ambientes de água salgada (BUCH et al., 2020; SANTOS et al., 2021; COSTA et al., 2022). Segundo estudos (GUERRA et al., 2017; SCHETTINI et al., 2020; DAVILA et al., 2020; FERREIRA, 2021), a lama continha concentrações elevadas de metais como Fe, Al e Mn, dentre outros (Pb, Zn, Cd, Ba, Cr, Cu, Ni, V, As, Co e Hg) e, além disso, foram observadas variações significativas em parâmetros físicos e químicos nos ambientes afetados pelo aporte deste material nos ambientes aquáticos, como alterações no pH (SANTANA et al., 2021) e turbidez (FOESCH et al., 2020; VANELI, et al., 2022), dentre outros. Portanto, tendo vista que a entrada de metais e outros compostos no sistema, bem como variações bruscas nas características físicas e químicas, são fatores que afetam diretamente a letalidade, comportamento, reprodução e fisiologia dos organismos aquáticos (BRULAND et al., 1991; NOGUEIRA, 2007; GOMES, et al., 2019; GIROTO et al., 2020; MACÊDO et al., 2020), verifica-se as inegáveis mudanças, provavelmente negativas, que os ambientes aquáticos adjacentes sofreram pós-desastre. Nesse contexto, o presente trabalho procurou avaliar quais possíveis mudanças estruturais ocorreram após a contaminação pelo rejeito para duas comunidades aquáticas importantes – zooplâncton e macroinvertebrados – e quais os fatores físicos e químicos envolvidos nessas alterações, suprindo um pouco a carência de informações sobre os efeitos imediatos do rejeito sobre os ambientes aquáticos, utilizando-se de modelos ecossistêmicos (mesocosmos).

A procura por modelos nos estudos ecossistêmicos é inerente aos pesquisadores da área da ecotoxicologia, pois estes possibilitam a interpretação dos resultados baseada em padrões observáveis que, por sua vez, devem representar ao máximo a realidade natural do ecossistema (LUCINDA, 2007). Portanto, não só os organismos testados devem ser levados

em consideração, mas também o meio em que estes se encontram. Neste contexto, tem-se utilizado, os "modelos ecossistêmicos" (LUCINDA, 2007), chamados de microcosmos e mesocosmos, como proposto por ODUM (1984), em uma forma de representação do macrocosmo, ou seja, do ambiente natural. Assim, as partes (populações) e o todo (ecossistema) podem ser estudados simultaneamente (ODUM, 1984).

A comunidade zooplanctônica ocupa posição central na cadeia trófica aquática (CZECH et al., 2014). Além disso, tanto zooplâncton quanto macroinvertebrados aquáticos são considerados ótimos bioindicadores de qualidade ambiental, uma vez que estes são mais sensíveis aos compostos tóxicos e às alterações ambientais. Uma vez que estudos em nível de comunidades quando realizados em campo podem ser ecologicamente mais relevantes que os estudos laboratoriais (CLEMENTS, 2000), nota-se a relevância na utilização destes modelos juntamente à escolha de comunidades aquáticas representativas nos estudos de impacto por desastres ambientais, possibilitando, assim, a observação holística do sistema afetado em escala possível de ser interpretada e concomitantemente extrapolada ao ambiente real.

## 2 Metodologia

## 2.1 Mesocosmos

Para este experimento foram utilizadas unidades experimentais (três caixas de água de polietileno, com 1,75 cm de diâmetro na abertura superior, 1,43 cm de diâmetro de base e 1,05 cm de altura (mesocosmos), com capacidade de armazenamento de 1.500 L), que já estavam previamente montadas desde 2012 no Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CRHEA), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), da Universidade de São Paulo (USP). Os mesocosmos estavam enterrados, com 20 cm de sua porção superior ficando acima do solo, evitando a contribuição da água da chuva. Para evitar entrada de animais, os mesocosmos foram circundados com tela plástica, o mesmo ocorrendo com toda a área experimental. Cada mesocosmo continha uma camada de aproximadamente 30 cm de sedimento (trazido de área mais preservada da represa do Lobo, localizada entre os municípios de Itirapina e Brotas/SP), sendo que o preenchimento dos mesmos foi feito com água da represa, via bombeamento, o que contribuiu para a adição das comunidades aquáticas (principalmente fito e zooplâncton). Exemplares das macrófitas aquáticas (*Echinodorus* sp, *Pistia stratiotes, Eicchornia* sp e *Myriophyllum aquaticum*) também foram introduzidos na mesma composição e quantidade em cada mesocosmo. Maiores detalhes da montagem dos

mesocosmos podem ser encontrados em Mendes (2016) e Sanchez (2016), sendo que algumas fotos estão incluídas no Anexo C.

### 2.2 Coleta de rejeito e contaminação

Cinco meses depois de ocorrido o rompimento da barragem de Fundão, as amostras de rejeito, utilizadas neste trabalho, foram coletadas no subdistrito de Paracatu de Baixo, Mariana (MG – Brasil; coordenadas: -20.306229131602585"S, -43.23013901657305"W), segundo subdistrito localizado após a área onde se encontrava a barragem. Neste período, o rejeito encontrava-se seco acima da camada de solo, sendo coletado manualmente com o auxílio de uma enxada, armazenado em sacos plásticos atóxicos e transportados até o NEEA/CRHEA/EESC/USP. O rejeito foi armazenado seco até o dia da contaminação.

Os mesocosmos utilizados no presente trabalho foram monitorados por quatro meses antes da contaminação. Dessa forma, o experimento foi dividido em dois períodos: "précontaminação" e "pós-contaminação". No dia da contaminação, o rejeito seco foi misturado com quantidade suficiente de água de poço artesiano, para que retornasse à condição de lama como era armazenado na barragem rompida, sendo inserida no sistema com a utilização de baldes. A contaminação dos sistemas experimentais foi baseada nos valores de turbidez registrados nos corpos d'água próximos a área da barragem, imediatamente após o desastre. Conforme relatórios do IBAMA (2015), nos ambientes aquáticos mais próximos ao local do desastre foram registrados valores de 800.000 NTU de turbidez, sendo este o cenário reproduzido. Para atingir esse valor, cada sistema recebeu de forma aguda 12 kg de rejeito, o qual foi homogeneizado com água e vertido em cada mesocosmo. Foram montados três sistemas que receberam a mesma quantidade de rejeito, constituindo os tratamentos denominados T3, T5 e T6. As fases temporais de amostragem são descritas a seguir.

### 2.3 Monitoramento e amostragem

Todo monitoramento físico e químico e as amostragens das comunidades (zooplanctônica e assembleia de macroinvertebrados) ocorreram previamente e posteriormente à contaminação, durante um período de 10 meses que constituíram o período de experimentação. As coletas foram iniciadas em abril de 2017 e os períodos amostrais estão subsequentemente divididos em "antes da contaminação" (AC), "dia da contaminação" (C) e "depois da contaminação" (DC). As metodologias de amostragem foram especificas para cada comunidade e serão melhor descritas nas seções subsequentes.

## 2.3.1 Parâmetros físicos e químicos

Para avaliar as mudanças ocorridas após a adição do rejeito, foram monitoradas as seguintes variáveis: potencial hidrogeniônico (pH - potenciômetro Micronal B374), oxigênio dissolvido (oxímetro YSI), condutividade (condutivímetro Orion 145A), turbidez (espectofotometro Hack DR2000), salinidade (condutivímetro 145A), dureza (titulação), nutrientes totais (nitrogênio e fósforo) e dissolvidos (nitrito, nitrato, amônio, fósforo total dissolvido, fosfato total dissolvido, silicato reativo), sólidos suspensos totais e material particulado suspenso (APHA, 2015). Os metais ferro (Fe), Manganês (Mn), Chumbo (Pb), Zinco (Zn) e Cobre (Cu) foram quantificados no sedimento e os metais Ferro (Fe), Manganês (Mn), Chumbo (Pb), Zinco (Zn), Cadmio (Cd) e Alumínio (Al) foram quantificados na água nas fases pré e pós contaminação apenas uma vez considerando-se que, estes são compostos estáveis e que permanecem pouco alterados no espaço de tempo de experimentação deste trabalho (APHA, 2015).

### 2.3.2 Comunidade planctônica

Para a comunidade fitoplanctônica optou-se somente pela análise da produção primária como um processo ecológico importante a ser quantificado, a qual foi determinada com base na metodologia de Wetzel & Likens (1990). Para o zooplâncton, foram coletados 15 litros de água de cada mesocosmo, os quais foram filtrados em rede de malha de 60 µm. O material retido foi coletado em potes de vidro, sendo preservado em formaldeído 4% até o momento da contagem. Excetuando-se os rotíferos, para os demais grupos taxonômicos (cladóceros e copepodos) efetuou-se a contagem da amostra total em placas de acrílico quadriculada do tipo Dolfus adaptada e/ou câmara Bogorov, em microscópio estereoscópio. No caso de rotíferos, realizou-se subamostragem e a contagem foi feita em câmara de Sedgewick-Rafter, sob microscópio binocular. As identificações foram feitas por meio de consulta bibliográfica (ROCHA & MATSUUMURA-TUNDISI, 1976; REID, 1985; MATSUMURA-TUNDISI, 1986; PENNAK, 1989). A periodicidade de amostragem destas comunidades foi variável ao longo do tempo sendo que, de maneira geral, elas foram semanais no período pré-contaminação, no dia da contaminação, novamente semanais imediatamente após a contaminação, quinzenais posteriormente, e foram ficando mais espaçadas se tornando mensais nos últimos meses de experimento. Melhores esclarecimentos de periodicidade serão demonstrados nos resultados específicos de cada grupo.

### 2.3.3 Comunidade de macroinvertebrados

A amostragem dos macroinvertebrados foi feita por meio de estruturas de heterogeneidade comumente utilizadas em experimentos de colonização, visto que geram habitats de qualidade para macroinvertebrados. Estas estruturas foram feitas com redes de náilon contendo pedaços de galhos, folhas e pedras de diferentes tamanhos. No total foram utilizadas 78 estruturas, as quais foram distribuídas igualmente nos três mesocosmos (26 por tanque) um mês antes da primeira amostragem, para que a comunidade pudesse ocupar e se estabelecer nas estruturas de heterogeneidade. A cada amostragem eram retiradas duas réplicas por tratamento e a dinâmica das amostragens consistiu em quatro amostragens anteriores à contaminação com espaçamento semanal, uma amostragem pré-contaminação (dia anterior ao aporte de rejeito) e uma no dia seguinte à contaminação. Posteriormente, foram feitas amostragens semanais por duas semanas e quinzenais por mais dois meses, resultando em 13 amostragens de duas estruturas por tanque. Após as coletas, as estruturas de colonização eram levadas ao laboratório e armazenadas em recipientes de 1 L, fixadas em álcool 70% até o momento da triagem e identificação. Neste momento, as amostras eram lavadas com água corrente utilizando uma peneira de malha 250 µm, para separar o material de maior dimensão utilizado nas estruturas do material particulado e organismos bentônicos (LOPRETTO & TELL, 1995). Posteriormente, cada amostra foi colocada em uma bandeja translúcida de polietileno e, com o auxílio de uma lâmpada fluorescente acoplada (SILVEIRA et al, 2003), os macroinvertebrados foram capturados manualmente a olho nu com o auxílio de pinças e transferidos para eppendorfs com álcool 70%. Após esta etapa de triagem, as amostras dos eppendorfs foram analisadas em microscópio estereoscópico e separados em famílias ou subfamílias. As principais chaves utilizadas foram MUGNAI et al (2010), MCCAFFERTY (1983) adaptado e HAMADA et al (2014), também com o auxílio de MERRITT & CUMMINGS (1996) e CARVALHO & CALIL (2000).

### 2.4 Análises dos dados

A análise de dados foi realizada utilizando o programa estatístico PAST, no qual foram aplicados índices bióticos de riqueza (Taxa\_S), abundância (Indivíduos), dominância (Dominance\_D), diversidade de Shannon (Shannon\_H) e equitabilidade (Equitability\_J). Para a realização desses índices, ambas as comunidades foram classificadas até o nível taxonômico mais refinado possível, sendo que estes também foram aplicados para grupos

funcionais de macroinvertebrados. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. A diferença ente os períodos pré e pós contaminação nos mesocosmos foi verificada por testes t de *Student*, e as diferenças entre os três mesocosmos simultaneamente foram testadas por ANOVA de um fator, seguida de teste de comparações múltiplas de Tukey. A ANOVA também foi aplicada para os parâmetros físico-químicos.

A relação entre os índices bióticos e os parâmetros físicos e químicos foi realizada por meio de uma regressão múltipla, que integra todos os parâmetros FQ como variáveis explicativas (x) com os dados referentes às comunidades (riqueza, abundância, diversidade, dominância e equitabilidade). Todas as análises foram executadas no software Statistica 7.0 (Statsoft, 2004). As variáveis bióticas e físico-químicas foram testadas e selecionadas conforme sua significância e poder explicativo, com significância de 95% (*p*<0,05).

### 3 Resultados e discussão

Os mesocosmos são simuladores ambientais expostos às condições climáticas e de influência ambiental e biótica, assim como os ambientes naturais. Dessa forma, mesmo os mesocosmos sendo construídos simultaneamente e de forma idêntica, as diferenças físicas, químicas e biológicas entre as réplicas surgem no decorrer do tempo, mesmo anteriormente à contaminação, o que também aconteceu neste experimento. No entanto, tal fato foi considerado como uma vantagem, pois com as diferenças estabelecidas entre os mesocosmos foi possível avaliar os efeitos da adição do rejeito em ambientes com estruturas biológicas diferentes entre si. Tendo em vista este cenário, optou-se por fazer a discussão deste artigo tratando mesocosmo como um sistema isolado e individual, denominados T3, T5 e T6. O mesocosmo T3 apresentou maior contribuição da comunidade fitoplanctônica, o que foi avaliado pela forte coloração verde da água e a menor cobertura visível das macrófitas aquáticas, do gênero Utricularia sp (Figura 1), que estavam mais submersas. O mesocosmo T5 apresentou predominância da macrófita enraizada Myriophyllum aquaticum, com cobertura de aproximadamente 30% da superfície de forma esparsa (Figura 2) e no mesocosmo T6 verificou-se a maior cobertura vegetal de macrófitas, com as espécies Eichhornia crassipes e Nymphaea alba cobrindo aproximadamente 65% da superfície do mesocosmo. Além destas, verificou-se a presença dos gêneros Chara e Utricularia na coluna d'agua, as quais abrangeram de 60 a 70% da região mediana do mesocosmos (Figura 3), ou seja, T6 foi uma unidade experimental com maior complexidade ambiental.

### 3.1 Metais

Os metais manganês, chumbo, zinco, ferro, alumínio, cádmio e cobre foram encontrados na água e sedimento das unidades experimentais após a contaminação pelo rejeito. As figuras 4 e 5 reúnem as comparações entre os períodos antes da contaminação e depois da contaminação para ambas as matrizes e para os três mesocosmos. Em ambas as matrizes o metal encontrado em maior quantidade foi o Fe. Na água, o Fe dissolvido foi quantificado em 54,4 mg/L; 61,7 mg/L e 38,3 mg/L em T3, T5 e T6 respectivamente. No sedimento, após a contaminação, estes valores chegaram a 18.043,2 mg/Kg; 14.142,7 mg/Kg e 35.511,3 mg/Kg nos mesmos mesocosmos. Nesta matriz o Mn também foi encontrado em valores elevados: 37,7 mg/Kg em T3; 2,53 mg/Kg em T5 e 5,35 mg/Kg em T6.

A resolução CONAMA (357/2005) estabelece um limite de 0,3mg/L de Fe dissolvido, ou seja, as concentrações registradas nesta pesquisa foram até 206 vezes maiores que o estabelecido. Apesar de não terem sido quantificadas concentrações tão altas de Fe quanto neste estudo, outros autores também observaram valores acima do permitido em diversas áreas atingidas pela lama. FOESCH *et al* (2020), SANTANA (2021) e BONECKER (2022), por exemplo, encontraram concentrações acima de 3mg/L de Fe em águas amostradas no rio Gualaxo do Norte, rio do Carmo e rio Doce. No sedimento, as concentrações variaram de 92,2 a 217 mil mg/Kg de Fe em sedimentos do rio Gualaxo do Norte e do rio do Carmo. Por sua vez o Mn foi encontrado em concentrações entre 53 e 1733 mg/Kg (COUTO *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2021). Apesar da resolução CONAMA (420/2009) não contemplar concentrações aceitáveis de Fe, Mn e Al, nota-se a ordem de grandeza em que estes metais foram encontrados.

Segundo os autores, o rejeito estocado na barragem era composto principalmente de ferro, sílica, alumínio e metais traço como As, Cr, Cd, Hg e Pb (PIRES *et al.* 2003; MORGENSTERN *et al.*, 2016; GOMES *et al.* 2017). E, assim como observado neste estudo, a entrada de rejeitos promoveu aumento nas concentrações de metais/semi-metais na água e sedimentos, incluindo, além dos supracitados, os metais cromo, mercúrio, cobalto, manganês e bário durante a fase aguda (alguns dias) ou durante a fase crônica pós-desastre (HATJE *et al.*, 2017; LONGHINI *et al.*, 2020; SÁ *et al.*, 2021). Neste trabalho, os metais Pb, Zn, Al e Cd foram também quantificados na água, na maioria dos casos, em quantidades maiores que as permitidas em resolução CONAMA (357/2005). No que diz respeito a esta variedade e quantidade de metais observadas em tantos estudos, autores chamam a atenção para as altas

concentrações de metais dissolvidos em pontos próximos ao oceano que podem ser transportados, causando mudanças em outros ecossistemas, e para a presença destes elementos nas frações de fácil remobilização indicam alto risco ecotoxicológico. (SILVA *et al.*, 2018; VIANA *et al.*, 2020).

### 3.2 Comunidade de macroinvertebrados bentônicos

Foram encontrados macroinvertebrados pertencentes às classes Gastropoda e Hirudinea, às ordens Diptera, Odonata, Ephemeroptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera e da subordem Oligochaeta, sendo que esses últimos permaneceram identificados em nível de subordem. A Tabela 1 apresenta a divisão em táxons considerando as quatro classes principais (Hirudinea, Insecta, Gastropoda e Clitellata) e os indivíduos divididos em famílias, subfamília, ordem ou subclasse, a abundância relativa e a dominância de cada categoria. Nota-se que os mesocosmos apresentaram dominância da ordem Oligochaeta, com 59,14% de abundância relativa, seguido das ordens gastropoda (Planorbidae) e Diptera (Chironominae), com 15% e 14,68% de abundância relativa, respectivamente, classificando ambos os táxons como "comuns" nos mesocosmos. Os táxons de menor abundância relativa foram pertencentes as classes Hirudinea (Hirudinea sp.) e Insecta, das ordens Coleóptera (Noteridae), Efemeroptera (Leptophlebiidae), Hemiptera (Notonectidae, Mesovellidae), Lepidoptera (Pyralidae) e Diptera (Orthocladiinae), sendo todos classificados como raros, com 0,03% de abundância relativa.

A Figura 6 demonstra a variação temporal da abundância total em cada coleta, bem como a distribuição e diversidade dos macroinvertebrados em cada mesocosmo durante o período do experimento, exibindo a evolução da dinâmica da comunidade de macroinvertebrados de cada ecossistema ao longo do tempo. É possível observar coletas, após a contaminação, com apenas um ou dois táxons, com redução brusca da diversidade em relação ao período pré-contaminação. A Tabela 2 apresenta, de forma comparativa, a presença e ausência das classes e ordens de macroinvertebrados nos mesocosmos nas fases pré-contaminação e pós-contaminação. A classe Oligochaeta foi a única que apareceu em todos os mesocosmos, em ambos os períodos (pré e pós-contaminação), seguida da ordem Diptera que somente não foi amostrada em T3, na fase pré-contaminação. A classe Hirudinea e a ordem Ephemeroptera foram amostradas apenas em T3, enquanto as ordens Coleoptera e Lepidoptera foram amostradas apenas em T5. Nenhuma Classe ou ordem foi exclusiva de T6. Em número, em T3 verificou-se o aumento de um táxon pós-contaminação, enquanto em T5 ocorreu redução de um táxon e em T6 não houve alteração na fase pós-contaminação.

Em termos de grupos funcionais, foi possível observar em T3 que, embora os mesmos grupos funcionais tenham aparecido – coletores-catadores, raspadores e predadores, foi possível notar que a proporção entre coletores-catadores e raspadores variou entre as coletas, sendo os raspadores mais abundantes no início, depois aumentando a proporção de coletores-catadores e, ao final, retornando a dominância dos raspadores. Além disso, os predadores possuem aparições esporádicas, porém logo desaparecem. Não houve diferença estatisticamente significativa nos índices de Riqueza, Diversidade e Dominância (p>0,05) segundo teste T (Figura 7). Entretanto, em relação ao índice de Equitabilidade, foi verificado que há diferença significativa entre os dados (p<0,05), podendo-se inferir, a partir da média dos dados dos dois períodos, que a equitabilidade do período pós-contaminação é maior que no período anterior, supondo que o aparecimento e permanência de organismos resistentes à perturbações sem oscilações permitiu maior uniformidade na distribuição entre os táxons. Em relação aos grupos funcionais, os testes demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores para os períodos pré e pós contaminação em nenhum dos índices avaliados (p>0,05).

Em T5, em relação aos grupos funcionais, verifica-se apenas a presença de fragmentadores. Diferentemente dos outros mesocosmos contaminados, foi possível observar uma certa estabilidade nos grupos funcionais em T5, visto que o grupo dominante em quase todas as coletas foi o dos coletores-catadores, com alguns aparecimentos de raspadores e predadores, porém não suficientemente expressiva para ocasionar alguma mudança na dinâmica geral. Quanto aos índices biológicos, os dados indicam que não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum dos índices testados para os dados do período antes e após a contaminação (p>0,05). Entretanto, em relação aos grupos funcionais, houve diferença significativa (p<0,05) para o índice de Dominância, sendo que a média de valores do período após a contaminação é maior que no período pré-contaminação (Figura 8).

Em relação aos grupos funcionais do mesocosmo T6, verificou-se a contribuição mais expressiva de raspadores no início do experimento, diminuindo após a contaminação em detrimento do aumento de coletores-catadores, porém, os primeiros foram se estabilizando mais ao fim das coletas. Os predadores apareceram de forma equilibrada, sem afetar os outros dois grupos. No Mesocosmo T6, tanto a nível de análise de dados dos macroinvertebrados em táxons como em grupos funcionais, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum dos índices estudados (p>0,05), provavelmente devido a pouca mudança durante o período do experimento, tanto em diversidade, como em composição (Figura 9).

A Ordem Diptera esteve presente em todos os mesocosmos, principalmente depois da adição do rejeito nos mesocosmos T3 e T6. As espécies pertencentes à Ordem Diptera, em especial da família Chironomidae, normalmente são mais abundantes nos habitats aquáticos, uma vez que possuem diversas estratégias de sobrevivência em situações de alterações ambientais, sendo conhecidas como espécies mais resistentes às perturbações e um dos mais abundantes em ecossistemas aquáticos de menor qualidade (ABÍLIO *et al*, 2005). A presença abundante de quironomídeos, principalmente após a adição do rejeito, pode demonstrar uma tentativa de recolonização do habitat, visto que estes são mais generalistas e normalmente são os primeiros a aparecer em um ecossistema aquático após uma perturbação.

A ordem Ephemeroptera pertence ao grupo denominado EPT (Ephemeroptera-Plecoptera-Trichoptera), grupo de macroinvertebrados mais sensível às mudanças no ecossistema e as perturbações (QUEIROZ et al, 2008). Em geral as espécies pertencentes à ordem Ephemeroptera estão mais bem adaptadas a ambientes conservados e água com altos níveis de oxigênio dissolvido, bem como alta diversidade de habitats. Assim, acabam desaparecendo caso ocorram alterações na estrutura física do ambiente, bem como perda de qualidade da água, como aconteceu em T3. Desta forma, a presença da Ordem Ephemeroptera apenas em períodos anteriores à contaminação pode significar indícios de que a qualidade da água foi alterada após a contaminação, impossibilitando o aparecimento e desenvolvimento dessa ordem, sensível às mudanças no geral. Nota-se ainda que em T3, no período póscontaminação, os organismos encontrados em maior quantidade (e muitas vezes unicamente) são representantes da Classe Gastropoda e Oligochaeta, indicadores de águas de qualidade média a baixa, sendo que nas coletas finais também houve a presença da Ordem Diptera, confirmando tais indícios. Registrou-se, ainda, a presença da Classe Hirudinea após a contaminação. Os Hirudíneos, conjuntamente aos Chironomídeos e Oligochaeta, são indicadores de ambientes impactados e poluídos, principalmente com altos teores de poluentes orgânicos (DEODORO, 2010). O aparecimento dessa Classe, mesmo em baixa densidade, somente após a contaminação por rejeito, é um possível indicador de um ambiente aquático de baixa qualidade.

A baixa presença de organismos predadores pode ser explicada pela consequente sedimentação causada pela contaminação dos mesocosmos. É possível perceber que eles aparecem apenas duas vezes após a contaminação, sendo uma delas um dia depois (26/05), momento em que ainda não havia tempo para a sedimentação gradativa ocorrer. Essa baixa presença de predadores, assim como a sedimentação, favorece a entrada dos grupos como os

coletores-catadores, que se tornaram mais expressivos nos momentos iniciais após a contaminação e recolonização do ambiente (PINTO, 2018).

Embora os grupos Oligochaeta e Diptera tenham sido dominantes em T5, em todo o período do experimento, algumas ordens conseguem prover indícios da dinâmica desse mesocosmo em relação a contaminação. A Ordem Coleoptera apresenta diversidade de função no ecossistema, sendo também utilizados como bioindicadores por serem sensíveis às mudanças ambientais, às quais afetam sua distribuição e abundância (OLIVEIRA *et al*, 2015). Assim, a presença dessa ordem apenas no período anterior à contaminação pode ser um indicador de que a qualidade da água foi alterada após a contaminação, não havendo possibilidade para o aparecimento da mesma posteriormente.

Os fatores que envolvem a presença ou ausência de Lepidopteras são muito mais instáveis e complexos que das outras Ordens, pois este táxon é considerado bioindicador, respondendo rapidamente as perturbações, porém possuem hábitos herbívoros que levam a comportamentos e respostas muitas vezes incertos (OLIVEIRA, 2015; HAMMER *et al*, 1997, KREMEN, 1992). Ainda assim, a presença dessa Ordem em T5, após a contaminação, pode significar um indício de que o ambiente começou um processo de resiliência e retorno à dinâmica inicial. No entanto, para tal afirmação, são necessários outros estudos com diferentes abordagens e mais espécies para verificação se o sistema está se recuperando de fato.

Referente aos grupos funcionais, a presença de fragmentadores observada apenas em T6 pode ser afetada pela sedimentação, ocasionando sua diminuição, porém, visto que estes se alimentam de matéria orgânica, quando os recursos vegetais já sofreram alguma mudança estrutural, é possível que nesse caso o grau de sedimentação possa ter favorecido o aumento da matéria orgânica, tornando o ambiente mais propício para alimentação desse grupo, somado a baixa quantidade de predadores (PINTO, 2018; CUMMINS *et al*, 1989).

Quanto aos índices biológicos, a diferença significativa no índice de dominância em T5 permite inferir que está relacionada ao grupo de coletores- catadores, uma vez que a dominância é maior após a contaminação em relação à pré-contaminação, período no qual este grupo se fez presente em grande abundância nas amostras coletadas.

Dentre todos os mesocosmos, visualmente o mesocosmo T6 foi o que apresentou uma maior riqueza de espécies de macrófitas aquáticas, constituindo-se em um ambiente mais diversificado estruturalmente e funcionalmente para a comunidade zooplanctônica e de macroinvertebrados bentônicos. T6 foi o que apresentou menor variação de táxons entre os períodos pré e pós-contaminação. Isso pode ter ocorrido em função da diversidade de

macrófitas aquáticas e de uma fauna já estabelecida e mais estável previamente à adição do rejeito, tornando mais fácil o estabelecimento de indivíduos bem como a re-colonização do mesmo após a contaminação. Além do mais, a presença de táxons que vivem facilmente em qualquer ambiente, como Diptera, Gastropoda, Odonata e Oligochaeta, em proporções variadas durante o experimento, não demonstra nenhuma característica que indique ambientes modificados ou alguma mudança significativa ao longo do experimento, sendo possível supor que a fauna estabelecida em T6 não foi afetada, uma vez que nunca houve a presença de organismos sensíveis à perturbações. Quanto aos grupos funcionais, pode-se inferir que a maior abundância de coletores-catadores em T6, após a contaminação, pode ter ocorrido devido ao fato destes não serem tão afetados pela sedimentação quanto os raspadores, mais presentes previamente à contaminação, sobrevivendo em ambientes mais degradados.

## 3.3 Comunidade zooplanctônica

A Tabela 3 reúne as espécies de zooplâncton encontradas em todos os mesocosmos amostrados e na Tabela 4 o total de espécies encontradas em cada mesocosmo, além da comparação entre as espécies que estavam presentes antes da contaminação e que não estavam após a contaminação ou vice-versa. Nota-se que as espécies *S. semibulata*, *C. dadayi* e *I. spinifer* estavam presentes em T3, pré-contaminação, e não foram encontradas após a contaminação, bem como *M. scamosa* estava presente no T5 pré-contaminação, mas não estava mais presente após a e e *Arcela sp*, que estavam presentes em T6, pré-contaminação, e ausente na fase pós-contaminação. As espécies *Difflugia sp.*, *P. africana*, *Centropyxis sp*, *Lesquereusia sp. N. inheringi*, *M. elegans*, *Diaphanosoma e C. silvestrii* apareceram em T3 após a contaminação, bem como *L. signifera*, *L. bulla*, *D. cylindrus*, *P. africana*, *Paramecium sp.*, *M. scamosa e Diaphanosoma* ocorreram em T6 após a contaminação. Dessa forma nota-se uma clara alteração na estrutura da comunidade zooplanctonica após o aporte do rejeito.

Comparando-se períodos pré e pós-contaminação, o mesocosmo T3 divergiu significativamente (p<0,05) quanto a riqueza, abundância, dominância de espécies, diversidade e equitabilidade. Neste houve aumento nos índices de riqueza, diversidade e equitabilidade e redução nos índices de dominância e abundância no período pós-contaminação (Figura 10). O mesocosmo T5 divergiu significativamente (p<0,05) quanto à riqueza, tendo este índice se elevado no período pós-contaminação (Figura 11), sendo que o

mesocosmo T6 divergiu significativamente (p<0,05) quanto à diversidade, equitabilidade e dominância de espécies. Os índices de diversidade e equitabilidade se elevaram e a dominância sofreu redução no período pós-contaminação (Figura 12). Todas as três unidades experimentais diferenciaram entre si (p<0,05) quanto a riqueza, diversidade e dominância.

## 3.4 Variáveis físicas e químicas da água

Os parâmetros turbidez, dureza, pH, oxigênio dissolvido e condutividade sofreram aumento após a adição de rejeito nas unidades experimentais. Dentre estes, a turbidez foi a que mais se alterou, sendo que as médias foram de 43 NTU para 425 NTU em T3, de 105,5 NTU para 459 NTU em T5 e de 10 NTU para 142 NTU em T6 aumentando em 10, 4 e 14 vezes, respectivamente, em relação às médias do período pré-contaminação (Figura 13). De fato, outros autores também obtiveram valores de 6690 NTU, 360 NTU e 659 NTU em águas provenientes de regiões atingidas pela lama da bacia do Rio Doce (FOESCH *et al.*, 2020; SANTANA *et al.*, 2021; VANELI *et al.*, 2022). Ainda, FOESCH *et al.* (2020) observou uma correlação direta entre cor e turbidez e o Fe dissolvido nos sistemas amostrados.

A condutividade foi um parâmetro que chamou atenção, uma vez que após a contaminação os valores se mantiveram elevados e não voltaram a normalidade mesmo depois de decorridos cinco meses do *input* de lama, muito provavelmente devido a presença de metais, que são bons condutores e que não se degradam no ambiente. As médias foram de 14,5 μS/cm para 53,6 μS/cm, de 36 μS/cm para 62 μS/cm, de 10 μS/cm para 60 μS/cm, respectivamente em T3, T5 e T, representado aumentos de 3,7; 1,7 e 5,8 vezes comparativamente do período pré para o período pós-contaminação (Figura 14). Dentre as alterações observadas, Viana *et al.* (2020) também observou aumento nos valores de condutividade em águas estuarinas atingidas.

A dureza também apresentou aumento de 1,8; 1,4 e 2,9 vezes, com médias variando de 14,3 para 26,3 mg/L; 23,9 para 34,6 mg/L e 10,4 para 29,9 mg/L (Figura 15). Já a temperatura da água diminuiu após a contaminação, no entanto tal ocorrência teve relação com as estações do ano, já que a contaminação se deu em março e o período experimental se estendeu até novembro de 2016 (Figura 16). Em decorrência da queda de temperatura, os valores de oxigênio dissolvido foram maiores após a contaminação (Figura 17). O pH não sofreu grandes variações, porém, nota-se um aumento deste nos mesocosmos T5 e T6, enquanto T3 permaneceu estável (Figura 18). Sabe-se que valores de pH mais básicos contribuem para a formação de formas mais insolúveis de alguns micronutrientes, tais como o Mn, que acabam

por não ser úteis aos microorganismos (STEVENSON & COLE, 1999). Dessa forma, mesmo presentes, os nutrientes podem não ser viáveis ao sistema.

Em relação aos nutrientes presentes na água, houve, após a contaminação por rejeito, a redução em cerca de duas vezes nas médias de nitrogênio total e o aumento também na mesma proporção de fósforo total (Figura 19). Tal dado corrobora com o obtido por Queiroz et al (2021), que encontraram uma correlação positiva entre enriquecimento de fósforo dada pelo depósito de rejeito rico em Fe em regiões estuarinas do rio Doce. Os autores chamam atenção para o consequente potencial de eutrofização dada por esta mudança. Os valores de nitrogênio total pós contaminação foram: 0,9 mg/L; 2,4 mg/L e 0,5 mg/L e de fósforo total foram: 0,3115 mg/L; 0,4025 mg/L e 0,1556 mg/L para T3, T5 e T6 respectivamente. Em campo, Vaneli et al (2022) chegaram a quantificar até 2,6 mg/L de fósforo na bacia de rio Doce. De fato, sabe-se que as influências antrópicas estão dentre as principais causadoras de mudanças no ciclo de nitrogênio, sendo nocivas à qualidade dos ecossistemas aquáticos (TOWSEND et al., 2004), bem como o fósforo, que é considerado o nutriente principal na produtividade primária e eutrofização de ambientes aquáticos (ESTEVES, 1988). Dessa forma, o presente estudo identificou uma possível alteração em ciclos biogeoquímicos causados pelo input de lama nos sistemas experimentais.

De forma geral, todos os nutrientes dissolvidos sofrearam aumento imediatamente após a contaminação, formando um pico de entrada e subsequente queda por volta de um mês após a contaminação, com exceção da amônia, que permaneceu elevada até o final do período experimental (Figura 20). Diferentemente, outros estudos relataram a deficiência de nutrientes na lama. Andrade *et al* (2018), por exemplo, atribuíram à deficiência de nutrientes o tamanho reduzido das raízes, o baixo rendimento em grãos e a redução de clorofilas e carotenóides em plantações de arroz cultivados em diferentes porcentagens de rejeito. No caso deste estudo, chama-se atenção para os possíveis efeitos danosos provocados pela contaminação ser devido ao desbalanço nutricional onde se observa um período em que o sistema recebeu uma "bomba" de nutrientes, provavelmente devido a altos teores de matéria orgânica decomposta presente no rejeito, seguido de uma deficiência devido a alta taxa de sedimentação do contaminante.

Em relação aos sólidos suspensos, houve aumento de sólidos após a entrada do rejeito nos sistemas, sendo que os maiores aumentos foram de material suspenso inorgânico (médias de 28,6 para 202,5 mg/L; de 70 para 197 mg/L e de 24 para 99,5 mg/L; aumentos de 7, 3 e 4 vezes), condizente com a natureza rica em metais da lama contaminante. O material suspenso orgânico foi reduzido em duas vezes após a contaminação no mesocosmo T3, porém em T5 e

T6 este aumentou em 1,3 e 2 vezes, principalmente nos últimos meses do experimento. As médias foram de 117,3 para 60,8 mg/L; de 120,6 para 165,6 mg/L e de 22,7 para 47,5 mg/L, respectivamente. Já o material suspenso total aumentou em 2, 2 e 3 vezes do período pré para o período pós-contaminação, com médias de 146 mg/L; 191 mg/L e 97 mg/L em T3, T5 e T6 (Figura 21). Valores ainda mais altos, tais como 33.000 mg/L e 646,9 mg/L, foram relatados para águas do rio Gualaxo do Norte e rio do Carmo por outros autores após o rompimento da barragem (HATJE et al., 2017; SANTANA et al., 2021). Tanto o material suspenso total quanto o material suspenso inorgânico mantiveram o mesmo padrão de distribuição na coluna d'agua, com maior aumento no dia da contaminação, retornando à variação típica na semana seguinte. O mesmo não ocorreu para o material suspenso orgânico, que não teve uma entrada bem demarcada no sistema, reduziu em duas vezes a quantidade de matéria orgânica da coluna d'agua e posteriormente, após aproximadamente três meses da contaminação, teve um aumento, provavelmente devido a morte de organismos nas unidades experimentais, tais como as macrófitas. A matéria orgânica dissolvida pode formar complexos com metais e aumentar seu tempo de residência na coluna de água (VIANA et al., 2020). Além disso, podem se ligar a metais alterando sua especiação, toxicidade e efeitos na biota (MAIA et al., 2009).

A produtividade primária, tanto líquida quanto bruta, sofreu redução com a contaminação pela lama em todos os mesocosmos, exceto a produtividade primária bruta do mesocosmo T6 que foi, em média, duas vezes maior após a entrada de rejeito no sistema devido as taxas negativas de respiração e produtividade primária líquida neste mesocosmo (Figura 22). A produção autotrófica forma uma das bases da cadeia alimentar, que suporta o crescimento de níveis tróficos mais altos (STOCKNER *et al.*, 1977). Portanto, uma redução na produção primária resultante da contaminação pode levar a impactos negativos em toda a estrutura do ecossistema da região afetada. Os valores de clorofila *a* quantificados nos sistemas também sofreram redução de 2 e 3,5 vezes nos mesocosmos T3 e T5, enquanto em T6 se manteve com concentrações semelhantes antes e após a contaminação. Esta última unidade experimental já possuía águas mais cristalinas com pouca quantidade de clorofila *a* anteriormente a contaminação (Figura 23). Semelhantemente, a respiração quantificada nos sistemas também sofreu redução média de 29 vezes em T3, permaneceu estável em T5 e aumentou cerca de 10 vezes em T6 após a entrada do rejeito nas unidades experimentais.

De fato, a descarga de rejeitos de ferro tem potencial para alterar a morfologia e as características físico-químicas dos sistemas aquáticos e, consequentemente, os ciclos biogeoquímicos e a disponibilidade de compostos essenciais e de poluentes (RODRIGUES *et al.*, 2015; VIANA *et al.*, 2020). Parâmetros da água como pH, condutividade elétrica, teor de

carbono orgânico dissolvido e material particulado em suspensão influenciam a biodisponibilidade de metais, bem como em outros processos, como ressuspensão e adsorção associados a esses elementos em ambientes aquáticos (DI TORO *et al.*, 2001; FENG *et al.*, 2017).

## 3.5 Relação entre as comunidades bióticas e as variáveis físicas e químicas

Dentre as variáveis analisadas, três principais foram capazes de melhor explicar a abundância de zooplâncton no mesocosmo T3 – produção primária bruta, condutividade e íon amônio, nesta ordem de importância. Estes explicam 77,4% do índice de abundância obtido neste mesocosmo. Ressalta-se que, diferentemente das outras variáveis, a condutividade apresenta relação inversa, ou seja, o aumento da condutividade provoca a redução na abundância nesta unidade experimental. Já a dominância neste mesmo mesocosmo foi 67,69%, explicada pelo oxigênio dissolvido e mais uma vez pela condutividade em relação inversa. A diversidade de Shannon-wiener obtida está relacionada inversamente com o oxigênio dissolvido e com a produção primária líquida e diretamente, neste caso, com a condutividade. Estas três variáveis juntas explicam 62,14% da diversidade do T3. Por fim, 66,31% da equitabilidade observada em T3 é explicada pela produção primária líquida em relação inversa e pela condutividade em relação direta.

Outros estudos sugerem que a condutividade é um bom preditor da riqueza zooplanctônica tanto em lagos temperados quanto nos lagos tropicais do Baixo Rio Doce (HOBÆK et al., 2002; SOUZA et al., 2022), indicando que essa variável limnológica, juntamente a outros fatores abióticos como turbidez, atuam em mecanismos de classificação de espécies como filtros ambientais. Apesar de não ter sido observada relação direta sobre a riqueza, foi possível verificar influência da condutividade sobre a abundância, dominância, diversidade de shannnon e equitabilidade, semelhante ao registrado por Souza et al (2022), que observaram efeito negativo na diminuição gradual da riqueza zooplanctônica com o aumento na condutividade. No caso da equitabilidade, em que esta relação é direta, nota-se que as condutividades mais elevadas obtidas após a contaminação por rejeito favorecem a seleção de espécies mais adaptadas a esta condição, causando uma tendência à homogeneização das espécies neste mesocosmo. A relação inversa com a produtividade primária sugere que a redução da comunidade fitoplanctônica contribui para a equitabilidade de espécies zooplanctônicas no mesocosmo. Após o rompimento da barragem, a produção primária pode ter sido afetada negativamente tanto pela concentração de metais na água

durante a alta vazão do Rio Doce quanto pelo aumento de sedimentos em suspensão e redução da penetração de luz por um longo período, o que pode ter levado à morte dos produtores primários (SCHRIEVER & THIEL, 2013; BONECKER *et al.*, 2022).

Para o mesocosmo T5, dentre todos os parâmetros medidos neste experimento, a riqueza obtida foi 81,73% relacionada, em ordem de importância, ao pH e ao silicato reativo, e em relação inversa à produção primária líquida e ao material suspenso total. Já a abundância desta unidade experimental foi relacionada à temperatura, ao silicato reativo em relação inversa, à dureza da água, à produtividade primária bruta em relação inversa, ao nitrato, ao material suspenso orgânico em relação inversa e à clorofila a. Estas sete variáveis são explicativas para 99,39% da abundância obtida neste mesocomos. A dominância obtida para a comunidade zooplanctônica foi 84,63% explicada pelo pH, em relação inversa pelo silicato reativo, pelo nitrogênio total e pelo íon amônio em relação inversa. Por outro lado, o índice de diversidade de Shannon não pode ser bem relacionado aos parâmetros medidos neste estudo, sendo que apenas 48,59% deste pode ser explicado pelas três variáveis – respiração e condutividade, ambas em relação inversa, e íon amônio. A equitabilidade foi 89,03% explicada pelas seis variáveis a seguir em ordem de importância: pH em relação inversa, silicato reativo, nitrogênio total em relação inversa, condutividade em relação inversa, fosfato orgânico e inorgânico em relação inversa e íon amônio. A relação direta de pH com a riqueza e inversa desta variável com a equitabilidade provavelmente se dá devido às condições anteriores das unidades experimentais, em especial do T5, quando o pH era mais ácido. O input de rejeito contribuiu para o aumento do potencial hidrogeniônico levando a água a condições de pH mais neutro. Neste mesocosmo também chama atenção a importância dos nutrientes para a composição da comunidade zooplanctônica. Enquanto o silicato apresentou correlação inversa com a maioria dos índices, em contrapartida o aumento de nitrato, do íon amônio, nitrogênio total e fosfatos pareceram contribuir para o aumento da abundância, redução de dominância e equitabilidade, respectivamente. Com exceção do silicato, Bonecker et al., (2022) obtiveram resultados similares, encontrando correlação positiva entre as concentrações de nutrientes (ortofosfato, nitrito, nitrato e silicato) e a abundância de fitoplâncton, ovas de peixes e diversidade de zooplâncton.

O mesocosmo T6 teve sua riqueza explicada em 55,35% por três parâmetros principais: silicato reativo em relação direta, nitrato e íon amônio em relação inversa. Por outro lado, 74,9% de sua abundância teve relação inversa com o pH, relação direta com a respiração e inversa com o fósforo total. A dominância obtida para esta unidade experimental foi 91,58% explicada em relação inversa com o oxigênio dissolvido e o silicato reativo e em

relação direta com o nitrato. Diferentemente, as variáveis oxigênio dissolvido e material suspenso inorgânico foram explicativas para somente 59,86% do índice de diversidade de Shannon. Por fim, nove variáveis juntas foram explicativas para 94,10% do índice de equitabilidade obtido neste estudo para o mesocosmo T6. Em ordem de importância estas foram: oxigênio dissolvido, silicato reativo, nitrogênio total, produção primária líquida, nitrato em relação inversa, material suspenso inorgânico em relação inversa, turbidez, fosforo total e clorofila *a* em relação inversa (Tabela 5).

Segundo os autores DODSON *et al.* (2000) SHURIN *et al.* (2007), ambientes lênticos com altas concentrações de nitrogênio e fósforo tendem a diminuir a riqueza de espécies zooplanctônicas. Os níveis elevados de nutrientes em lagos podem levar a mudanças nas comunidades zooplanctônicas de um estado oligo/mesotróficas para um estado eutrófico que propicia espécies mais resilientes (JEPPESEN *et al.*, 1999), impactando a riqueza zooplanctônica.

#### 4 Conclusões

Após a análise dos resultados obtidos para as variáveis bióticas e abióticas, foi possível reconhecer alguns dos efeitos do aporte de rejeito da Mineradora Samarco nos ecossistemas aquáticos afetados pelo desastre ambiental de Mariana (MG), em novembro de 2015. Neste caso, tais respostas limitam-se aos sistemas experimentais que se diferenciam em relação aos ecossistemas aquáticos efetivamente atingidos, no entanto, nos permitem avaliar, em uma escala de tamanho e tempo reduzidos, muitas das alterações que podem ter sido ou que vem sendo registradas para os ambientes aquáticos adjacentes à barragem rompida e que receberam o rejeito. Alguns resultados como condutividade, turbidez, nutrientes totais e dissolvidos, por exemplo, associados aos valores de oxigênio dissolvido e pH, já demonstram um pouco desses efeitos. Associados às análises estatísticas de variância nos permitem ainda demonstrar que, de fato, a condutividade foi uma variável que aumentou de forma significativa em todos os mesocosmos que receberam o rejeito, gerando um desequilíbrio na dinâmica dos ecossistemas, como foi possível observar para a comunidade zooplanctônica. A análise temporal dos valores de diversidade e abundância também caracteriza as diferenças nos mesocosmos nos períodos pré e pós-contaminação, com perda da diversidade de macroinvertebrados após a contaminação, demonstrando que houve uma mudança negativa na qualidade da água, sendo que a amplitude dos efeitos está associada com a complexidade de cada mesocosmo. Embora de forma experimental, verifica-se que o aporte de rejeito nos sistemas experimentais (mesocosmos) ocasionou mudanças estruturais e funcionais nos ambientes aquáticos em curto e médio prazo, os quais, no ambiente real, podem ser maximizados pela quantidade de rejeitos, pela mistura desses aos solos provenientes das áreas adjacentes, pelo carreamento do rejeito acumulado nas margens e ressuspensão constante daquele depositados no leito do rio, tornando os efeitos mais contínuos e perenes em longo prazo.

### Referências

ABÍLIO, F. J. P.; FONSECA-GESSNER, A. A.; WATANABE, T. LEITE, R. L. Fauna de Chironomidae e outros insetos aquáticos de açudes do semi-árido paraibano, Brasil. **Entomologia y Vectores**, v. 12, n. 2, p. 255-264, 2005.

ALEXANDER, D.. Northern Italian dam failure and mudflow, July 1985. **Disasters**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 3–7, 1986. DOI: 10.1111/J.1467-7717.1986.TB00560.X. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1467-7717.1986.tb00560.x. Acesso em: 1 abr. 2022.

BARBOLA, I.; MORAES, M. F. P. G.; ANAZAWA, T. M.; NASCIMENTO, E. A.; SEPKA, E. R.; PLEGATTO, C. M.; MILLÉO, J.; SCHUHLI, G. Avaliação da comunidade de macroinvertebrados aquáticos como ferramenta para o monitoramento de um reservatório na bacia do rio Pitangui, Paraná, Brasil. Iheringia. **Série Zoologia**, v. 101, n. 1-2, p. 15-23, 2011.

BENEDICTO, J., MG, C., CAMPILLO, J.. Induction of metallothioneins in Mullus barbatus as specific biomarker of metal contamination: A field study in the western Mediterranean. [s.d.]. **Cienc. Mar.** 31, 265–274 2005. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_abstract&pid=S0185-38802005000200013&lng=es&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 31 mar. 2022.

BONECKER, A.C.T., B.S. Menezes, C.D. Junior, C.A. Silva, C.M. Ancona, C.O. Dias. An Integrated Study of the Plankton Community After Four Years of Fundão Dam Disaster (2022).

BONECKER, A. C. T. *et al.* An integrated study of the plankton community after four years of Fundão dam disaster. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150613.

BRUGGE, D.; DELEMOS, J. L.; BUI, Cat. The Sequoyah Corporation fuels release and the Church Rock spill: Unpublicized nuclear releases in American Indian communities. **American Journal of Public Health**, [S. l.], v. 97, n. 9, p. 1595–1600, 2007. DOI: 10.2105/AJPH.2006.103044. Disponível em: https://ajph.aphapublications.org/doi/full/10.2105/AJPH.2006.103044. Acesso em: 1 abr. 2022.

BRULAND, K. W.; DONAT, J. R.; HUTCHINS, D. A. Interactive influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic waters. **Limnology and Oceanography**, [S. l.], v. 36, n. 8, p. 1555–1577, 1991. DOI: 10.4319/LO.1991.36.8.1555.

BUCH, A. C.; SAUTTER, K. D.; MARQUES, E. D.; SILVA-FILHO, Emmanoel Vieira. Ecotoxicological assessment after the world's largest tailing dam collapse (Fundão dam, Mariana, Brazil): effects on oribatid mites. **Environmental Geochemistry and Health**, [S. l.], v. 42, n. 11, p. 3575–3595, 2020. DOI: 10.1007/s10653-020-00593-4. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10653-020-00593-4.

- CARVALHO, A. L.; CALIL, E. R. Chaves de identificação para as famílias de Odonata (Insecta) ocorrentes no Brasil, adultos e larvas. **Papéis Avulsos de Zoologia**, 41(15): 223-241, 2000.
- CLEMENTS, W. H. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization: an overview. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 7, n. 2, p. 113-116, 2000.
- COSTA, P. G.; MARUBE, L. Ca.; ARTIFON, V.; ESCARRONE, A. L.; HERNANDES, J. C.; ZEBRAL, Y.D.; BIANCHINI, A. Temporal and spatial variations in metals and arsenic contamination in water, sediment and biota of freshwater, marine and coastal environments after the Fundão dam failure. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151340.
- COUTO, F.; R.; FERREIRA, A. de M.; PONTES, P. P.; MARQUES, A. R. Physical, chemical and microbiological characterization of the soils contaminated by iron ore tailing mud after Fundão Dam disaster in Brazil. **Applied Soil Ecology**, [S. l.], v. 158, n. April 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103811.
- CUMMINS, K. W.; WILZBACH, M. A.; GATES, D. M.; TALIFERRO, W. B. Shredders and riparian vegetation. Leaf litter that falls into streams influences communities of stream invertebrates. **Bioscience**, v. 39, n. 1, p. 24-30, 1989.
- DA SILVA JUNIOR, C. A.; COUTINHO, A. D.; DE OLIVEIRA-JÚNIOR, J. F.; TEODORO, P. E.; LIMA, M.; SHAKIR, M.; DE GOIS, G.; JOHANN, J. A.. Analysis of the impact on vegetation caused by abrupt deforestation via orbital sensor in the environmental disaster of Mariana, Brazil. **Land Use Policy**, [S. l.], v. 76, n. April, p. 10–20, 2018. DOI: 10.1016/j.landusepol.2018.04.019.
- DAVILA, R. B.; FONTES, M. P. F.; PACHECO, A. A.; FERREIRA, M. S. Heavy metals in iron ore tailings and floodplain soils affected by the Samarco dam collapse in Brazil. **Science of the Total Environment**, *[S. l.]*, v. 709, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.136151.
- DEODORO, S. C. O uso de Macroinvertebrados Bentônicos como bioindicadores da qualidade das águas de uma lagoa artificial em parque urbano: uma ferramenta para a gestão de recursos hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.
- DODSON, S.I., S.E. Arnott, K.L. Cottingham. The relationship in lake communities between primary productivity and species richness. **Ecology**, 81 (10) (2000), pp. 2662-2679.
- ESTEVES, G. F.; BRESSANIN, L. A.; DE SOUZA, K. R. D.; DA SILVA, A. B.; MANTOVANI, J. R.; MARQUES, D. M.; MAGALHÃES, P. C.; PASQUAL, M.; DE SOUZA, Thiago Corrêa. Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 27, n. 31, p. 38662–38673, 2020. b. DOI: 10.1007/s11356-020-10013-w.
- FERNANDES, F. R. C.; ALAMINO, R. C. J.; ARAÚJO, E. R. 2014. Recursos Minerais e Comunidades: impactos humanos; socioambientais e econômicos (Rio de Janeiro).
- FERNANDES, G. W. *et al.* Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza e Conservação**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 35–45, 2016. DOI: 10.1016/j.ncon.2016.10.003.
- FERNANDES, L.F.L., T.R.M. Paiva, C.M. Longhini, J.B. Pereira, R.D. Ghisolfi, G.C.S. Lázaro, L.E. Demoner, P.S. Laino, L.R. Conceição, F. Sá, R.R. Neto, C. Dias-Junior, K.N. Lemos, V.S. Quaresma, K.S. Oliveira, C.F. Grilo, G.M. Rocha. Marine zooplankton dynamics after a major mining dam rupture in the Doce River, southeastern Brazil: rapid response to a changing environment. **Sci. Total Environ.**, 736 (2020),

- FERREIRA, Amanda D.; QUEIROZ, Hermano M.; KANEAGAE, Maira P.; NÓBREGA, Gabriel N.; OTERO, Xosé L.; BERNARDINO, Ângelo F.; FERREIRA, Tiago O. Gypsum amendment induced rapid pyritization in fe-rich mine tailings from doce river estuary after the Fundão dam collapse. **Minerals**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 1–13, 2021. a. DOI: 10.3390/min11020201.
- FOESCH, M. D. S.; FRANCELINO, M.; ROCHA, P. A.; GOMES, A. R. Lira. River water contamination resulting from the Mariana disaster, Brazil. **Floresta e Ambiente**, [S. l.], v. 27, n. 4, p. 1–10, 2020. DOI: 10.1590/2179-8087.013218.
- GOMES, L. E. O.; CORREA, L. B.; SÁ, Fabian; NETO, R. R.; BERNARDINO, A. F.. The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, [S. l.], v. 120, n. 1–2, p. 28–36, 2017. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.04.056.
- GUERRA, M. B. B.; TEANEY, B T.; MOUNT, B. J.; ASUNSKIS, D. J.; JORDAN, B. T.; BARKER, Ryan J.; SANTOS, E. E.; SCHAEFER, Carlos Ernesto G. R. Post-catastrophe Analysis of the Fundão Tailings Dam Failure in the Doce River System, Southeast Brazil: Potentially Toxic Elements in Affected Soils. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. l.], v. 228, n. 7, 2017. DOI: 10.1007/s11270-017-3430-5.
- HAMADA, N.; NESSIMIAN, J. L.; QUERINO, R. B. Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia. **Embrapa Meio-Norte-Livros científicos (ALICE)**, 2014.
- HAMMER, K. C.; HILL, J. K.; LACE, L. A.; LANGAN, A. M. Ecological and biogeographical effects of forest disturbance on tropical butterflies of Sumba, Indonesia. **Journal of Biogeography**, v. 24, n. 1, p. 67-75, 1997.
- HARDERJR., L. F.; STEWART, J. P. Failure of Tapo Canyon Tailings Dam. **Journal of Performance of Constructed Facilities**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 109–114, 1996. DOI: 10.1061/(ASCE)0887-3828(1996)10:3(109). Disponível em: https://ascelibrary.org/doi/abs/10.1061/%28ASCE%290887-3828%281996%2910%3A3%28109%29. Acesso em: 1 abr. 2022.
- HATJE, V; PEDREIRA, R. M. A.; DE REZENDE, C. E.; SCHETTINI, C. A. França; DE SOUZA, G. C.; MARIN, D. C.; HACKSPACHER, P. C. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017.
- HOBÆK, A. M. Manca, T. Andersen. Factors influencing species richness in lacustrine zooplankton. **Acta Oecol.**, 23 (2002), pp. 155-163
- HUDSON-EDWARDS, K. A.; MACKLIN, Mark G.; JAMIESON, Heather E.; BREWER, Paul A.; COULTHARD, Tom J.; HOWARD, Andy J.; TURNER, Jon N. The impact of tailings dam spills and clean-up operations on sediment and water quality in river systems: the Ríos Agrio–Guadiamar, Aznalcóllar, Spain. **Applied Geochemistry**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 221–239, 2003. DOI: 10.1016/S0883-2927(02)00122-1.
- JABLONSKA, I.; PATUREJ, E. The domination and constancy of occurrence of invertebrate communities in the Hanczanska Bay, Lake Wigry, NW Poland. **Acta Hydrobiologica**, v. 41, n. Suppl. 6, 1999.
- JEPPESEN, P. Nõges, T.A. Davidson, J. Haberman, T. Nõges, K. Blank, T.L. Lauridsen, M. Søndergaard, C. Sayer, R. Laugaste, L.S. Johansson, R. Bjerring, S.L. Amsinck. Zooplankton as indicators in lakes: a scientific-based plea for including zooplankton in the ecological quality assessment of lakes according to the european water framework directive (WFD). **Hydrobiologia**, 676 (2011), pp. 279-297

- KREMEN, C. Assessing the indicator properties of species assemblages for natural areas monitoring. **Ecological applications**, v. 2, n. 2, p. 203-217, 1992.
- LI, L.; ZHENG, B.; LIU, L. Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. **Procedia Environmental Sciences**, International Conference on Ecological Informatics and Ecosystem Conservation (ISEIS 2010). v. 2, p. 1510–1524, 2010.
- LONGHINI C.M., L. Mahieu, F. Sá, C.M.G. Van den Berg, P. Salaün, R. Rodrigues Neto. Coastal waters contamination by mining tailings: what triggers thestability of iron in the dissolved and soluble fractions. Limnol. Oceanogr., 66 (2020), pp. 171-187, 10.1002/lno.11595.
- LOPRETTO, E. C.; TELL, G. Ecosistemas de aguas continentals: metodologias para su studio. Argentina, **Ed. Sur. Tomo III**, 1397p, 1995.
- LUCINDA, I. Estudo de comunidades planctônicas (bacterioplâncton, nanoflagelados, fitoplâncton e zooplâncton) em um pequeno reservatório tropical-experimentos com mesocosmos. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, 2007.
- MACÊDO, A. K. S.; SANTOS, K. P. E.; BRIGHENTI, L. S.; WINDMÖLLER, C. C.; BARBOSA, F. A. R.; RIBEIRO, R. I. M. A.; SANTOS, H. B.; THOMÉ, Ralph Gruppi. **Histological and molecular changes in gill and liver of fish (Astyanax lacustris Lütken, 1875) exposed to water from the Doce basin after the rupture of a mining tailings dam in Mariana, MG, BrazilScience of the Total Environment, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139505.**
- MCCAFFERTY, W. P. Aquatic entomology: the fishermen's and ecologists' illustrated guide to insects and their relatives. **Jones & Bartlett Learning**, 1983.
- MERRITT, R. W.; CUMMINS, K. W. An introduction to the aquatic insects of North America, 3rd edition. **Kendall/Hunt Publishing**, Dubuque, IA. 862p, 1996.
- MORGENSTERN N.R., S.G. Vick, C.B. Viotti, B.D. Watts. Fundão Tailings Dam Review Panel Report on the Immediate Causes of the Failure of the Fundão Dam. http://fundaoinvestigation.com/wp-content/uploads/general/PR/en/FinalReport.pdf (2016), Acessado em 10/08/2022.
- MUGNAI, R.; NESSIMIAN, J. L.; BAPTISTA, D; F. Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro: para atividades técnicas, de ensino e treinamento em programas de avaliação da qualidade ecológica dos ecossistemas lóticos. **Technical Books Editora**, 2010.
- NOGUEIRA, P. F. M. Interação entre a matéria orgânica natural, o cobre e microorganismos heterotróficos: implicações na dinâmica do metafile sua disponibilização para a biota aquática. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, 2007.
- ODUM, E. P. 1984. The mesocosm. **BioScience 34**: 558–562.
- OLIVEIRA, M. A. de; GOMES, C. F. F.; PIRES, E. M.; MARINHO, C. G. S.; LUCIA, T. M. C. D. Bioindicadores ambientais: insetos como um instrumento desta avaliação. **Ceres**, v. 61, n. 7, 2015.
- OMACHI, Claudia Y.; SIANI, Sacha M. O.; CHAGAS, Felipe M.; MASCAGNI, Mario L.; CORDEIRO, Marcelle; GARCIA, Gizele D.; THOMPSON, Cristiane C.; SIEGLE, Eduardo; THOMPSON, Fabiano L. Atlantic Forest loss caused by the world's largest tailing dam collapse (Fundão Dam, Mariana, Brazil). **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [S. l.], v. 12, n. April, p. 30–34, 2018. DOI: 10.1016/j.rsase.2018.08.003.

- PENNAK, R. W. Fresh-water invertebrates of the United States (Second Edition). **John Wiley & Sons,** 2ed., Toronto, Canada, 803p, 1978.
- PINTO, T. J. da S. Macroinvertebrados como bioindicadores em riacho tropical: uma avaliação de impactos por sedimentação, rompimento de barragem e de recuperação após medidas de restauração. Tese de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2018.
- QUEIROZ, J. F. de; SILVA, M. S. G. M.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Organismos Bentônicos: biomonitoramento da qualidade de água. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**, p. 8-25, 2008.
- ROCHA, G.M., Salvador, B., Santos, G.H.C., Demoner, L.E., da Conceição, L.R., Teixeira-Amaral, P., Mill, G.N., Ghisolfi, R.D., Costa, E.S., Longhini, C.M., da Silva, C.A., Cagnin, R.C., Sá, F., Neto, R.R., Dias Junior, C., Oliveira, K.S., Grilo, C.F.Quaresma, Fernandes, L.F.L., Laino, P.de S., V. da S., in press. Responses of marine zooplankton indicators after five years of a dam rupture in the Doce River, Southeastern Brazil. **Sci. Total Environ**. This issue.
- ROESER, H.M. Peter; ROESER, P. A.. O Quadrilátero Ferrífero MG, Brasil : aspectos sobre sua história, seus recursos minerais e problemas ambientais relacionados. **Geonomos**, [S. l.], 2013. DOI: 10.18285/GEONOMOS.V18I1.67.
- RUDOLPH, Tobias; COLDEWEY, Wilhelm G. Implications of Earthquakes on the Stability of Tailings Dams. [S. l.], [s.d.]. Disponível em: http://www.angeo.uni-muenster.de. Acesso em: 1 abr. 2022.
- RUHL, Laura; VENGOSH, Avner; DWYER, Gary S.; HSU-KIM, Heileen; DEONARINE, Amrika; BERGIN, Mike; KRAVCHENKO, Julia. Survey of the potential environmental and health impacts in the immediate aftermath of the coal ash spill in Kingston, Tennessee. Environmental Science and Technology, S. l.], v. 43, n. 16, 6326-6333, 2009. DOI: p. 10.1021/ES900714P/SUPPL FILE/ES900714P SI 001.PDF. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es900714p. Acesso em: 1 abr. 2022.
- RUYTERS, Stefan; MERTENS, Jelle; VASSILIEVA, Elvira; DEHANDSCHUTTER, Boris; POFFIJN, André; SMOLDERS, Erik. The red mud accident in Ajka (Hungary): Plant toxicity and trace metal bioavailability in red mud contaminated soil. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 45, n. 4, p. 1616–1622, 2011. DOI: 10.1021/ES104000M/SUPPL\_FILE/ES104000M\_SI\_001.PDF. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es104000m. Acesso em: 1 abr. 2022.
- SÁ,F., C.M. Longhini, E.S. Costa, C.A. Silva, R.C. Cagnin, L.E.O. Gomes, A.T. Lima, A.F. Bernardin o, R. Rodrigues Neto. **Time-sequence development of metal(loid)s following the 2015 dam failure in the Doce river estuary, Brazil.** 769 (2021), Article 144532.
- SANTANA, Felipe C.; FRANCELINO, Márcio R.; SCHAEFER, Carlos E. G. R.; VELOSO, Gustavo V.; FERNANDES-FILHO, Elpídio I.; SANTANA, Adalgisa de J. P.; TIMO, Lucas B.; ROSA, André P. Water Quality of the Gualaxo do Norte and Carmo Rivers After the Fundão Dam Collapse, Mariana, MG. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. l.], v. 232, n. 4, 2021. DOI: 10.1007/s11270-021-05113-3.
- SANTOS, E. M.; NALINI, H. A.; ABREU, A. T.; NOGUEIRA, L. B.. Mobilization of heavy metals in river sediments from the region impacted by the Fundão dam rupture, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, [S. l.], v. 80, n. 24, 2021. a. DOI: 10.1007/s12665-021-10107-9.
- SANTOS, Gd.S. E.E.C. Silva, G.F. Barroso, V.M.D. Pasa, E.M. Eskinazi-Sant'Anna. Do metals differentiate zooplankton communities in shallow and deep lakes affected by mining tailings? The case of the Fundão dam failure (Brazil). **Sci. Total Environ.**, 806 (2022), Article 150493.

SANTOS,Gd.S.; E.E.C. Silva, G.F. Barroso, V.M.D. Pasa, E.M. Eskinazi-Sant'Anna. Do metals differentiate zooplankton communities in shallow and deep lakes affected by mining tailings? The case of the Fundão dam failure (Brazil). **Sci. Total Environ.**, 806 (2022), Article 150493.

SCHETTINI, C. A. F.; HATJE, V.. The Suspended Sediment and Metals Load from the Mariana's Tailing Dam Failure to the Coastal Sea. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 661–668, 2020. a. DOI: 10.1002/ieam.4274.

SCHRIEVER, G., H. Thiel. Tailings and their disposal in deep-sea mining

SHURIN, J.B., M. Winder, R. Adrian, W.B. Keller, B. Matthews, A.M. Paterson, M.J. Paterson, B. Pinel-Alloul, J.A. Rusak, N.D. Yan. Environmental stability and lake zooplankton diversity contrasting effects of chemical and thermal variabilit. **Ecol. Lett.**, 13 (2010), pp. 453-463.

SILVEIRA, M. P.; DE QUEIROZ, J. F.; BOEIRA, R. C. Metodologia para obtenção e preparo de amostras de macroinvertebrados bentônicos em riachos. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). Separata de: CONGRESO VIRTUAL IBEROAMERICANO SOBRE GESTIÓN DE CALIDAD EN LABORATORIOS, 2., 2003, Valladolid. **Resúmenes... Valladolid**: ITACYL, 2003.

VANELI, B.P.; ARAÚJO, E. M. S.; DE OLIVEIRA, D. B. H. S.; SPAGNOL, I. T. TEIXEIRA, E. C. Conceptual model to analyze the effects caused by technological disaster on the physical-chemical state of the lower Doce River waters, Brazil. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 809, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.152168.

# Anexo A - Tabelas

**Tabela 1:** Composição, abundância relativa e dominância de macroinvertebrados bentônicos coletados nos mesocosmos durante o período de estudo, nas fases pré e pós-contaminação, sendo dominante: > 50%; comum: 10-29,9%; ocasional: 1-9,9%; raro: < 1%.

Taxa	Abundância Relativa (%)	Dominância
Clitellata		
Oligochaeta	59,14	Dominante
Hirudinea		
Hirudinea sp.	0,03	Raro
Insecta		
Dytiscidae	1,63	Ocasional
Gyrinidae	0,31	Raro
Hydrophillidae	0,07	Raro
Noteridae	0,03	Raro
Caenidae	0,07	Raro
Leptophlebiidae	0,03	Raro
Ephemeroptera sp.	0,11	Raro
Notonectidae	0,03	Raro
Mesovellidae	0,03	Raro
Pyralidae	0,03	Raro
Coenagrionidae	2,50	Ocasional
Libellulidae	3,98	Ocasional
Odonata sp.	0,43	Raro
Chironomidae sp. (pupa)	0,55	Raro
Chironomidae sp.	0,15	Raro
Chironominae	14,68	Comum
Tanypodinae	0,99	Raro
Orthocladiinae	0,03	Raro
Gastropoda		
Planorbidae	15,00	Comum

**Tabela 2:** Principais táxons da comunidade de macroinvertebrados bentônicos encontrados nas fases pré e pós-contaminação com rejeito. Os quadros verdes indicam presença do táxon no tanque e os quadros vermelhos indicam táxons não amostrados em apenas um dos períodos (pré - AC ou pós contaminação - DC), ou seja, indicam exclusão de táxon quando seguido de um quadro verde do período AC (ex.: Ephemeroptera em T3) ou indicam ausência seguida de surgimento de táxon quando sucedidos por um quadro verde no período DC (ex.: Lepidoptera em T5). Quadros sem preenchimento indicam taxosn não amostrados em nenhum dos períodos nos tanques.

Mesocosmos	Т3		Т5		Т6	
Fases	AC	DC	AC	DC	AC	DC
Oligochaeta						
Hirudinea						
Coleoptera						
Lepidoptera						
Ephemeroptera						
Odonata						
Diptera			·			
Gastropoda						
Total	4	5	3	4	4	4

**Tabela 3:** Composição das espécies de zooplâncton identificadas nos mesocosmos durante período de estudo, considerando as fases pré e pós-contaminação com rejeito.

Lista geral dos táxons					
1	Sinantherina semibullata				
2	Lepadella sp.				
3	Lecane signifera				
4	Lecane bulla	Rotífera			
5	Cephalodella sp.				
6	Bdelloidea sp.				
7	Conochillus unicornis				
8	Difflugia cylindrus				
9	Difflugia sp.				
10	Difflugia corona				
11	Pseudolebela africana	Tecameba			
12	Centropyxis sp.				
13	Arcela sp.				
14	Lesquereusia sp.				
15	Paramecium sp.	Protozoário			
16	Notodiaptomus iheringi				
17	Argyrodiaptomus furcatus	Copepoda			
18	Metacyclops leptopus				
19	Camptocercus dadayi				
20	Ilyocryptus spinifer				
21	Macrothryx elegans				
22	Macrothryx scamosa	Cladocera			
23	Diaphanosoma				
24	Alona guttata				
25	Ceriodaphnia silvestrii				

**Tabela 4:** Composição das espécies zooplanctônicas encontradas em cada mesocosmos nas fases pré e pós-contaminação (AC e DC) com rejeito. Os quadros verdes representam presença da espécie e os vermelhos a ausência da espécie em comparação ao mesmo mesocosmo em outro período experimental.

Comparação entre spp encontradas pré e pós contaminação								
-	T3 AC	T3 DC		T5 DC		T6 DC		
Sinantherina semibullata								
Lepadella sp.								
Lecane signifera								
Lecane bulla								
Cephalodella sp.								
Bdelloidea sp.								
Conochillus unicornis								
Difflugia cylindrus								
Difflugia sp.								
Difflugia corona								
Pseudolebela africana								
Centropyxis sp.								
Arcela sp.								
Lesquereusia sp.								
Paramecium sp.								
Notodiaptomus inheringi								
Argyrodiaptomus furcatus								
Metacyclops leptopus								
Camptocercus dadayi								
Ilyocryptus spinifer								
Macrothryx elegans								
Macrothryx scamosa								
Diaphanosoma sp.								
Alona guttata								
Ceriodaphnia silvestrii								
Total spp encontradas	8	13	10	14	20	24		

**Tabela 5**: Dados da regressão linear múltipla realizada para comparação entre os índices ecológicos: riqueza, abundância, dominância, diversidade e equitabilidade e parâmetros físicos e químicos obtidos para cada um dos mesocosmos. Obs: R² ajustado é o poder explicativo da equação para cada índice, B é a importância explicativa da variável e *p* é o nível de significância.

	T3			T5					T6		
	R <sup>2</sup> ajustado	В	р	R² ajustado	В	р		R² ajustado	В	р	
Riqueza	-										
pH	-	-	-		1,540	<0,05			-	-	
SIO <sub>2</sub>	-	-	-			<0,05			2,469	<0,05	
PPLiq	-	-	-	0,817	0,569	<0,05		0,553	-	-	
MST	-	-	-		0,009	<0,05			-	-	
NO3	-				-	-			-0,132	<0,05	
NH4	-				-	-			-0,038	<0,05	
Abund. PPBru		C10F 4	40.0F		204602	40.0F					
Cond.		6185,4 -1799,8	<0,05 <0,05		-204683 -	-			-	-	
NH4		177,4	<0,05		-	-			-	-	
Temp.		-	-		1110598	<0.05			_	_	
					-	40,03			_		
SIO2		-	-		1016325	<0,05			-	-	
Dur	0,774	-	-	0,994	365676			0,749	-	-	
NO3		-	-		104448				-	-	
MSO		-	-		-17079	_			-	-	
Clor.		-	-		1018	<0,05			-	-	
Resp		-	-		-	-			417071	<0,05	
pH		-	-		-	-			-643531	<0,05	
PTotal		-	-		-	-			-7784	<0,05	
Dominância				0,846							
OD		0,095	<0,05		-	-		0,916	-0,144	<0,05	
Cond.		-0,006	<0,05		-	-			-	-	
pH	0,677	-	-		0,164	<0,05			-	-	
NTotal	-,	-	-		0,104	<0,05			-	-	
SIO2		-	-		-0,124				-0,133	<0,05	
NH4 NO3		-	-		-0,0028	<0,05			- 0.00	- 40.05	
Diversidade		-	-		-	-			0,006	<0,05	
OD		-0,205	<0,05		-	-		0,598	0,198	<0,05	
PPLiq		-0,203	<0,05						0,130	-	
Cond.		0,015	<0,05		-0,018	<0,05			-	-	
Resp.	0,621	-	-	0,486	-0,072	<0,05			-	-	
Cond.		-	-		-0,018				-	-	
NH4		-	-		-	-			0,005	<0,05	
MSI		-	-		-	-			-	-	
Equitabilidad e											
PPLiq		-0,018	<0,05		-	-			0,035	<0,05	
Cond.		0,007	<0,05		-0,0095	<0,05			-	-	
pH		-	-		-0,199				-	-	
SIO2		-	-		0,122				0,091	<0,05	
NTotal		-	-		-0,0951				0,060	<0,05	
Cond	0,663	-	-	0,890	-0,0095				-	-	
POI	0,000	-	-		-0,003	<0,05			-	-	
MSI		-	-		-	-			-0,0038		
OD		-	-		-	-			0,119	<0,05	
NO3		-	-		-	-			-0,0039		
PTotal		-	-		-	-			0,00079		
Turb		-	-		-	-			0,00097		
Clor.		-	-		-	-			0,00005	<0,05	

# Anexo B – Figuras



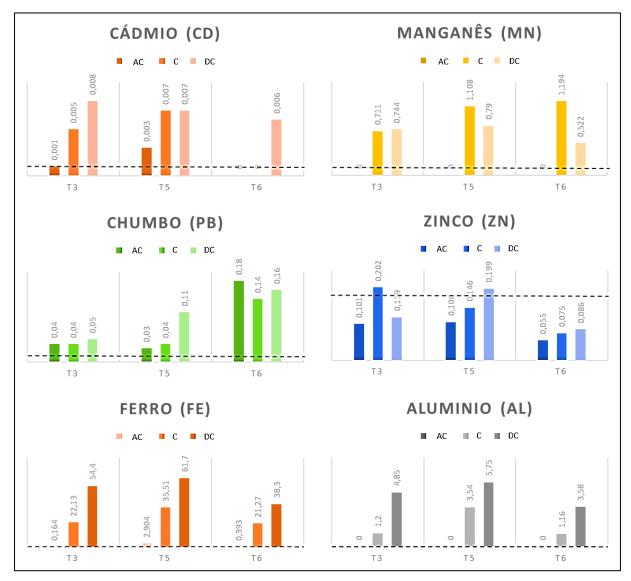
**Figura 1:** Mesocosmo T3 considerando as fases de pré-contaminação, imediatamente após a contaminação e ao final do experimento.



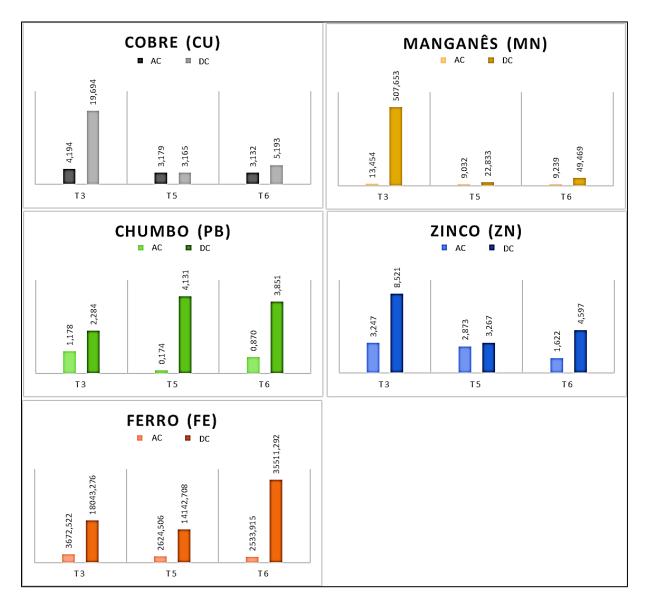
**Figura 2:** Mesocosmo T5 considerando as fases pré-contaminação, imediatamente após a contaminação e ao final do experimento.



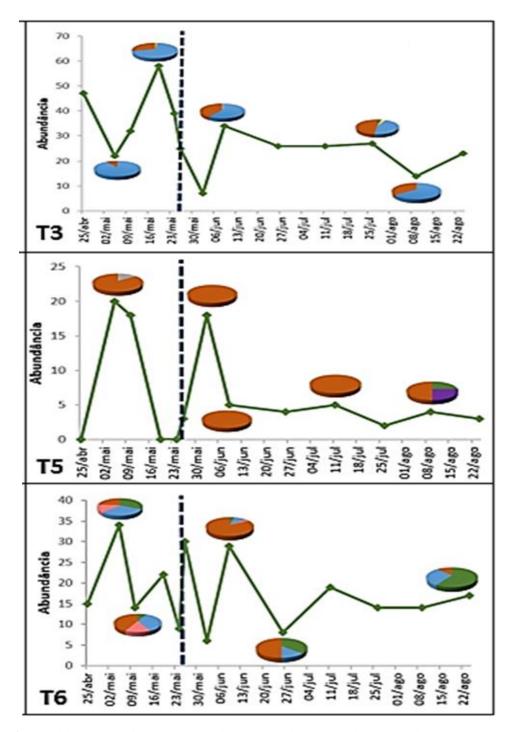
**Figura 3:** Mesocosmo T6 considerando as fases pré-contaminação, imediatamente após a contaminação e ao final do experimento.



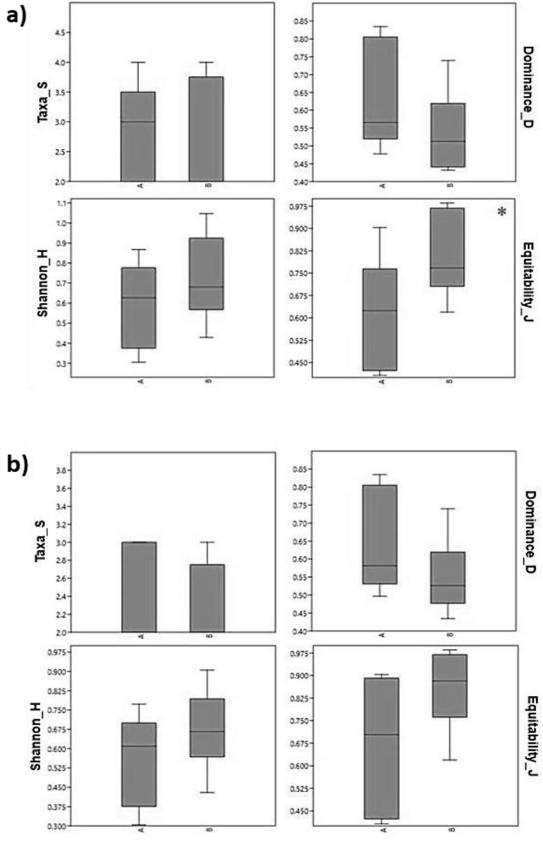
**Figura 4:** Metais quantificados na água dos mesocosmos nos períodos antes da contaminação (AC), no dia da contaminação (C) e depois da contaminação (DC). A linha tracejada mostra os valores máximos permitidos de cada metal estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005 para ambientes aquáticos (Cd:0,01 mg/L Mn: 0,1 mg/L Pb: 0,01 mg/L Zn:0,18 mg/L Fe: 0,3 mg/L Al: 0,1 mg/L).



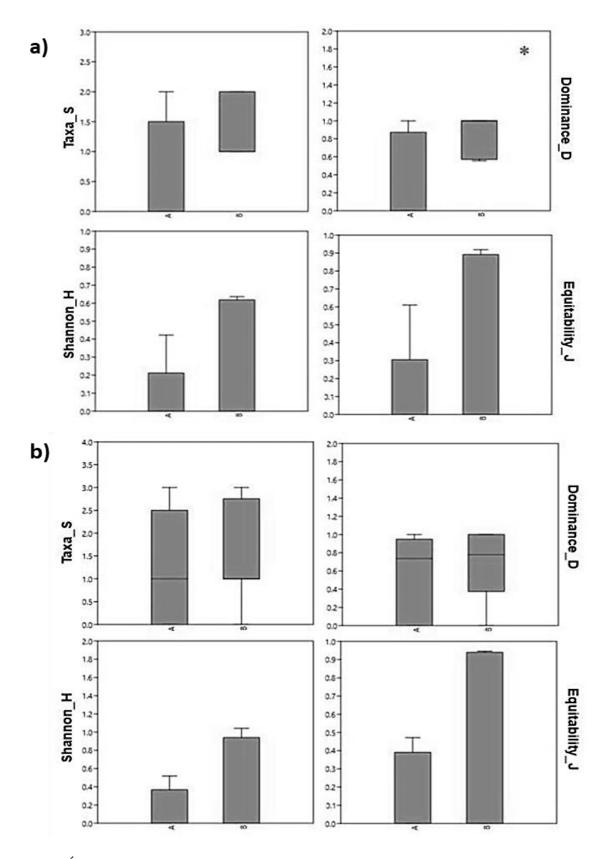
**Figura 5:** Metais quantificados no sedimento dos mesocoosmos nos períodos antes da contaminação (AC) e depois da contaminação (DC). Apesar das elevadas concentrações obtidas, nenhum dos metais quantificados estava acima dos valores máximos estabelecidos pela resolução CONAMA 420/2009 para solos (Cu: 60 mg/kg; Pb: 72mg/kg; Zn: 300 mg/kg). Valores de Mn e Fe não são contemplados pela resolução.



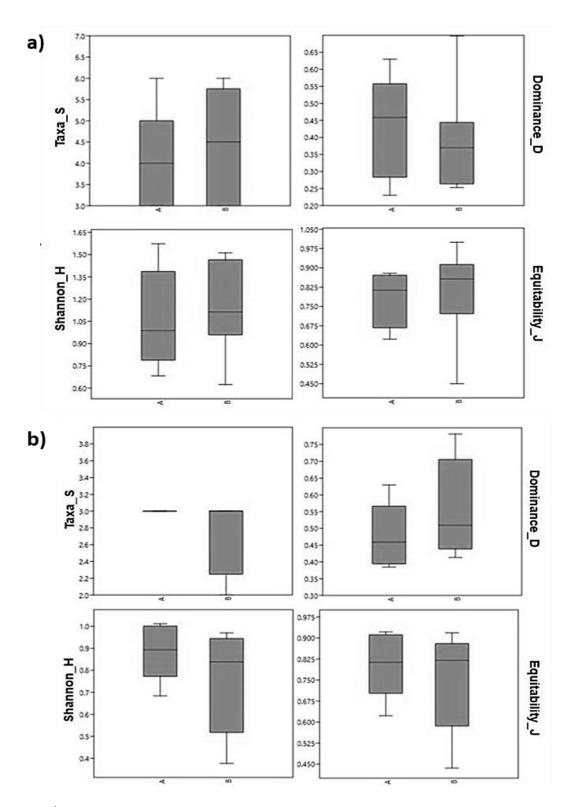
**Figura 6:** Densidade numérica e abundância de macroinvertebrados bentônicos nos mesocosmos T3, T5 e T6 nas fases pré e pós-contaminação com o rejeito (períodos delimitados pela linha tracejada). Nos gráficos que demonstram a composição da comunidade, as cores representam: Diptera (verde), Hirudinea (amarelo), Gastropoda (azul), Oligochaeta (laranja), Coleoptera (cinza), Lepidoptera (roxo) e Odonata (rosa)



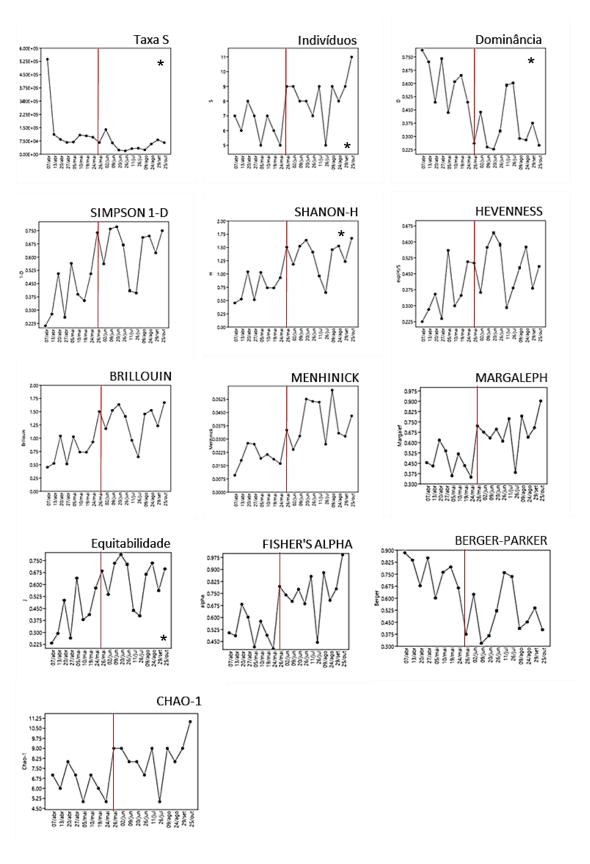
**Figura 7:** Índices bióticos para a) comunidade de macroinvertebrados e b) macroinvertebrados divididos por grupo funcional do Mesocosmo 3, sendo A: antes da contaminação e B: após a contaminação.



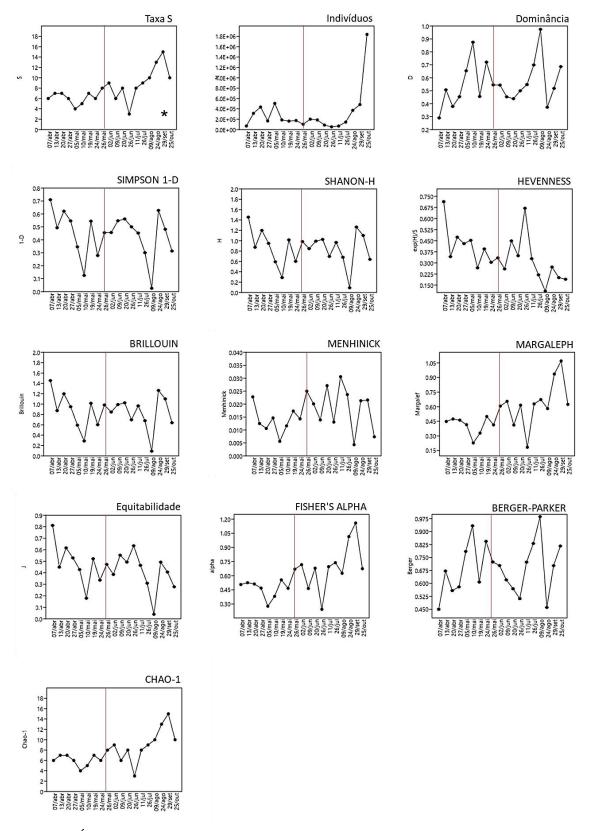
**Figura 8:** Índices Bióticos para a) comunidade de macroinvertebrados e b) macroinvertebrados divididos por grupo funcional do Mesocosmo 5, sendo A: antes da contaminação e B: após a contaminação.



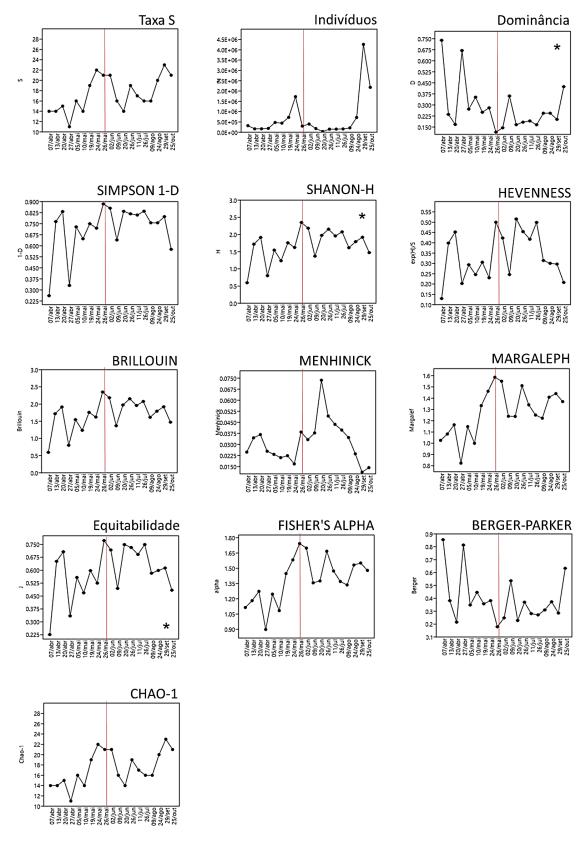
**Figura 9:** Índices bióticos para a) comunidade de macroinvertebrados e b) macroinvertebrados divididos por grupo funcional do Mesocosmo 6, sendo A: antes da contaminação e B: após a contaminação.



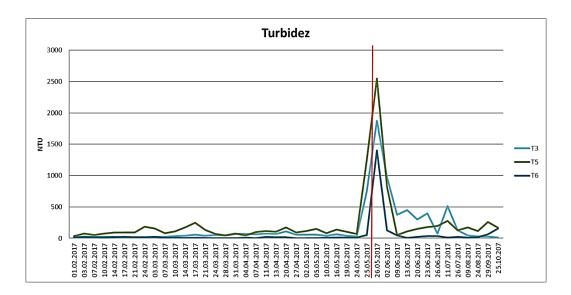
**Figura 10**: Índices bióticos do mesocosmos T3. [Obs.: análises estatísticas foram aplicadas apenas para os índices de riqueza (Taxa\_S), abundância (Indivíduos), dominância (Dominance\_D), diversidade de Shannon (Shannon\_H) e equitabilidade (Equitability\_J).



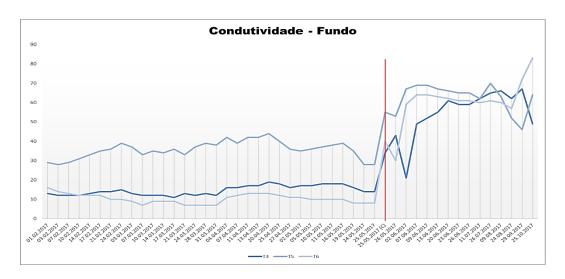
**Figura 11**: Índices bióticos do mesocosmo T5. [Obs.: análises estatísticas foram aplicadas apenas para os índices de riqueza (Taxa\_S), abundância (Indivíduos), dominância (Dominance\_D), diversidade de Shannon (Shannon\_H) e equitabilidade (Equitability\_J).

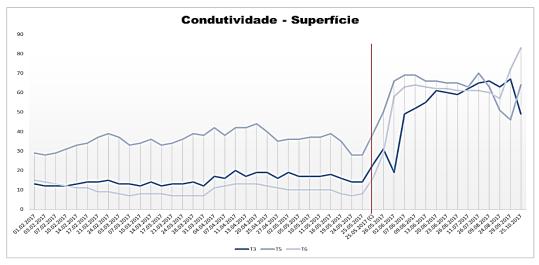


**Figura 12:** Índices bióticos do mesocosmo T6. [Obs.: análises estatísticas foram aplicadas apenas para os índices de riqueza (Taxa\_S), abundância (Indivíduos), dominância (Dominance\_D), diversidade de Shannon (Shannon\_H) e equitabilidade (Equitability\_J).

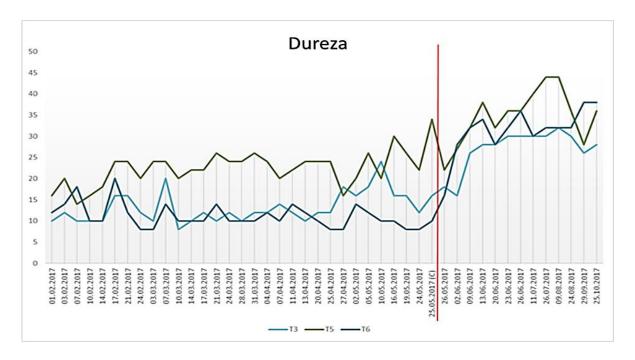


**Figura 13:** Variação temporal da turbidez obtida nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.

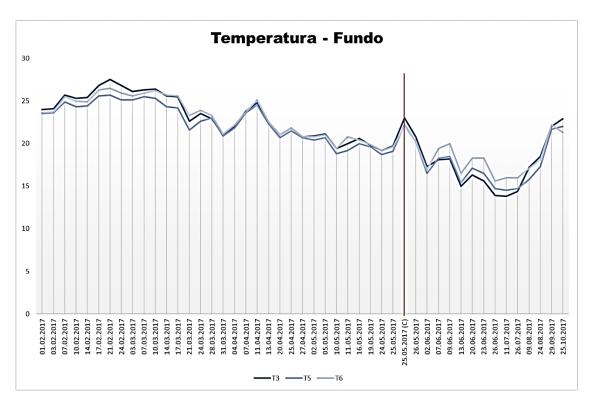


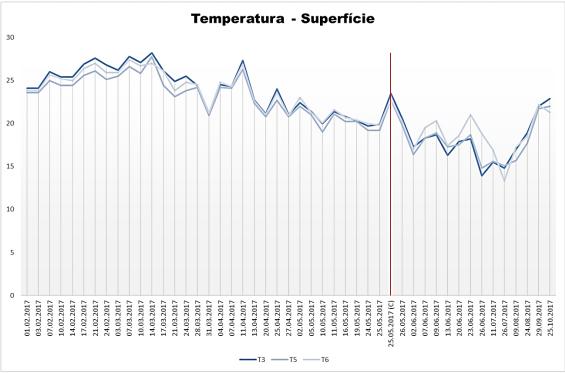


**Figura 14:** Variação temporal da condutividade de fundo e superfície obtidas nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



**Figura 15:** Variação temporal da dureza obtida nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



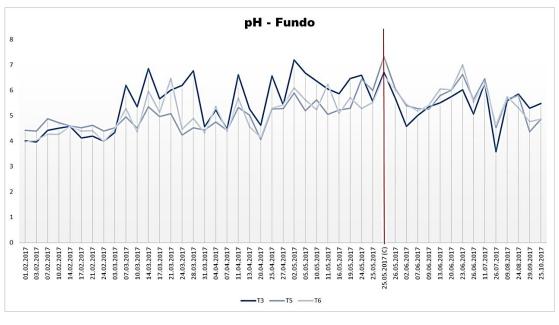


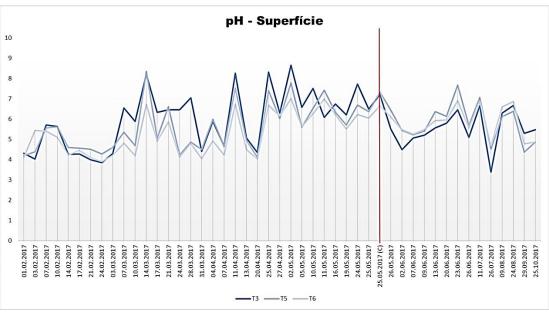
**Figura 16:** Variação temporal da temperatura de fundo e superfície obtidas nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



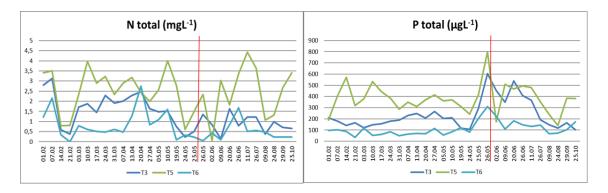


**Figura 17:** Variação temporal do oxigênio dissolvido de fundo e superfície obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.





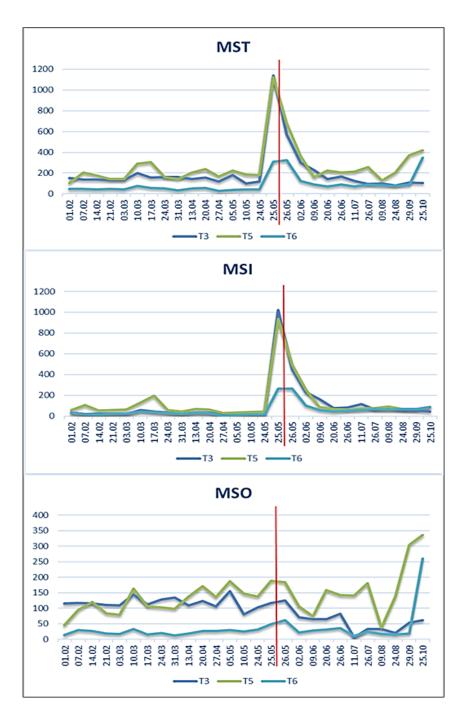
**Figura 18:** Variação temporal do pH de fundo e superfície obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



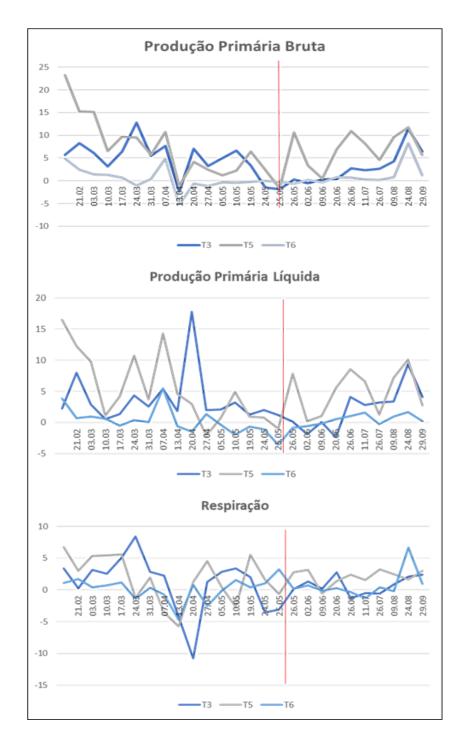
**Figura 19:** Variação temporal da concentração de nutrientes totais (nitrogênio e fósforo) obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



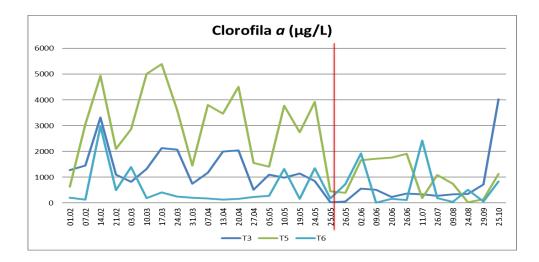
**Figura 20:** Variação temporal da concentração de nutrientes dissolvidos (nitrito, nitrato, íons amônio, fosforo total dissolvido, fósforo orgânico e inorgânico e silicato) obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



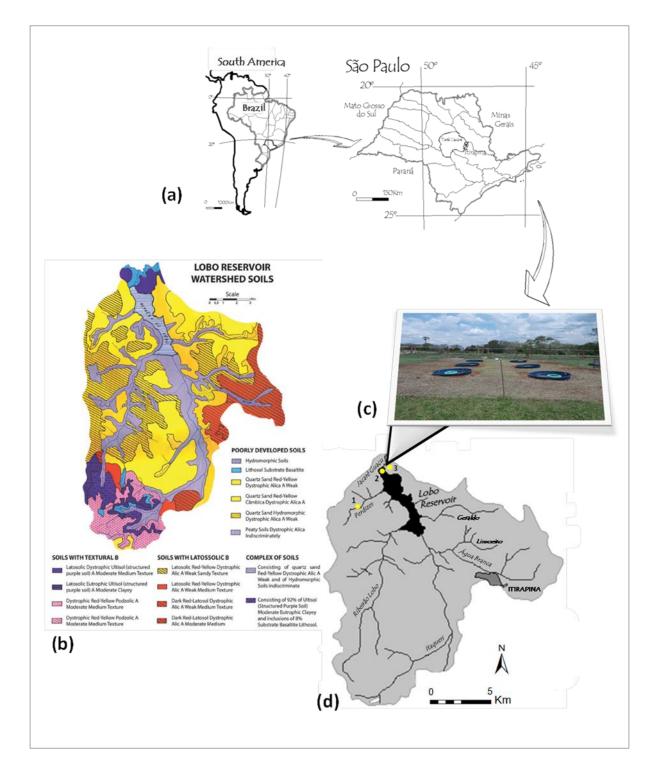
**Figura 21:** Variação temporal de material suspenso (total, inorgânico e orgânico) obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



**Figura 22**: Variação temporal dos valores da produção primária (bruta e líquida) e da respiração obtidos nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



**Figura 23:** Variação temporal da concentração de clorofila a obtidas nas unidades experimentais nos períodos anterior à contaminação e após o aporte de rejeito.



# Anexo C – estruturação dos mesocosmos

**Figura 1:** Localização da área experimental, com destaque para a localização dos mesocosmos no CRHEA/EESC/USP. Fonte: Sanchez (2016).



**Figura 2:** Coleta de amostras de sedimento na represa do Lobo (1 e 2), distribuição dos sedimentos em cada mesocosmo (3), área de coleta de água para enchimento dos mesocosmos na represa do Lobo (4) e mesocosmos preenchidos (5), com base em SANCHEZ (2016). Na foto 7 encontra-se a área experimental, isolada por tratamento, na foto 8 a característica do rejeito coletado no subdistrito de Paracatu de Baixo em setembro de 2016 e na foto 9 o rejeito antes e após mistura com água proveniente do poço artesiano do CRHEA (VOLPE, 2018) no início do experimento (abril de 2017).

<u>Capítulo III:</u> Efeitos agudos e crônicos em diferentes espécies de água doce expostas ao rejeito de mineração da barragem do Fundão - Mariana, MG (Brasil)

#### Resumo

Após o derramamento de rejeito originário da barragem do Fundão, em Mariana (MG/Brasil), a região da bacia hidrográfica do rio Doce se tornou foco de estudos sobre os possíveis efeitos do aporte da lama às biotas atingidas, incluindo diferentes níveis tróficos dos ecossistemas aquáticos. Considerando essa premissa, neste artigo procurou-se avaliar os efeitos agudos e crônicos causados por água e sedimento contaminados por rejeito de mineração, em bioensaios laboratoriais com diferentes organismos-teste. Para isso, modelos ecossistêmicos (mesocosmos) foram contaminados com amostras de rejeito provenientes da barragem de Fundão para simular o derramamento ocorrido na bacia do rio Doce. Posteriormente, bioensaios laboratoriais agudos e crônicos foram conduzidos com as espécies Raphidocelis subcapitata e Ceriodaphnia silvestrii, utilizando amostras de água, e com a espécie Allonais inaequalis, com amostras de sedimento. Além disso, ensaios agudos foram realizados com o peixe Danio rerio (amostras de água) e larvas do inseto Chironomus sancticaroli (amostras de sedimento). As amostragens foram feitas ao longo do tempo, antes e após a contaminação dos mesocsomos. Nenhum efeito agudo foi observado para D. rerio e C. sancticaroli. Em contrapartida, observou-se toxicidade aguda para A. inaequalis (mortalidade) e toxicidade crônica para R. subcapitata (crescimento populacional, tamanho, complexidade celular e fluorescência), C. silvestrii (número de neonatos e dia de início da reprodução) e A. inaequalis (crescimento populacional) expostos à água ou sedimento contaminados pelo rejeito expostos a amostras de água e sedimento, respectivamente, coletados mesmo três meses após a contaminação. Tais resultados evidenciam os riscos para as espécies expostas a tal rejeito e os efeitos ecológicos em cascata, dada a importância desses organismos dentro das cadeias tróficas, na ciclagem de matéria e no fluxo de energia nos ambientes de água doce.

**Palavras-chave:** água, sedimento, ecotoxicologia, *Raphidocelis subcapitata*, *Ceriodaphnia silvestrii*, *Allonais inaequalis*.

## 1 Introdução

O Brasil destaca-se no cenário mundial como o segundo maior produtor de minério de ferro, ficando atrás apenas da China, sendo essa atividade econômica responsável por quase 5% do PIB do país (FREITAS *et al.*, 2016). A extração do ferro no Brasil acontece principalmente na região do quadrilátero ferrífero, entre Minas Gerais, Belo Horizonte, Itabira, Ouro Preto e Congonhas (ROESER & ROESER, 2010), áreas que, consequentemente, também se destacam em relação aos problemas ambientais associados à mineração (FERNANDES *et al.*, 2014). Qualquer processo de extração mineral é altamente impactante

(BENEDICTO *et al.*, 2005) e estudos acerca destes efeitos nocivos ao meio ambiente, em destaque para a biota aquática, são recorrentes no mundo todo (e.g. BOULARBA *et al.*, 2006a; 2006b; BESSER *et al.*, 2008; VAN DAM *et al.*, 2008), inclusive no Brasil (e.g. BORTOLOTTO *et al.*, 2007; LATTUADA, 2009). Apesar dos impactos inerentes ao processo extrativista, há também as possibilidades relacionadas aos desastres ambientais, como o rompimento de barragens (BARRETO, 2001).

Um exemplo foi o rompimento da barragem do Fundão, uma das três barragens de um complexo localizado em Bento Rodrigues, Mariana (MG/Brasil), que ocorreu em novembro de 2015. Tal acontecimento foi considerado o maior desastre socioambiental com barragens até aquele período (FERNANDES *et al.*, 2016; CARMO *et al.*, 2017), pois despejou 50 milhões m³ de rejeitos minerários por quilômetros de ecossistemas terrestres e aquáticos pertencentes à bacia do Rio Doce, atingiu mais de 40 cidades e deixou 19 pessoas mortas (IBAMA 2015; FREITAS 2016). Dentre os efeitos imediatos deste evento, estão a perda de unidades de conservação e de áreas de proteção ambiental, devastação de florestas inteiras, soterramento de grandes áreas de solo, nascentes e rios de menor ordem, mudança de curso e vazão de rios, além da entrada de grandes volumes de material potencialmente tóxico nos ecossistemas aquáticos atingidos (IBAMA 2015; FERNANDES *et al.*, 2016; GUERRA *et al.*, 2017; CARVALHO 2017; ANDRADES *et al.*, 2020).

Desde então, esta área que possuía poucos dados de monitoramento ambiental prédesastre, passou a ser foco de estudos tanto de campo quanto laboratoriais. Merçon et al. (2021), por exemplo, observou efeitos nocivos do aporte de rejeito em peixes coletados no rio Doce. Os autores identificaram uma correlação positiva entre a concentração de alumínio e ferro (detectados em altas concentrações no rejeito e nos ambientes atingidos pela lama) e a proporção de danos histológicos nas gônadas dos organismos estudados, além de outros efeitos relacionados as alterações na maturação e histologia das células reprodutivas. Em outro estudo, os mesmos autores encontraram correlação entre a ação das enzimas catalase (CAT), nos músculos, e glutationa-S-transferase (GST), no fígado, com a concentração de alumínio presente nos organismos. Também encontraram correlação entre a ação da enzima GST nos músculos e concentrações de cromo e, por fim, entre a ação da enzima GST nas brânquias e no fígado e concentrações de ferro em peixes do rio Doce (MERÇON et al., 2022). Em bioensaios laboratoriais com água coletada do rio Doce após o rompimento da barragem, foram observados danos ao DNA da espécie de peixe Geophagus brasilienses, evidenciados pelo aumento em 3,5% na ocorrência de micronúcleos e em 120% na ocorrência de cometas (GOMES et al., 2019). Após sete dias de exposição a amostras de água do rio, ocorreram mudanças histológicas em brânquias e fígado da espécie de peixe *Astyanax lacustres*, além de outras alterações ligadas a imunorreações (MACÊDO *et al.*, 2020).

É interessante ressaltar, salvo poucas exceções (BOTINO et al, 2017; GIROTO et al., 2020), que muitos dos estudos até então desenvolvidos com organismos aquáticos utilizaram peixes como organismos-testes (GOMES et al., 2019; MACÊDO et al., 2020; MERÇON et al., 2021; MERÇON et al., 2022). A escolha dos organismos-teste é de grande importância e os bioensaios laboratoriais devem, preferencialmente, ser realizados com o máximo de grupos taxonômicos possível, sendo estes representativos dos ecossistemas aquáticos (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). Dessa forma, chama-se atenção para a utilização dos seguintes organismos em ensaios laboratoriais: (i) algas, (ii) cladóceros, (iii) macroinvertebrados bentônicos e (iv) peixes.

As algas, como a espécie *Raphidocelis subcapitata*, são representantes dos produtores primários aquáticos, servindo como alimento para outros níveis (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004). Dentre as vantagens na utilização das algas em ensaios ecotoxicológicos destacam-se o rápido ciclo de vida, alta taxa de crescimento e facilidade de manutenção em laboratório e sensibilidade a uma gama de contaminantes, fornecendo bons resultados na avaliação da toxicidade (KALLQUIST *et al.*, 2008). Os cladóceros, principalmente dafinídeos como a espécie neotropical *Ceriodaphnia silvestrii*, são abundantes em ambientes aquáticos e exercem importantes funções na cadeia alimentar ocupando diferentes níveis tróficos, são facilmente cultivados em laboratório e sensíveis à estressores ambientais (RAND & PETROCELLI, 1985). Dessa forma, são recomendados para representar os invertebrados aquáticos (IBAMA, 1987).

A utilização de macroinvertebrados bentônicos nos testes toxicológicos também é recorrente e o organismo da família Chironomidae (ordem díptera) e da subclasse Oligochaeta são amplamente utilizados. Esses organismos são facilmente obtidos e mantidos em laboratório, além de apresentarem tamanho corporal relativamente grande, que facilita a manipulação, e capacidade de resposta a diversos contaminantes (FONSECA, 1997; OECD 2008; EFSA 2015). Além disso, exercem importante papel na ciclagem de matéria orgânica, sendo grupos intermediários chaves na transferência de matéria e energia e, consequentemente, de contaminantes, para os níveis superiores (CUMMINS *et al.*, 1973; FISHER & LIKENS, 1973; CORBi *et al.* 2015). As espécies de quironomídeo *Chironomus sancticaroli*, em sua fase larval, e de oligoqueta *Alonais inaequalis*, são de hábito bentônico, estando em contato direto com o sedimento e aos compostos ali presentes (SMITH *et al.* 1991; CORBI *et al.* 2015; GOMES *et al.* 2017). Além disso, são representantes da biota

neotropical e já utilizados como organismos-teste em ensaios laboratoriais (FONSECA & ROCHA, 2004; CORBI *et al.* 2015).

A utilização de peixes, como o *Danio rerio*, também é recomendada, pois esses ocupam posições mais altas na cadeia trófica, representando os consumidores secundários ou terciários (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). As vantagens de utilização dos peixes são: tamanho corporal, obtenção e manutenção de baixo custo e capacidade de absorção rápida de compostos e expressão rápida do efeito. Além disso, os bioensaios com *D. rerio* já são padronizados e utilizados em larga escala para a avaliação de efeitos tóxicos, permitindo uma boa base de dados para comparação ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Dada à contextualização geral, o objetivo deste estudo foi verificar, em bioensaios laboratoriais, os efeitos da contaminação ambiental pelo rejeito da barragem de Fundão, nas espécies supracitadas, por simulação ao que ocorreu nos ambientes aquáticos adjacentes ao rompimento da barragem. Para tal, foram utilizadas amostras de água e sedimento coletadas em modelos ecossistêmicos (mesocosmos) contaminados com o rejeito proveniente da área afetada.

# 2 Metodologia

#### 2.1 Mesocosmos

A contaminação ambiental por rejeito de mineração foi simulada em mesocosmos previamente instalados no Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CRHEA), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), da Universidade de São Paulo (USP), localizado no município de Itirapina - SP. Maiores detalhes sobre a instalação e operacionalização dos mesocosmos já foram apresentados no Capítulo II desta tese de doutorado.

## 2.2 Coleta de rejeito e contaminação

Os procedimentos adotados para a coleta de rejeito e contaminação dos mesocosmos estão apresentados no Capítulo II desta tese de doutorado.

### 2.3 Amostragens

Amostras de água foram coletadas nos mesocosmos antes da contaminação, logo após a contaminação (dia da contaminação) e 1, 2 e 3 meses após a contaminação para análises ecotoxicológicas. Da mesma forma, amostras de sedimento foram obtidas antes e após a

contaminação, 1 e 7 dias após e 4 e 5 meses após a contaminação. A água foi amostrada utilizando uma bomba de aquário acoplada a uma mangueira que, manualmente, era movimentada por toda a área do tanque, permitindo uma amostragem mais homogênea. As amostras foram armazenadas em garrafas plásticas atóxicas e mantidas resfriadas (4°C) para ensaios posteriores. O sedimento foi coletado com amostradores do tipo core (15 cm de diâmetro). Duas subamostras foram obtidas por mesocosmos, que foram misturadas em um único recipiente plástico e preservadas (4°C). O período em que as amostras permaneceram resfriadas foi o suficiente para que a fauna presente fosse extinta e não interferisse nos testes laboratoriais.

### 2.4 Análise de metais

Das amostras de água e sedimento coletadas pré e após a contaminação, foram retiradas subamostras para análise de metais. Os metais ferro (Fe), Manganês (Mn), Chumbo (Pb), Zinco (Zn), Cadmio (Cd) e Alumínio (Al) foram quantificados nas amostras de água no Laboratório de Saneamento do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS, USP campus São Carlos). Para o sedimento, os metais Fe, Mn, Pb, Zn e Cobre (Cu) foram quantificados no Departamento de Ciências Ambientais da Universidade Livre de Amsterdam (*Vrije Universiteit*). As análises em ambas as matrizes foram feitas por espectrofotometria direta de absorção atômica AA 240FS VARIAN, de acordo com metodologias específicas (SMWW 3111B e SMWW 3111D, respectivamente), pela qual cada metal absorve um cumprimento de onda específico (MIRANDA, 2017).

# 2.5 Bioensaios de toxicidade

Foram realizados testes de toxicidade aguda e crônica com as amostras de ambas as matrizes. Os organismos testados, assim como o tipo de teste (agudo/crônico) e matriz estão listados na Tabela 1. Os procedimentos específicos para cada experimento serão descritos em sequência.

# 2.5.1 Ensaios laboratoriais com amostras de Água

## 2.5.1.1 Raphidocelis subcapitata

A microalga *R. subcapitata* Korshikov Nygaard, 1987 (Chlorococcales, Chlorophyta) foi exposta a amostras de água coletadas nos períodos descritos anteriormente. A microalga foi obtida na cultura-estoque mantida em laboratório (NEEA/CRHEA/EESC/USP), segundo

as normas da ABNT NBR12648/2018. O cultivo foi feito em meio L.C. Oligo, previamente autoclavado a 121 °C por 15 minutos. Uma porção do inóculo da cultura sólida de *R. subcapitata* (volume suficiente para obtenção de concentração igual a 3\*10<sup>5</sup> células mL<sup>-1</sup>) foi transferida para o meio de cultura em condições assépticas. Posteriormente, a cultura foi incubada a 25 ± 2°C, com agitação (100-175 rpm) e luminosidade (4.500 lux) contínuas, por um período de 5 a 7 dias, até atingir a fase exponencial de crescimento. Os inóculos foram mantidos em meio ágar inclinado com peptona protease, em condições controladas de temperatura e luminosidade (ABNT NBR 12648/2018).

Os ensaios foram conduzidos nas condições de meio de cultivo, temperatura, luminosidade e agitação indicados pela norma ABNT NBR12648/2018 para ensaios laboratoriais crônicos com amostras ambientais. Para tal, as amostras foram enriquecidas com as soluções nutritivas que constituem o meio L. C. Oligo, para que contivessem as mesmas condições de crescimento do grupo controle, constituído apenas por meio de cultura (controle laboratorial). O teste foi realizado em sistemas fechados (*Erlenmeyer*) contendo 100 mL de amostra, em triplicata para cada mesocosmo e controle. Todas as réplicas receberam o inóculo (volume suficiente para obtenção de concentração igual a 3\*10<sup>5</sup> células mL<sup>-1</sup>) e foram incubadas por 96h (ABNT NBR 12648/2018).

Ao final do teste (96h), alíquotas de 2,7 mL foram retiradas e fixadas com 300 μL de uma solução de formol:bórax (1 L de formol 37% : 10g de bórax), posteriormente levadas ao freezer (-20 °C) no escuro por 10 minutos para paralização do crescimento populacional. Após esta etapa, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em frio (-20 °C) para análises em citometria de fluxo (FACSCalibur, BECTON DICKINSON, SAN JOSE, CA, EUA). Antes da leitura, foram adicionados à amostra 10 μL de padrão interno constituído de esferas fluorescentes de 6 μm de diâmetro (Fluoresbrite carboxylate microspheres; Polysciences, Warrington, Pensilvânia, EUA). As amostras foram lidas em alta velocidade (aproximadamente 60 μL min<sup>-1</sup>) com a contagem de cerca de 10.000 eventos (número de células). Foram determinados por citometria a densidade, tamanho (FSC-H) e complexidade celular (SSC-H), além da fluorescência da clorofila *a* (FL3-H). Os dados foram acessados no *software* CellQuest Pro BD e tratados no *software* FlowJo V10.0 (Treestar.com, EUA).

#### 2.5.1.2 Ceriodaphnia silvestrii

Para a espécie *C. silvestrii* Daday, 1902, (Crustacea, Cladocera, Daphnidae), os testes agudos foram realizados com amostras coletadas antes e no dia da contaminação. Os ensaios

crônicos foram conduzidos com amostras pré-contaminação, de 1 dia e 1, 2 e 3 meses após a contaminação. Para isso, neonatos foram obtidos a partir de cultura-estoque mantida em laboratório (NEEA/CRHEA/EESC/USP), segundo as normas da ABNT NBR 13373 (2017). Os cultivos foram mantidos em cristalizadores de vidro (2 L), contendo água reconstituída (pH 7,0-7,6, dureza 40-48 mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>), em temperatura de 23 ± 2°C e fotoperíodo de 16:8h (claro: escuro), sendo alimentados diariamente (alimento composto e suspensão algácea de *R. subcapitata:* 1x10<sup>6</sup> células organismo<sup>-1</sup>).

Os testes de toxicidade aguda (48h) foram feitos em copos plásticos atóxicos (50 mL), contendo 10 mL de amostra e cinco neonatos (entre 6 e 24 horas de idade) cada, com quatro réplicas para cada mesocosmo, totalizando 20 organismos por tratamento. Os organismos não foram alimentados e a água não foi renovada. No fim do experimento (48h) a imobilidade foi avaliada (ABNT NBR 12713, 2016). Nos testes crônicos, neonatos (entre 6 e 24 horas de idade) foram expostas a 15 mL de amostra, com dez réplicas para cada mesocosmo contendo um organismo cada, totalizando 10 organismos por tratamento. O alimento foi fornecido a cada 48h após a troca total da solução teste. O *endpoint* do experimento foi dado pela contagem de neonatos por fêmea durante 7 dias de exposição (ABNT NBR13373, 2017). Todos os testes (agudos e crônicos) foram mantidos em salas com temperatura controlada (23 ± 2°C), fotoperíodo de 16h:8h (claro: escuro) e intensidade luminosa de 1000 lux. Além disso, controles laboratoriais foram preparados com água de cultivo.

#### 2.5.1.3 Danio rerio

Foram realizados ensaios agudos nos quais espécimes do peixe *D. rerio* Hamilton-Buchanan, 1822 (Teleostei, Cyprinidae) foi exposto a amostras de água coletadas antes e no dia da contaminação. Os peixes foram obtidos comercialmente e mantidos no laboratório (NEEA/USP), em aquários contendo 15 L de água de cultivo e 15 L com água de manutenção recomendada pela norma ABNT NBR 15088 (2016). A água de manutenção foi aerada constantemente, com temperatura controlada (26°C ± 2°C), dureza de 40-48 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> e pH entre 7,0 - 7,6 (ABNT NBR 15088/2016). Os espécimes adquiridos possuíam peso e comprimento homogêneos e os peixes utilizados na biometria não foram usados nos bioensaios devido ao estresse do manuseio (ABNT NBR 15088/2016).

Os testes de toxicidade tiveram duração de 96h. Durante este período, dez organismos por tratamento foram expostos às amostras de água em duplicata (cinco organismos por réplica). Não houve a renovação da água e os organismos não foram alimentados. Ao final do teste, a imobilidade e mortalidade foram registradas (ABNT NBR 15088/2016).

#### 2.5.2 Ensaios laboratoriais com amostras de sedimento

## 2.5.2.1 Allonais inaequalis

Ensaios agudos com o oligoqueta *Allonais inaequalis* Stephenson, 1911 (Oligochaeta: Naididae) foram realizados com amostras de sedimento coletadas antes, no dia e após um dia da contaminação. Os ensaios crônicos foram feitos com amostras de sedimentos coletadas antes, no dia após, 1 e 7 dias e 4 e 5 meses após a contaminação. Os organismos foram obtidos em cultura-estoque mantida em laboratório (NEEA/CRHEA/EESC/USP), segundo adaptação do método descrito em Corbi *et al.* (2015). Os cultivos foram feitos em bandejas plásticas contendo uma camada de sedimento artificial (areia calcinada a 550 °C) e meio de cultivo (água reconstituída com dureza de 12-18 mg CaCO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup>, condutividade elétrica de 25-50 μS cm<sup>-1</sup> e pH de 6,5 - 7,5), com alimentação semanal (20 mL de solução de ração Tetramin<sup>®</sup> 5 g L<sup>-1</sup>).

Os testes agudos (96) foram conduzidos em copos de 50 mL, contendo 5g de amostra de sedimento e 20 mL de água de cultivo, com seis organismos adultos por recipiente, 18 organismos por mesocosmo. Os controles foram compostos de 20mL da água de cultivo e 5g de sedimento artificial. Os testes foram feitos com três réplicas por tratamento, mantidos a 23 °C ± 2, fotoperíodo de 12:12h (claro: escuro) e sem alimentação. O *endpoint* deste teste foi a mortalidade e as condições gerais foram adaptadas de Corbi, *et al* (2015). Os testes crônicos tiveram duração de 10 dias, nos quais 10 organismos por réplica (3 por tratamento) foram expostos a 50g de amostra de sedimento e 200mL de água de cultivo, nas mesmas condições de temperatura e luminosidade citadas anteriormente, com aeração diária por 1 minuto para manutenção da saturação de oxigênio. O teste foi conduzido com alimentação em dias alternados, nas mesmas proporções do cultivo. Ao final do experimento, o *endpoint* observado foi o crescimento populacional. Para tal, os organismos foram fixados em formalina e corados com rosa de bengala. A contagem foi feita posteriormente em bandejas translucidas apoiadas sobre mesa de luz.

## 2.5.2.2 Chironomus sancticaroli

Ensaios agudos foram realizados com larvas do mosquito *Chironomus sancticaroli* Strixino & Strixino, 1981 (Diptera, Chironomidae) expostas a amostras de sedimentos coletadas antes e logo após a contaminação. Os organismos foram obtidos de cultura estoque mantidas em laboratório (NEEA/USP), seguindo-se as recomendações de Fonseca & Rocha (2004), em bandejas plásticas contendo areia calcinada e água reconstituída, semelhante a

descrita para *A. inaequalis*. As bandejas foram cobertas por gaiolas de nylon para a retenção dos adultos e mantidas sob aeração constante, com temperatura controlada 23 ± 2°C e fotoperíodo de 12:12h (claro:escuro). As larvas foram alimentadas a cada 48h com solução de Tetramin<sup>®</sup> (5g L<sup>-1</sup>) (FONSECA & ROCHA 2004).

Nos testes de toxicidade aguda, larvas de *C. sancticaroli* (7 a 8 dias) foram expostas por 96h a 50 g de amostras de sedimento com 200 mL da água de cultivo. Os controles foram compostos de 200 mL da água de cultivo e 50 g de areia. O teste foi feito em triplicata por tratamento, com 6 larvas, e cada tratamento recebeu um total de 18 organismos, sendo mantido nas mesmas condições dos cultivos, com alimentação a cada 48h. O *endpoint* foi a mortalidade e as condições gerais dos experimentos foram baseadas no descrito por Fonseca & Rocha (2004).

## 2.6 Sensibilidade dos organismos teste

Antes do início dos bioensaios, todos os cultivos de organismos-teste foram submetidos a testes de sensibilidade a fim de se avaliar as condições fisiologicas dos organismos-teste utilizado diferentes concentrações da substância de referência — Cloreto de sódio (NaCl) para *R. subcapitata* e *C. silvestrii* e Cloreto de Potássio (KCl) para *A. inaequalis*, *C. sancticaroli*, e *D. rerio* (Tabela 2).

## 2.7 Análises estatísticas

Os efeitos na imobilidade/sobrevivência (testes agudos) em *C. silvestrii*, *A. inaequalis* e *C. sancticaroli* foram analisados por meio de Modelos Lineares Gerais (GLM) com Família Binomial e função de ligação logit no *software* R versão 3.6.0 (2009) com a aplicação de RStudio versão 1.2.1335 (2019). Os efeitos crônicos na reprodução de *C. silvestrii* e de crescimento populacional em *R. subcapitata* e *A. inaequalis* ao longo do tempo foram analisados por meio de ANOVA de modelos mistos com teste post-hoc de Tukey e Dunnet com os pressupostos da normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste Levene) previamente testados. O teste de Mauchly foi utilizado para avaliar a esfericidade das medidas repetidas, e a correção de Greenhouse-Geisser foi aplicada quando houve não conformidade. Todas as comparações de tratamentos com o grupo controle foram realizadas com nível de confiança de 95% (p < 0,05).

#### 3 Resultados

## 3.1 Metais na água e sedimento

As figuras 1 e 2 apresentam as concentrações de metais quantificadas nas amostras de água e sedimento, respectivamente, coletadas nos três mesocosmos em períodos pré e póscontaminação. Todos os metais, com exceção do Pb no T6, foram quantificados em maiores concentrações na água após a contaminação, bem como todos os metais com exceção do Cu no T5 foram quantificados em maiores concentrações no sedimento coletados após contaminação.

A água contaminada apresentou valores mínimos e máximos de 0,075 e 0,202 mg  $L^{-1}$  de Zn; 0,005 e 0,008 mg  $L^{-1}$  de Cd; 22,13 e 61,7 mg  $L^{-1}$  de Fe; 0,04 e 0,18 mg  $L^{-1}$  de Pb; 0,522 e 1,194 mg  $L^{-1}$  de Mn e 1,16 e 5,75 mg  $L^{-1}$  de Al (Figura 1). O sedimento contaminado apresentou valores mínimos e máximos de 3,267 e 8,52 mg kg<sup>-1</sup> de Zn; 3,165 e 19,694 mg kg<sup>-1</sup> de Cu; 14142,708 e 35511,2923 mg kg<sup>-1</sup> de Fe; 2,284 e 4,131 mg kg<sup>-1</sup> de Pb e 22,83 e 507,653 mg kg<sup>-1</sup> de Mn (Figura 2).

#### 3.2 Ensaios laboratoriais

## 3.2.1 Raphidocelis subcapitata

A densidade, o tamanho e a complexidade celular foram afetadas nos experimentos em que a água do dia da contaminação foi utilizada como matriz. De maneira geral, houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos (F = 24, 48 e p < 0,001); ao longo do tempo (F=18.83 e p < 0,001) e entre os tratamentos ao longo do tempo (F=5.59 e p < 0,001) para a densidade celular; entre os tratamentos (F=23.92 e p < 0,001); ao longo do tempo (F=11.24 e p < 0,001) e entre os tratamentos ao longo do tempo (F=5.073 e p < 0,001) para o tamanho celular e entre os tratamentos (F=23.15 e p < 0,001); ao longo do tempo (F=5.567 e p < 0,001) e entre os tratamentos ao longo do tempo (F=5.027 e p < 0,001) para a complexidade celular. A fluorescência da clorofila p a presentou diferença ao longo do tempo (F=8.695 e p < 0,001) e entre os tratamentos ao longo do tempo (F=3.049 e p < 0,001).

Quando analisados comparativamente um-a-um, nota-se que o crescimento celular diminuiu significativamente (p < 0.05) para os três mesocosmos, tanto em relação ao controle de laboratório, quanto em relação ao mesmo mesocosmo no período pré-contaminação (Figura 3A). O tamanho celular apresentou diferença significativa (p < 0.05) em relação ao controle no mesocomos T3 dois meses após a contaminação e em T5 três meses após a contaminação, evidenciando um aumento no tamanho celular. De forma contrária, houve uma diminuição do tamanho celular da alga exposta à água do mesocosmo T6 (p < 0.05) do dia da contaminação em relação ao período pré-contaminação (Figura 3B). A complexidade celular

apresentou diferença estatística (p<0,05) para microalgas expostas à água do T6 do dia da contaminação e água do T5 coletada três meses após a contaminação, ambos em relação ao controle laboratorial (Figura 3C). A fluorescência apresentou aumento significativo (p<0,05) no T5 três meses após a contaminação, tanto em relação ao controle laboratorial, quanto em relação aos valores do mesmo mesocosmo pré-contaminação. Além disso, houve uma diminuição significativa (p<0,05) na fluorescência das algas expostas a amostras do T3 coletadas dois meses após a contaminação em relação ao mesmo tanque pré-contaminação (Figura 3D).

# 3.2.2 Ceriodaphnia silvestrii

Os testes com o cladócero C. silvestrii evidenciaram ausência de toxicidade aguda (mortalidade/imobilidade) para água coletada após a contaminação em todos os mesocosmos. Os testes crônicos com exposição de C. silvestrii à água dos três mesocosmos (T3, T5 e T6) indicaram efeitos estatisticamente significativos para a reprodução do cladócero, tanto em número de neonatos, quanto para o dia inicial da reprodução. De maneira geral, houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos (F=21,78 e p < 0,001); ao longo do tempo (F=9,486 e p < 0,001) e entre os tratamentos ao longo do tempo (F=9,699 e p < 0,001) quanto ao número de neonatos. A água coletada um dia após a contaminação apresentou toxicidade crônica (p < 0,05), reduzindo a reprodução nos tratamentos T5 e T6, em relação ao controle laboratorial. Apesar de não ter apresentado diferença estatística significativa em relação ao controle (p > 0,05), a água do T3 causou diminuições na reprodução (p < 0,05) em comparação ao mesmo mesocosmo antes da contaminação. O efeito na reprodução dos organismos para T3 passou a ser significativo (p < 0,05) em relação ao controle (Figura 4A) após um, dois e três meses da data da contaminação.

A contaminação teve efeito no período para início da reprodução de C. silvestrii. Houve atraso (p < 0.5) no dia da primeira ninhada de neonatos para testes com água do mesocosmo T6 coletadas no dia da contaminação, em relação ao controle do laboratório. Para o mesmo mesocosmo T6 houve, posteriormente, adiantamento no dia da primeira reprodução (p < 0.001) em teste com água coletada dois meses após a contaminação. A exposição a amostras do T5 também apresentou redução significativa (p < 0.05) no dia da primeira ninhada em ensaios com amostras de três meses após a contaminação, todos em relação ao controle laboratorial (Figura 4B).

## 3.2.3 Allonais inaequalis

O sedimento contaminado com o rejeito causou efeito agudo (mortalidade) e crônico (crescimento populacional) em A. inaequalis. Todos os três mesocosmos (T3, T5 e T6) apresentaram mortalidade significativa (p < 0,001) em relação ao controle (Figura 5A). Em relação ao crescimento populacional, de maneira geral, houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos (F=9,98 e p < 0,001) e ao longo do tempo (F=4,78 e p < 0,001). Especificamente, houve diferença significativa (p < 0,05) para T3 e T5 no dia da contaminação e para T3, T5 e T6 com sedimento coletado um dia após a contaminação. Observou-se redução populacional significativa (p < 0,05) também em testes com sedimento coletados quatro meses após a contaminação no T5 e cinco meses após a contaminação nos mesocosmos T5 e T6, todos em relação ao controle de laboratório (Figura 5B).

#### 3.2.4 Chironomus sancticaroli e Danio rerio

Não foi observada toxicidade aguda para D. rerio e C. sancticaroli expostos, respectivamente, a amostras de água e sedimento (p > 0,05). Dessa forma, sugere-se que estudos posteriores considerem a possibilidade de realização de ensaios crônicos com estes organismos, além de outros endpoints.

## 4 Discussão

Localizada na região centro-sul do estado de Minas Gerais e pertencente à microrregião de Ouro Preto, o município de Mariana tem uma área de 1.194,21 km², aproximadamente 58 mil habitantes (ROESER & ROESER, 2010) e utiliza a mineração como principal atividade econômica, tendo a SAMARCO mineração S.A. como empresa responsável desde 1977 pela extração local do ferro (BRASIL, 2009). No dia 05 de novembro de 2015, o rompimento da barragem do Fundão, uma das três do complexo localizado no subdistrito de Bento Rodrigues, causou o maior desastre ambiental do Brasil até aquele momento (FERNANDES *et al.*, 2016). Desde então, começaram os esforços da comunidade científica a fim de compreender mais especificamente a magnitude do impacto causado pelos milhões de metros cúbicos de rejeito espalhados pelos diversos biomas.

No presente trabalho, foram constatados efeitos tóxicos do rejeito de mineração em algum nível para a maioria dos organismos testados neste estudo. O efeito mais proeminente observado para a microalga *R. subcapitata* foi a imediata redução significativa no crescimento populacional em todos os três mesocosmos contaminados pelo rejeito, observada tanto em

relação ao controle laboratorial (que variou de 4,5 a 20 vezes no dia da contaminação), quanto em relação as mesmas unidades pré-contaminação (reduzindo o crescimento populacional de 3,5 a 10 vezes). A exposição à água do T6 foi a que expressou maior redução na densidade celular, tanto em relação ao controle quanto em relação à coleta anterior à contaminação.

As algas são seres fotossintetizantes que dependem da incidência de luz para que se multipliquem e sua população cresça. Uma vez que as condições experimentais foram moldadas para reproduzir o cenário realístico do desastre ambiental, altos níveis de turbidez foram reproduzidos (aproximadamente 800.000 NTU na lama usada para contaminação e variáveis nos tratamentos T3: 1875; T5: 2550; T6: 1400 NTU, mensuradas após a adição do rejeito (dados não apresentados no artigo). Portanto, é provável que o efeito no crescimento populacional esteja diretamente relacionado à diminuição da entrada de luz devido ao aumento da turbidez nos sistemas. No entanto, talvez este não seja o único fator inibitório. Em estudos com água contaminada pelo rejeito do Fundão, amostradas ao longo do rio Doce, Quadra et al. (2019) constataram citogenotoxicidade em ensaios laboratoriais com Allium cepa. A presença do rejeito na água causou alterações nos índices mitóticos e de fase, além de aumento da frequência de aberrações cromossômicas nas raízes da cebola. No estudo, os autores correlacionaram os efeitos às altas concentrações de metais presentes nos rejeitos de mineração. Da mesma forma que a água do rio Doce contaminada interferiu no ciclo celular de A. cepa (QUADRA et al., 2019), a água contaminada no presente estudo também interferiu na divisão celular de R. subcapitata, causando redução do crescimento populacional. Efeitos citogenotóxicos podem reduzir o crescimento, a sobrevivência e afetar o desenvolvimento de organismos, podendo perturbar a função ecológica das espécies aquáticas (LEE E STEINERT, 2003; SCOTT E SLOMAN, 2004).

Diferentes alterações no tamanho, complexidade celular e fluorescência da clorofila *a* também foram observadas nos três mesocosmos em diferentes períodos após a contaminação. O mesocosmo T6 foi a unidade experimental cuja água contaminada causou efeitos mais imediatos, uma vez que além de redução na densidade celular, também causou microcitose (redução do tamanho celular em 1,6 vezes em relação ao mesmo mesocosmo anteriormente à contaminação) e aumento na complexidade celular (em 2,7 vezes) quando a água do dia da contaminação foi testada. Um mês após a contaminação, não foi observado efeito significativo para nenhum dos parâmetros testados em nenhum dos mesocosmos. No entanto, dois meses após a contaminação, a exposição a amostras do T3 causou aumento no tamanho celular (1,9 vezes) e redução da florescência da clorofila *a* (1,1 vezes). Três meses após a contaminação, a água coletada do T5 causou aumento do tamanho celular (em 2,13 vezes),

aumento da complexidade celular (2,5 vezes) e aumento da fluorescência da clorofila a (2,5 vezes em relação ao controle e 3,5 vezes em relação ao mesmo tanque anteriormente à contaminação).

Contaminantes podem afetar o tamanho e a forma das células por diversas razões, tais como: interrupção do ciclo anteriormente à divisão, alteração da permeabilidade celular e, por consequência, do potencial osmótico e pela formação de grandes quantidades de radicais oxidativos (FRANKLIN *et al.*, 2001; MACHADO & SOARES, 2014). A água de todos os três mesocosmos causou alterações no tamanho celular de algas em algum momento pós contaminação, assim como T5 e T6 promoveram aumento na complexidade celular. A complexidade celular também se dá devido a internalização de contaminantes em vacúolos e vesículas como forma de reduzir ou prevenir efeitos tóxicos (JUAREZ *et al.*, 2008), sendo em muitos estudos relacionada à presença de metais (MACHADO & SOARES, 2014; GEBARA *et al.*, 2020; REIS *et al.*, 2022).

A fluorescência da clorofila a está diretamente relacionada à eficiência nos processos fotossintéticos, uma vez que a luz absorvida que não estimula a produção de carboidratos é dissipada como calor ou reemitida como fluorescência (BRESTIC 7 ZIVCAK, 2013). A redução na produção de clorofila a em células fotossintetizantes gera consequências na performance fotossintética das algas. Tal alteração muitas vezes é atribuída a presença de cátions metálicos no sistema tais como Hg<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> e Cu<sup>2+</sup> que acabam por ocupar o lugar do Mg na molécula de clorofila a, prejudicando o processo fotossintético (BAUMANN et al., 2019). Costa et al. (2022) quantificaram Fe e principalmente Hg em organismos marinhos fitoplanctônicos coletados em áreas marinhas adjacentes a foz do rio Doce e associaram a presença destes metais ao sedimento contaminado com rejeito. A análise de metais do presente trabalho identificou concentrações de Cd (de 5 a 8 vezes), Zn (de 0,4 a 1,1 vezes), Mn (de 5 a 12 vezes) e Fe (de 73 a 205 vezes) maiores que os limites permitidos pela resolução CONAMA 357/2005 para águas doces. As concentrações detectadas desses metais nos mesocosmos foram maiores que as concentrações de efeito encontradas para algas (EC<sub>50</sub> Zn: 0.08 mg L<sup>-1</sup>, Cd: 0.018 mg L<sup>-1</sup>, Fe: 3.28 mg L<sup>-1</sup>, Pb: 3.3 mg L<sup>-1</sup>, Mn: 0.22 mg L<sup>-1</sup> e Al: 0,75 mg L<sup>-1</sup>) (ARBILDUA et al., 2016; AL-HASAWI et al., 2020; ALHO et al., 2022). Portanto, é de se esperar que todos os metais quantificados na água deste trabalho tenham exercido efeitos tóxicos para a alga R. subcapitata.

A exposição à água do T3 e T5 provocou alterações significativas na produção de clorofila *a*, sendo que o primeiro causou redução e o segundo aumento significativo. Esteves *et al.* (2020) também encontraram alterações na fluorescência da clorofila *a* testando três

diferentes plantas (painço, milho e sorgo) cultivadas diretamente no rejeito proveniente da barragem do Fundão. Enquanto o milho apresentou maior fluorescência, o sorgo apresentou menor fluorescência de clorofila *a* quando cultivados no rejeito. Apesar de não terem ocorrido em todos os mesocosmos e nem em todos os períodos amostrados, o aumento no tamanho, na complexidade celular e alterações na fluorescência da clorofila *a* foram observadas até três meses após a contaminação em pelo menos um dos mesocosmos. Tais resultados indicam que os efeitos da contaminação por rejeito podem ser duradouros. A mesma constatação foi levantada por Bonecker *et al.* (2022) quando, em estudos de campo com fitoplâncton marinho, encontrou menor diversidade e abundância destes na área estuarina da bacia do rio Doce, mesmo após quatro anos do desastre. Este e outros resultados foram relacionados pelos autores às altas concentrações de metais medidas na água. É importante ressaltar, conforme descrito na sessão de resultados, que não houve efeitos para nenhum dos quatro parâmetros avaliados para a água coletada anteriormente à contaminação, evidenciando que os resultados descritos explicitam alterações reais causadas pelo aporte de rejeito.

Considerando os resultados obtidos para *C. silvestrii*, destaca-se que a ausência de toxicidade aguda em bioensaios com cladóceros também já foi reportada por outros autores (ABESSA *et al.*, 2016; RIETZLER *et al.*, 2016; MENDES *et al.*, 2020). No entanto, efeitos crônicos sobre a reprodução foram observados para *C. silvestrii* e *C. dubia*. Mendes *et al* (2020), por exemplo, compilaram uma serie de dados de toxicidade gerados pela fundação RENOVA com amostras de água provenientes de pontos amostrais ao longo do Rio Doce e, apesar de não ter constatado toxicidade aguda, constataram toxicidade crônica (diminuição significativa na taxa de reprodução) para *C. dubia* em 47.35% dos ensaios realizados e a causa da toxicidade foi atribuída aos efeitos físicos causados pelo material particulado.

No presente trabalho, os bioensaios com *C. silvestrii* expostas à água coletada no dia da contaminação causou redução significativa na reprodução de 1,4 a 4,5 para todas as unidades experimentais em relação ao controle. No entanto, um mês após a contaminação, a água amostrada dos mesocosmos T5 e T6 já não causaram efeitos reprodutivos. Em contrapartida, o mesocosmo T3 continuou causando efeitos reprodutivos até três meses após a contaminação (redução em 18 vezes um mês após a contaminação e de 4,5 vezes após três meses), sendo que dois meses após houve uma inibição total na reprodução. Tal fator temporal não foi mais explorado neste trabalho, já que não houveram testes com amostras após o terceiro mês da contaminação. Mendes *et al.* (2020) também relataram que os efeitos crônicos para *C. dubia* permaneceram, em alguns pontos, por até 12 semanas após o aporte de rejeito, sendo atenuado após este período.

Outro endpoint reprodutivo observado foi a alteração no primeiro dia de reprodução. T6 apresentou atraso médio de 2 dias em relação ao controle quando a água do dia da contaminação foi testada. O mesmo mesocosmo apresentou adiantamento médio de 1,5 dias quando a água de dois meses após a contaminação foi testada. T5 também causou adiantamento médio de 1 dia na produção da primeira ninhada de neonatos quando a água testada foi a de três meses após a contaminação. O material publicado sobre a toxicidade do rejeito da barragem rompida ainda é escasso e ainda mais escassos são os estudos que levam em consideração outros possíveis efeitos crônicos. Dessa forma, esses efeitos reportados aqui contribuem com novas respostas acerca da contaminação provocada pelo rompimento da barragem de Fundão. Santos et al. (2021), em estudos de eclosão usando um banco de ovos de espécies diversas, verificaram que a presença do rejeito reduziu o número de espécies zooplanctônicas que eclodiram em relação ao controle e, ainda apontaram cinco espécies que somente eclodiram na ausência de contaminação, dentre elas a C. silvestrii, reforçando a sensibilidade da mesma as variadas concentrações de rejeito. Os resultados do presente estudo e de Santos et al (2021) ressaltam, portanto, a importância e necessidade de maior atenção para outros endpoints crônicos para além do número de neonatos, na avaliação do impacto de rejeito nas comunidades zooplanctônica.

Organismos planctônicos são ótimas ferramentas bioindicadoras de qualidade ambiental (ZEBRAL et al., 2021). Em estudos de campo Bonecker et al. (2022) observaram baixa diversidade na comunidade marinha zooplanctônica de locais afetados pela lama em comparação a sítios controles. A presença de altas concentrações de metais no período foi a causa apontada pelos autores para tal resposta. Além disso, foi observada uma alta correlação entre a comunidade zooplanctônica e a assembleia ictioplanctônica ressaltando a importância da biota zooplanctônica na abundância e diversidade de peixes. Esses resultados demonstram os efeitos em cascata relacionados a alterações nesse estrato da cadeia trófica (TUNER, 2004). Outro estudo de campo na região da foz do rio Doce, ressaltou a influência dos metais, especialmente Fe, Mn e Cd, no estresse fisiológico de micro e mesoplancton, causando alterações em biomarcadores de estresse oxidativo tais como aumento da peroxidação lipídica (LPO) em ambos grupos (microplâncton e mesoplâncton) e indução de metalotioneinas (MT) em microplâncton (MARQUES et al., 2022). Comparativamente com alguns estudos com metais (COOPER et al., 2009; OKAMOTO et al., 2020; GEBARA et al., 2021), quatro das seis concentrações de metais medidas na água no presente estudo (Zn, Fe, Pb e Al) apresentam potencial tóxico para C. silvestrii ou C. dubia. Tanto o efeito físico do material particulado, apontado por Mendes et al (2020), quanto a presença de metais nos ambientes afetados pelo rejeito do Fundão, são causas plausíveis que explicam, ainda melhor em conjunto, os efeitos tóxicos do rejeito sobre *C. silvestrii* no presente estudo.

O sedimento é o compartimento ambiental que armazena grande parte dos contaminantes que entram nos sistemas aquáticos e os organismos bentônicos refletem os efeitos destes contaminantes, uma vez que vivem diretamente em contato com eles. É estimado que 20 Mm<sup>3</sup> de rejeito tenham sido depositados somente nos primeiros 120 km a jusante da barragem rompida em Mariana (MACHADO, 2017). Apesar de vários autores terem demonstrado o impacto do rejeito no sedimento de diversas partes da bacia hidrográfica do rio Doce (SILVA et al., 2018; HATJE et al., 2017; SCHETTINI et al., 2020; ORLANDO et al., 2020; QUARESMA et al., 2020; 2021; COUTO et al., 2021), estudos ecotoxicológicos com organismos bentônicos ainda são extremamente escassos. Neste trabalho, tanto os bioensaios agudos quanto crônicos com A. inaequalis exposto ao sedimento contaminado com rejeito apresentaram efeitos tóxicos. A mortalidade foi expressiva afetando de 88 a 98% dos organismos, em relação ao controle, e a exposição crônica reduziu de 34 a 87% o crescimento populacional nos testes com sedimento coletado 7 dias após a contaminação. O efeito crônico se manteve mesmo em testes com sedimento coletado após 5 meses da contaminação, reduzindo entre 28 e 86% o crescimento populacional nesse período. Sabe-se do impacto físico que a entrada de rejeito causou soterrando e levando a morte das mais diversas espécies aquáticas (QUARESMA et al., 2021). No entanto, os resultados descritos no presente trabalho permitiram observar efeitos da contaminação pelo rejeito sem a interferência física. Uma vez que não foram encontrados estudos mais específicos sobre o efeito da exposição à lama de organismos bentônicos, não é possível afirmar com mais propriedade as causas da redução populacional obtida nos ensaios crônicos. No entanto, nota-se que o ensaio agudo resultou em morte para grandes porcentagens dos organismos testados, possibilitando a conclusão de que a redução populacional não se deu exclusivamente pela diminuição da taxa reprodutiva por individuo, mas também, muito provavelmente, pela diminuição no número de organismos aptos à reprodução.

Dentre as modificações que a entrada de rejeito trouxe aos sistemas naturais contaminados estão a alteração na atividade microbiana e decréscimo nos estoques de carbono e nutrientes verificadas mesmo após um ano da contaminação (COUTO *et al.*, 2021). Sabe-se, ainda, que o rejeito era formado por partículas finas (aprox. 2 µm) sendo que a entrada deste no sistema causou o aumento do teor de argila em até 70%. Acrescido a este fato está o aumento da turbidez, decorrente do material particulado fino suspenso e, ainda, a propriedade carreadora de metais que este material mais fino possui (HATJE *et al.*, 2017; QUARESMA *et* 

al., 2020). Neste sentido, diversos autores apontaram a presença de metais em altas concentrações em sedimentos atingidos pelo rejeito (SILVA et al., 2018; HATJE et al., 2017; SCHETTINI et al., 2020; ORLANDO et al., 2020; QUARESMA et al., 2021). Apesar das concentrações de alguns metais quantificadas no sedimento neste trabalho estarem dentro do estabelecido pela resolução CONAMA 420/2009 para solo e sedimento, a mesma não estabelece valores máximos permitidos para Fe e Mn. Estes estão entre os três metais quantificados em maiores concentrações em sedimentos contaminados pelo rejeito tanto neste quanto em outros estudos (SILVA et al., 2018; SCHETTINI et al., 2020; ORLANDO et al., 2020; OUARESMA et al., 2021), chegando a atingir 355 g kg<sup>-1</sup> de Fe e 507 mg Kg<sup>-1</sup> de Mn. Além do discutido, a presença da lama nos ambientes aquáticos potencializa a mobilização dos elementos traço do sedimento para a água (SILVA et al., 2018). Sendo assim, esses metais em altas quantidades podem exercer efeitos tóxicos aos organismos expostos (USEPA, 1985) não só do sedimento, mas também da coluna d'agua. Além disso, os metais presentes no sedimento e liberados para coluna d'água podem se acumular nos tecidos vivos com efeitos para os organismos e cadeias tróficas. Nesse sentido, Costa et al. (2022), verificaram o aumento na concentração de Hg no sedimento e no plâncton de água doce, assim como do Fe no sedimento e no fito e zooplâncton marinho. Na mesma linha, o aumento da concentração de Cd, Mn e Zn no sedimento foi acompanhada por aumentos nos tecidos de caranguejos de mangue, para o primeiro metal, e de praia, para os dois últimos.

Nota-se que, apesar da pouca atenção recebida, a contaminação do sedimento por rejeito é preocupante e é de extrema importância conhecer mais sobre seus efeitos para a biota aquática. Apesar do já evidenciado impacto causado nas regiões costeiras (COSTA *et al.*, 2022), apenas 0,5% do sedimento mobilizado chegou ao mar. Isso corresponde a 25 mil toneladas de ferro, 400 toneladas de Al e entre 1 e 4 toneladas de outros metais, porém a maior parte do rejeito permaneceu retida na bacia hidrográfica do rio Doce (SCHETTINI *et al.*, 2020), com potenciais efeitos nocivos às comunidades, evidenciados no presente trabalho.

A ausência de toxicidade aguda identificadas em *C. sancticaroli* e em *D. rerio* neste estudo está de acordo com outros estudos que não verificaram efeitos agudos de água contaminada em peixes (*Danio rerio* e *Geophagus brasiliensis*), cladóceros (*Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*) e bactéria (*Vibrio fischeri*) (ABESSA *et al.*, 2016; GOMES *et al.*, 2016; SARTORI *et al.*, 2016; RIETZLER *et al.*, 2016; MENDES *et al.*, 2020). Porém, ressalta-se a importância da realização de bioensaios crônicos, conforme observado para outras espécies, para verificação dos efeitos em maior tempo de exposição e na avaliação de efeitos subletais.

#### 5 Conclusões

Tanto a água quanto o sedimento contaminados pela simulação de contaminação pelo rejeito de mineração proveniente da barragem rompida do Fundão (Mariana/MG) em mesocosmos apresentaram toxicidade para organismos aquáticos. A água contaminada apresentou toxicidade crônica para a microalga *R. subcapitata*, diminuindo o crescimento populacional no momento imediato após a contaminação, afetando o tamanho das células, a complexidade celular e fluorescência em até três meses após a contaminação. Apesar de não ter causado efeito agudo, a contaminação também afetou a reprodução de *C. silvestri*, reduzindo o número de neonatos produzidas imediatamente após a contaminação e até três meses depois e alterando o tempo de início da reprodução, evidenciando alterações no desenvolvimento dos organismos. Por outro lado, o sedimento contaminado, apesar de não ter causado toxicidade aguda para *C. sancticaroli*, foi tóxico para *A. inaequalis* na exposição aguda e crônica, reduzindo o crescimento populacional imediatamente após a contaminação, com os efeitos persistindo até cinco meses após a contaminação. Não foi observado efeito agudo para *D. rerio* expostos à água contaminada, sugerindo a realização de testes crônicos mais específicos.

## Referências

ABESSA DMS; ALBUQUERQUE, HC; MORAIS, LG; MOREIRA, LB. XIV Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia – 2016. [s.l: s.n.]

ABNT NBR 12648 NBR12648 Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica. 2018. Disponível em: https://www.target.com.br/produtos/normas-tecnicas/39365/nbr12648-ecotoxicologia-aquatica-toxicidade-cronica-metodo-de-ensaio-com-algas-chlophyceae. Acesso em: 31 mar. 2022.

ABNT NBR 12713 NBR12713 Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda —. 2022. Disponível em: https://www.normas.com.br/visualizar/abnt-nbr-nm/4957/abnt-nbr12713-ecotoxicologia-aquaticatoxicidade-aguda-metodo-de-ensaio-com-daphnia-spp-crustacea-cladocera. Acesso em: 31 mar. 2022.

ABNT NBR 13373 NBR13373 Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica. 2017. Disponível em: https://www.target.com.br/produtos/normas-tecnicas/39220/nbr13373-ecotoxicologia-aquatica-toxicidade-cronica-metodo-de-ensaio-com-ceriodaphnia-spp-crustacea-cladocera. Acesso em: 31 mar. 2022.

ABNT NBR 15088 NBR15088 Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda -. 2022. Disponível em: https://www.normas.com.br/visualizar/abnt-nbr-nm/23585/abnt-nbr15088-ecotoxicologia-aquatica-toxicidade-aguda-metodo-de-ensaio-com-peixes-cyprinidae. Acesso em: 31 mar. 2022.

AL-HASAWI, Zaki M.; ABDEL-HAMID, Mohammad I.; ALMUTAIRI, Adel W.; TOULIABAH, Hussein E. Response of *Raphidocelis subcapitata* in Free and Alginate Immobilized Cells to Heavy Metals Toxicity. **Molecules 2020, Vol. 25, Page 2847**, [S. l.], v. 25, n. 12, p. 2847, 2020. DOI: 10.3390/MOLECULES25122847. Disponível em: https://www.mdpi.com/1420-3049/25/12/2847/htm. Acesso em: 31 mar. 2022.

ALHO, Lays de Oliveira Gonçalves; GEBARA, Renan Castelhano; MANSANO, Adrislaine da Silva; ROCHA, Giseli Swerts; MELÃO, Maria da Graça Gama. Individual and Combined Effects of Manganese and Chromium on a Freshwater Chlorophyceae. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 00, n. 00, p. 1–12, 2022. DOI: 10.1002/etc.5285.

ANDRADES, Ryan; GUABIROBA, Helder C.; HORA, Maik S. C.; MARTINS, Rebeka F.; RODRIGUES, Vitor L. A.; VILAR, Ciro C.; GIARRIZZO, Tommaso; JOYEUX, Jean Christophe. Early evidences of niche shifts in estuarine fishes following one of the world's largest mining dam disasters. **Marine Pollution Bulletin**, [S. l.], v. 154, n. January, 2020. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020.111073.

ARBILDUA, Jose J.; VILLAVICENCIO, German; URRESTARAZU, Paola; OPAZO, Margaret; BRIX, Kevin V.; ADAMS, William J.; RODRIGUEZ, Patricio H. Effect of Fe (III) on *Raphidocelis subcapitata* at circumneutral pH in standard laboratory tests is explained by nutrient sequestration. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 952–958, 2017. DOI: 10.1002/ETC.3609. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.3609. Acesso em: 31 mar. 2022.

BAUMANN, Hans A.; MORRISON, Liam; STENGEL, Dagmar B. Metal accumulation and toxicity measured by PAM—Chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 72, n. 4, p. 1063–1075, 2009. DOI: 10.1016/J.ECOENV.2008.10,010.

BENEDICTO, J., Martínez-Gómez, C., CAMPILLO, J.. Induction of metallothioneins in Mullus barbatus as specific biomarker of metal contamination: A field study in the western Mediterranean. [s.d.]. **Cienc. Mar.** 31, 265–274 2005. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_abstract&pid=S0185-38802005000200013&lng=es&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 31 mar. 2022.

BESSER, John M.; BRUMBAUGH, William G.; ALLERT, Ann L.; POULTON, Barry C.; SCHMITT, Christopher J.; INGERSOLL, Christopher G. Ecological impacts of lead mining on Ozark streams: toxicity of sediment and pore water. **Ecotoxicology and environmental safety**, [S. l.], v. 72, n. 2, p. 516–526, 2009. DOI: 10.1016/J.ECOENV.2008.05.013. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18603298/. Acesso em: 31 mar. 2022.

BONECKER, Ana Cristina Teixeira *et al.* An integrated study of the plankton community after four years of Fundão dam disaster. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150613.

BOTTINO, F.; MILAN, J. A. M.; CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI, I. Influence of the residue from an iron mining dam in the growth of two macrophyte species. **Chemosphere**, [S. l.], v. 186, p. 488–494, 2017. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.08.030.

BOULARBAH, Ali; SCHWARTZ, Christophe; BITTON, Gabriel; ABOUDRAR, Wafae; OUHAMMOU, Ahmed; MOREL, Jean Louis. Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. **Chemosphere**, [S. l.], v. 63, n. 5, p. 811–817, 2006. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2005.07.076.

BRESTIC, Marian; ZIVCAK, Marek. PSII Fluorescence Techniques for Measurement of Drought and

High Temperature Stress Signal in Crop Plants: Protocols and Applications. **Molecular Stress Physiology of Plants**, [S. l.], p. 87–131, 2013. DOI: 10.1007/978-81-322-0807-5\_4. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-81-322-0807-5\_4. Acesso em: 31 mar. 2022.

CARMO, Flávio Fonseca Do *et al.* Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. **Perspectives in Ecology and Conservation**, *[S. l.]*, v. 15, n. 3, p. 145–151, 2017. DOI: 10.1016/J.PECON.2017.06.002.

CASTELHANO GEBARA, Renan; DE OLIVEIRA GONÇALVES ALHO, Lays; BRUNO DE ABREU, Cínthia; DA SILVA MANSANO, Adrislaine; MOREIRA, Raquel Aparecida; SWERTS ROCHA, Giseli; GAMA MELÃO, Maria da Graça. Toxicity and Risk Assessment of Zinc and Aluminum Mixtures to Ceriodaphnia silvestrii (Crustacea: Cladocera). Environmental Toxicology and Chemistry, [S. 1.], v. 40, n. 10, p. 2912–2922, 2021. DOI: 10.1002/ETC.5162. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.5162. Acesso em: 31 mar. 2022.

COOPER, Naomi L.; BIDWELL, Joseph R.; KUMAR, Anu. Toxicity of copper, lead, and zinc mixtures to Ceriodaphnia dubia and Daphnia carinata. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 72, n. 5, p. 1523–1528, 2009. DOI: 10.1016/J.ECOENV.2009.03.002.

CORBI, Juliano José; GORNI, Guilherme Rossi; CORREA, Regiane Cristina. An evaluation of Allonais inaequalis Stephenson, 1911 (Oligochaeta: Naididae) as a toxicity test organism. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 7–11, 2015. DOI: 10,5132/EEC.2015.01.02. Disponível em: https://siaiap32.univali.br/seer/index.php/eec/article/view/6658. Acesso em: 31 mar. 2022.

COSTA, Patrícia Gomes; MARUBE, Liziane Cardoso; ARTIFON, Vanda; ESCARRONE, Ana Laura; HERNANDES, Juliana Carriconde; ZEBRAL, Yuri Dornelles; BIANCHINI, Adalto. Temporal and spatial variations in metals and arsenic contamination in water, sediment and biota of freshwater, marine and coastal environments after the Fundão dam failure. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151340.

COSTA, Patrícia Gomes; MARUBE, Liziane Cardoso; ARTIFON, Vanda; ESCARRONE, Ana Laura; HERNANDES, Juliana Carriconde; ZEBRAL, Yuri Dornelles; BIANCHINI, Adalto. Temporal and spatial variations in metals and arsenic contamination in water, sediment and biota of freshwater, marine and coastal environments after the Fundão dam failure. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151340.

COUTO, Fernanda Resende; FERREIRA, Angela de Mello; PONTES, Patrícia Procópio; MARQUES, Andréa Rodrigues. Physical, chemical and microbiological characterization of the soils contaminated by iron ore tailing mud after Fundão Dam disaster in Brazil. **Applied Soil Ecology**, [S. l.], v. 158, n. April 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103811.

CUMMINS, Kenneth W.; PETERSEN, Robert C.; HOWARD, Frederick O.; WUYCHECK, John C.; HOLT, Virgina I. The Utilization of Leaf Litter by Stream Detritivores. **Ecology**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 336–345, 1973. DOI: 10.2307/1934341.

D'AZEREDO ORLANDO, Marcos Tadeu *et al.* Tracing iron ore tailings in the marine environment: An investigation of the Fundão dam failure. **Chemosphere**, [S. l.], v. 257, 2020. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.127184.

DA SILVA JUNIOR, Carlos Antonio; COUTINHO, Andressa Dias; DE OLIVEIRA-JÚNIOR, José Francisco; TEODORO, Paulo Eduardo; LIMA, Mendelson; SHAKIR, Muhammad; DE GOIS, Givanildo; JOHANN, Jerry Adriani. Analysis of the impact on vegetation caused by abrupt deforestation via orbital sensor in the environmental disaster of Mariana, Brazil. **Land Use Policy**, [S. l.], v. 76, n. April, p. 10–20, 2018. DOI: 10.1016/j.landusepol.2018.04.019.

DOS REIS, Larissa Luiza; ALHO, Lays de Oliveira Gonçalves; DE ABREU, Cínthia Bruno; GEBARA, Renan Castelhano; MANSANO, Adrislaine da Silva; MELÃO, Maria da Graça Gama. Effects of cadmium and cobalt mixtures on growth and photosynthesis of *Raphidocelis subcapitata* (Chlorophyceae). **Aquatic Toxicology**, [S. l.], v. 244, p. 106077, 2022. DOI: 10.1016/J.AQUATOX.2022.106077.

ESTEVES, Gisele de Fátima; BRESSANIN, Leticia Aparecida; DE SOUZA, Kamila Rezende Dázio; DA SILVA, Adriano Bortolotti; MANTOVANI, José Ricardo; MARQUES, Daniele Maria; MAGALHÃES, Paulo César; PASQUAL, Moacir; DE SOUZA, Thiago Corrêa. Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 27, n. 31, p. 38662–38673, 2020. b. DOI: 10.1007/s11356-020-10013-w.

FERNANDES, Geraldo Wilson *et al.* Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza e Conservação**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 35–45, 2016. DOI: 10.1016/j.ncon.2016.10.003.

FISHER, Stuart G.; LIKENS, Gene E. Energy Flow in Bear Brook, New Hampshire: An Integrative Approach to Stream Ecosystem Metabolism. **Ecological Monographs**, [S. l.], v. 43, n. 4, p. 421–439, 1973. DOI: 10.2307/1942301.

FONSECA, A. L. ROCHA, O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus Rempel*, 1939 (Diptera, Chironomidae). **Acta Limnologica Brasiliensia**, 16: 153–161. 2004.

FRANKLIN, Natasha M.; STAUBER, Jennifer L.; LIM, Richard P.; PETOCZ, Peter. Toxicity of metal mixtures to a tropical freshwater alga (Chlorella sp.): The effect of interactions between copper, cadmium, and zinc on metal cell binding and uptake. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 21, n. 11, p. 2412–2422, 2002. DOI: 10.1002/ETC.5620211121.

FREITAS, Carlos Machado De; SILVA, Mariano Andrade Da; MENEZES, Fernanda Carvalho De. O desastre na barragem de mineração da Samarco: fratura exposta dos limites do Brasil na redução de risco de desastres. **Ciência e Cultura**, [S. l.], v. 68, n. 3, p. 25–30, 2016. DOI: 10.21800/2317-66602016000300010. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0009-67252016000300010&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 31 mar. 2022.

GEBARA, Renan Castelhano; ALHO, Lays de Oliveira Gonçalves; ROCHA, Giseli Swerts; MANSANO, Adrislaine da Silva; MELÃO, Maria da Graça Gama. Zinc and aluminum mixtures have synergic effects to the algae *Raphidocelis subcapitata* at environmental concentrations. **Chemosphere**, [S. l.], v. 242, p. 125231, 2020. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2019.125231.

GIROTTO, Laís; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta; GEBARA, Renan Castelhano; FREITAS, Juliane Silberschmidt. Acute and Chronic Effects on Tadpoles (Lithobates catesbeianus) Exposed to Mining Tailings from the Dam Rupture in Mariana, MG (Brazil). **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. l.], v. 231, n. 7, 2020. DOI: 10.1007/s11270-020-04691-y.

GOMES, L. C. *et al.* Genotoxicity effects on Geophagus brasiliensis fish exposed to Doce River water after the environmental disaster in the city of Mariana, MG, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, *[S. l.]*, v. 79, n. 4, p. 659–664, 2018. DOI: 10.1590/1519-6984.188086. Disponível em: http://www.scielo.br/j/bjb/a/vKSr8WtvMHVRnyf9CSZphHH/abstract/?lang=en. Acesso em: 31 mar. 2022.

GOMES, Luiz Eduardo de Oliveira; CORREA, Lucas Barreto; SÁ, Fabian; NETO, Renato Rodrigues; BERNARDINO, Angelo Fraga. The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, [S. l.], v. 120, n. 1–2, p. 28–36, 2017. DOI:

10.1016/j.marpolbul.2017.04.056.

GUERRA, Marcelo Braga Bueno; TEANEY, Brian T.; MOUNT, Brianna J.; ASUNSKIS, Daniel J.; JORDAN, Brennan T.; BARKER, Ryan J.; SANTOS, Eliana E.; SCHAEFER, Carlos Ernesto G. R. Post-catastrophe Analysis of the Fundão Tailings Dam Failure in the Doce River System, Southeast Brazil: Potentially Toxic Elements in Affected Soils. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. 1.], v. 228, n. 7, 2017. DOI: 10.1007/s11270-017-3430-5.

HATJE, Vanessa; PEDREIRA, Rodrigo M. A.; DE REZENDE, Carlos Eduardo; SCHETTINI, Carlos Augusto França; DE SOUZA, Gabriel Cotrim; MARIN, Danieli Canaver; HACKSPACHER, Peter Christian. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, *[S. l.]*, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-11143-x.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Laudo técnico preliminar do rompimento da barragem de mariana - Direito Ambiental. 2015. Disponível em: https://www.passeidireto.com/arquivo/21124833/laudo-tecnico-preliminar-do-rompimento-da-barragem-de-mariana. Acesso em: 31 mar. 2022.

IBRAM. INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. **Informacoes e analises da economia mineral brasileira**. [s.l: s.n.]. Disponível em: www.ibram.org.br,. Acesso em: 31 mar. 2022.

LATTUADA, R. M.; MENEZES, C. T. B.; PAVEI, P. T.; PERALBA, M. C. R.; DOS SANTOS, J. H. Z. Determination of metals by total reflection X-ray fluorescence and evaluation of toxicity of a river impacted by coal mining in the south of Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, *[S. l.]*, v. 163, n. 2–3, p. 531–537, 2009. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.07.003. Disponível em: https://eurekamag.com/research/052/533/052533038.php. Acesso em: 31 mar. 2022.

LEE, Richard F.; STEINERT, Scott. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, *IS. l.l.*, v. 544, n. 1, p. 43–64, 2003. DOI: 10.1016/S1383-5742(03)00017-6.

MACÊDO, Anderson Kelvin Saraiva; SANTOS, Keiza Priscila Enes Dos; BRIGHENTI, Ludmila Silva; WINDMÖLLER, Cláudia Carvalhinho; BARBOSA, Francisco Antônio Rodrigues; RIBEIRO, Rosy Iara Maciel de Azambuja; SANTOS, Hélio Batista Dos; THOMÉ, Ralph Gruppi. **Histological and molecular changes in gill and liver of fish (Astyanax lacustris Lütken, 1875) exposed to water from the Doce basin after the rupture of a mining tailings dam in Mariana, MG, BrazilScience of the Total Environment, 2020.** DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139505.

MACHADO, Manuela D.; SOARES, Eduardo V. Reproductive cycle progression arrest and modification of cell morphology (shape and biovolume) in the alga *Raphidocelis subcapitata* exposed to metolachlor. **Aquatic Toxicology**, [S. l.], v. 222, p. 105449, 2020. DOI: 10.1016/J.AQUATOX.2020.105449.

MARQUES, Joseane A. *et al.* Biochemical response and metals bioaccumulation in planktonic communities from marine areas impacted by the Fundão mine dam rupture (southeast Brazil). **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150727.

MCCULLOUGH, Clint D.; HOGAN, Alicia C.; HUMPHREY, Chris L.; DAM, Rick A. Van; DOUGLAS, Michael M. Failure of Hydra populations to develop tolerance, indicates absence of toxicity from a mining whole-effluent. https://doi.org/10.1080/03680770.2008.11902113, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 223–226, 2017. DOI: 10.1080/03680770.2008.11902113.

MENDES, Lucas Bueno; DE MELLO, Fernando Aquinoga; CHAGAS, Kátia Regina; CAMPELO, Rodolfo Pessotti Messner; MEDEIROS, Laila Carine Campos; SMITH, Ross Edward William; FURLEY, Tatiana Heid. Ecotoxicological Assessment of the Doce River Surface Water After the

Fundão Dam Collapse. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 608–614, 2020. DOI: 10.1002/ieam.4291.

MERÇON, Julia; CABRAL, Dandara Silva; TEIXEIRA, Bárbara Chisté; PEREIRA, Tatiana Miura; BONA, Alliny Magalhães; ARMINI, Catharina Valadares Locateli; AGOSTINHO, Silvia Gabriela do Nascimento; VASCONCELOS, Christiane Mileib; GOMES, Levy Carvalho. Seasonality effects on the metal concentration and biochemical changes in Astyanax lacustris (Teleostei: Characiformes) from Doce River after the collapse of the Fundão dam in Mariana, Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S. l.], v. 89, n. November 2021, 2022. DOI: 10.1016/j.etap.2021.103777.

MERÇON, Julia; SILVA CABRAL, Dandara; CHISTÉ TEIXEIRA, Bárbara; MIURA PEREIRA, Tatiana; MAGALHÃES BONA, Alliny; VALADARES LOCATELI ARMINI, Catharina; DO NASCIMENTO AGOSTINHO, Silvia Gabriela; CARVALHO GOMES, Levy. Evidence of reproductive disturbance in Astyanax lacustris (Teleostei: Characiformes) from the Doce River after the collapse of the Fundão Dam in Mariana, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, *JS. l.*, v. 28, n. 47, p. 66643–66655, 2021. DOI: 10.1007/s11356-021-15238-x.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE RESOLUÇÃO CONAMA No 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. Disponível em: http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO\_CONAMA\_n\_357.pdf

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. RESOLUÇÃO No 420. 2009. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2017/09/resolucao-conama-420-2009-gerenciamento-de-acs.pdf. Acesso em: 31 mar. 2022.

OKAMOTO, Akira; YAMAMURO, Masumi; TATARAZAKO, Norihisa. Acute toxicity of 50 metals to Daphnia magna. **Journal of applied toxicology: JAT**, [S. l.], v. 35, n. 7, p. 824–830, 2015. DOI: 10.1002/JAT.3078. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25382633/. Acesso em: 31 mar. 2022.

QUADRA, Gabrielle R. *et al.* Far-reaching cytogenotoxic effects of mine waste from the Fundão dam disaster in Brazil. **Chemosphere**, [S. l.], v. 215, p. 753–757, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.104.

QUARESMA, V. S.; AGUIAR, V. M. C.; BASTOS, A. C.; OLIVEIRA, K. S.; VIEIRA, F. V.; SÁ, F.; BAPTISTA NETO, J. A. The impact of trace metals in marine sediments after a tailing dam failure: the Fundão dam case (Brazil). **Environmental Earth Sciences**, [S. l.], v. 80, n. 17, 2021. DOI: 10.1007/s12665-021-09817-x.

QUARESMA, Valéria S.; BASTOS, Alex C.; LEITE, Marcos Daniel; COSTA, Adeíldo; CAGNIN, Renata Caiado; GRILO, Caroline F.; ZOGHEIB, Ludmilla F.; SANTOS OLIVEIRA, Kyssyanne Samihra. The effects of a tailing dam failure on the sedimentation of the eastern Brazilian inner shelf. **Continental Shelf Research**, [S. 1.], v. 205, n. May, 2020. DOI: 10.1016/j.csr.2020.104172.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications (Book) | OSTI.GOV**. Princeton. Disponível em: https://www.osti.gov/biblio/5014403-fundamentals-aquatic-toxicology-methods-applications. Acesso em: 31 mar. 2022.

RIETZLER, AC; BARBOSA, F. AR; MATOS, M. F. Rompimento da barragem de rejeitos do Fundão em Mariana—MG. seus efeitos de toxicidade e outros impactos na bacia do rio Doce . 2016. Disponível em: http://conflitosambientaismg.lcc.ufmg.br/conflito/?id=579. Acesso em: 31 mar. 2022.

ROESER, Hubert Matthias Peter; ROESER, Patricia Angelika. O Quadrilátero Ferrífero - MG, Brasil: aspectos sobre sua história, seus recursos minerais e problemas ambientais relacionados. **Geonomos**, [S. l.], 2013. DOI: 10.18285/GEONOMOS.V18I1.67

SAMARCO MINERAÇÃO. RADA-Relatório de Avaliação do Desempenho Ambiental Barragem Fundão SAMARCO MINERAÇÃO RADA RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO AMBIENTAL Barragem de Fundão Tipo do Documento Município Data Área Volume RADA Mariana-MG Abril/2013 Barragem Fundão Único. Brasil. Disponível em: http://www.siam.mg.gov.br/siam/lc/2013/0001519840952013/7086862013.pdf. Acesso em: 31 mar. 2022.

SANTOS, Eugênia Moreira; NALINI, Hermínio Arias; ABREU, Adriana Trópia; NOGUEIRA, Leonardo Brandão. Mobilization of heavy metals in river sediments from the region impacted by the Fundão dam rupture, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, [S. l.], v. 80, n. 24, 2021. a. DOI: 10.1007/s12665-021-10107-9.

SANTOS, M. P. O.; SANTOS, M. V. N.; MATOS, R. S.; VAN DER MAAS, A. S.; FARIA, M. C. S.; BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; BOMFETI, C. A. Pleurotus strains with remediation potential to remove toxic metals from Doce River contaminated by Samarco dam mine. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [S. l.], n. 0123456789, 2021. b. DOI: 10.1007/s13762-021-03597-4. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13762-021-03597-4.

SARTORI É, COSTA LHV, SOUZA DL, RANGEL TP, ALMEIDA DQR, REZENDE CE, VERGILIO CS. Evaluation of the toxic potential of the Doce River water using acute toxicity tests on fish. **XIV Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia** – **2016**. [s.l: s.n.]

SCHETTINI, Carlos A. F.; HATJE, Vanessa. The Suspended Sediment and Metals Load from the Mariana's Tailing Dam Failure to the Coastal Sea. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 661–668, 2020. a. DOI: 10.1002/ieam.4274.

Scientific Opinion on the effect assessment for pesticides on sediment organisms in edge-of-field surface water. **EFSA Journal**, [S. l.], v. 13, n. 7, 2015. DOI: 10.2903/J.EFSA.2015.4176.

SCOTT, Graham R.; SLOMAN, Katherine A. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. **Aquatic Toxicology**, [S. l.], v. 68, n. 4, p. 369–392, 2004. DOI: 10.1016/J.AQUATOX.2004.03.016.

SCOTTI, Maria Rita *et al.* Remediation of a Riparian Site in the Brazilian Atlantic Forest Reached by Contaminated Tailings from the Collapsed Fundão Dam with Native Woody Species. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 669–675, 2020. DOI: 10.1002/jeam.4272.

SMITH, Ross Edward William; VAL, Adalberto Luis. Understanding the Science Surrounding Environmental Consequences and Rehabilitation Actions Stemming from Brazil's Fundão Tailing Dam Rupture. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 569–571, 2020. DOI: 10.1002/ieam.4317.

Test No. 235: Chironomus sp., Acute Immobilisation Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. [S. l.], OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, 2011. DOI: 10.1787/9789264122383-EN. Disponível em: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-235-chironomus-sp-acute-immobilisation-test 9789264122383-en. Acesso em: 31 mar. 2022.

US EPA. United States Environmental Protection Agency. Disponível em: https://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=US201300078793. Acesso em: 31 mar. 2022.

VIDOTTI, Eliane Cristina; ROLLEMBERG, Maria Do Carmo E. Algae: from aquatic environment economy to bioremediation and analytical chemistry. **Química Nova**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 139–145, 2004. DOI: 10.1590/S0100-40422004000100024.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática princípios e aplicações.** [s.l.] : Rima, 2008. Disponível em: https://books.google.com.br/books/about/Ecotoxicologia\_aquática.html?id=Pz-ZPwAACAAJ&redir\_esc=y. Acesso em: 31 mar. 2022.

ZEBRAL, Yuri Dornelles; COSTA, Patrícia Gomes; DE SOUZA, Marta Marques; BIANCHINI, Adalto. Avian blood and feathers as biological tools to track impacts from trace-metals: Bioaccumulation data from the biggest environmental disaster in Brazilian history. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 807, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151077.

# Anexo A - Tabelas

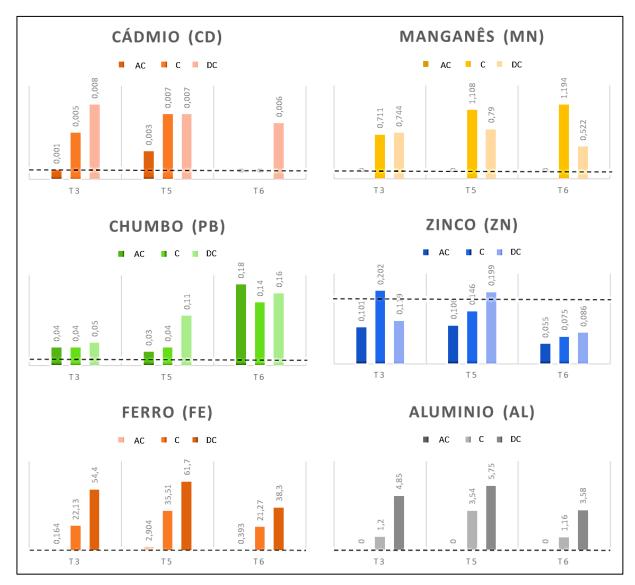
**Tabela 1:** Organismos e matrizes testados por este estudo, respectivos *endpoint*s e a norma utilizada nos bioensaios.

Organismo teste	Tipo de teste	Matriz	Endpoint	Norma
Raphidocelis subcapitata	Agudo-crônico	Água	densidade celular, complexidade celular, tamanho celular e fluorescência	ABNT NBR 12648 (2018)
Ceriodaphnia silvestrii	Crônico	Água	Reprodução	ABNT NBR 13373 (2017)
Danio rerio	Agudo	Água	Mortalidade	ABNT NBR 15088 (2016)
Allonais inaequalis	Agudo e crônico	Sedimento	Mortalidade e crescimento populacional	Adaptado de Corbi, Goni e Correa (2015)
Chironomus sancticaroli	Agudo	Sedimento	Mortalidade	Fonseca & Rocha (2004).

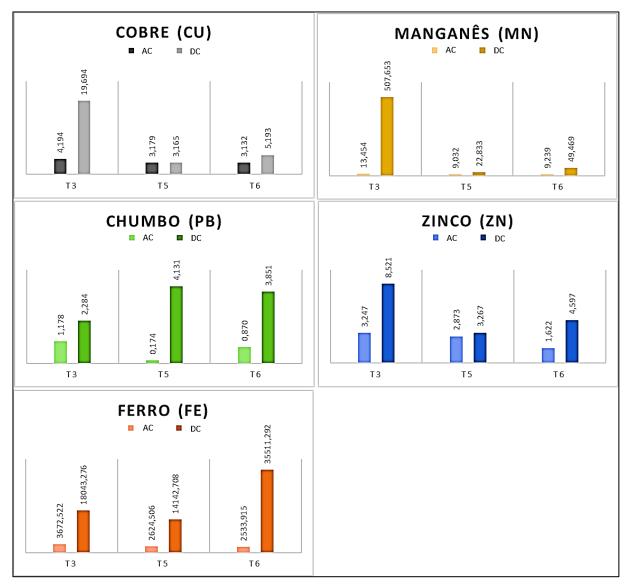
**Tabela 2:** Faixa de concentrações das substâncias de referências (NaCl e KCl) para as diferentes espécies avaliadas nos testes de sensibilidade

Organismo-teste	Substância Referência	Concentrações	Unidade
Raphidocelis subcapitata	NaCl	0; 0,5; 2; 3,5; 5; 6,5	g L <sup>-1</sup>
Ceriodaphnia silvestrii	NaCl	0; 1; 1,3; 1,6; 2,2; 2,5	g L <sup>-1</sup>
Chironomus sancticaroli	KCl	0; 1,5; 2,25; 3,5; 5, 7,5	mg L <sup>-1</sup>
Allonais inaequalis	KCl	0; 1,5; 2,25; 3,5; 5, 7,5	mg L <sup>-1</sup>
Danio rerio	KCl	0; 300; 600; 900; 1200; 1500	mg L <sup>-1</sup>

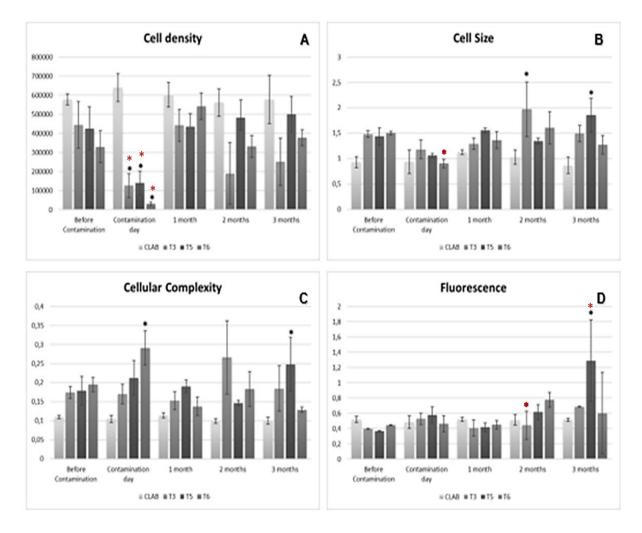
# Anexo B - Figuras



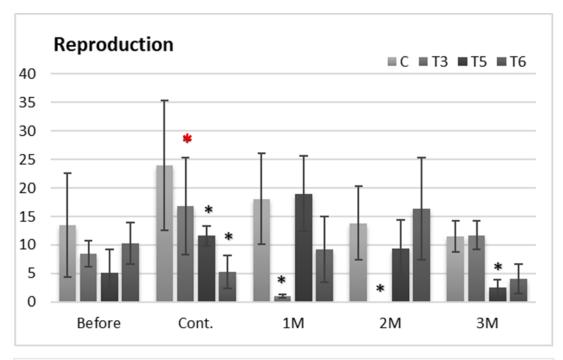
**Figura 1:** Metais quantificados na água dos mesocosmos nos períodos antes da contaminação (AC), no dia da contaminação (C) e depois da contaminação (DC). A linha tracejada mostra os valores máximos permitidos de cada metal estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005 para ambientes aquáticos (Cd:0,01 mg/L Mn: 0,1 mg/L Pb: 0,01 mg/L Zn:0,18 mg/L Fe: 0,3 mg/L Al: 0,1 mg/L).

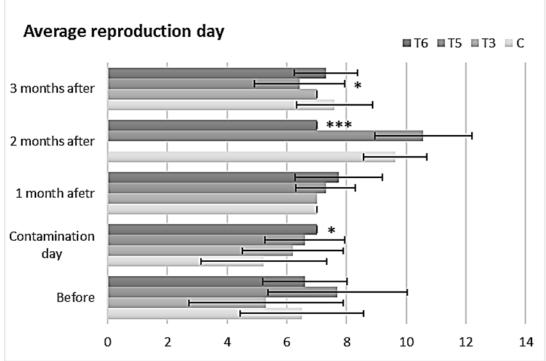


**Figura 2:** Metais quantificados no sedimento dos mesocoosmos nos períodos antes da contaminação (AC) e depois da contaminação (DC). Apesar das elevadas concentrações obtidas, nenhum dos metais quantificados estava acima dos valores máximos estabelecidos pela resolução CONAMA 420/2009 para solos (Cu: 60 mg/kg; Pb: 72mg/kg; Zn: 300 mg/kg). Valores de Mn e Fe não são contemplados pela resolução.

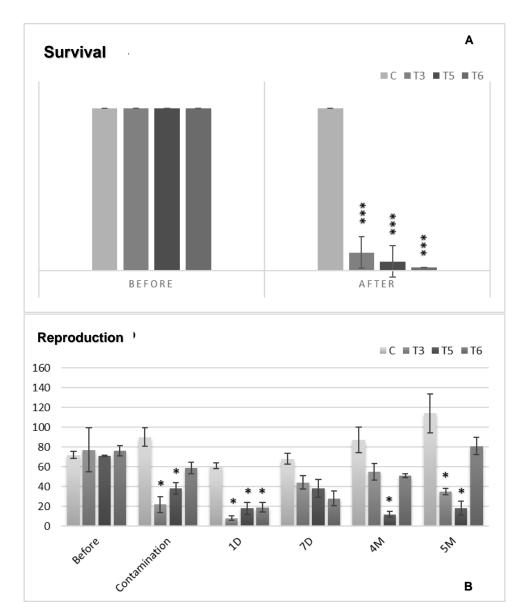


**Figura 3:** Respostas da (a) densidade, (b) tamanho, (c) complexidade celular e (d) fluorescência da microalga *R. subcapitata* expostas em bioensaios laboratoriais crônicos a amostras de água contaminada pelo rejeito proveniente do desastre ambiental de Mariana. CLAB: controle laboratorial e (\*): efeito estatisticamente significativo em relação ao controle e (\*): efeito estatisticamente significativo em relação ao mesmo tratamento pré-contaminação (p<0,05).





**Figura 4:** Efeitos crônicos em número de neonatos (a) e dia médio de início da reprodução (b) da contaminação por rejeito na reprodução de *C. silvestrii*. C: controle laboratorial e (\*): efeito estatisticamente significativo ao controle e (\*): efeito estatisticamente significativo em relação ao mesmo tratamento pré-contaminação (p<0,05).



**Figura 5:** Efeitos agudo (a) e crônico (a) da exposição de *A. inaequalis* a sedimento contaminado por rejeito. \* asterisco indica diferenças em relação ao controle ou ao período antes da contaminação.

<u>Capítulo IV</u>: Efeitos da contaminação dos rejeitos da mineração na emergência, reprodução e bioacumulação de metais em mosquitos da espécie *Chironomus riparius* 

#### Resumo

O rompimento da Barragem do Fundão, em Mariana (MG), ocorrido em novembro de 2015, foi um dos maiores desastres socioambientais do Brasil. Neste episódio, quase 50 milhões de metros cúbicos de lama, contendo rejeitos sólidos e líquidos da extração do minério de ferro, foram distribuídos por mais de 700 km de extensão, afetando ambientes terrestres e aquáticos, transportando contaminantes, como metais e metaloides, para diversos ecossistemas aquáticos. Sabendo-se que os metais tendem a se depositar na região bentônica, estudos com sedimento e espécies bentônicas são de extrema relevância para entender os efeitos da contaminação pelo rejeito. Neste estudo foi realizada uma simulação de contaminação pela lama (rejeito + solo + sedimento) coletada em Paracatu de Baixo (Mariana/MG), em mesocosmos aquáticos, sendo que amostras de sedimento foram obtidas para análise de metais e testes de toxicidade com a espécie de mosquito C. riparius. Uma vez que os metais quantificados em maior concentração no sedimento foram Fe e Mn, estes foram também quantificados no resíduo corporal de larvas, pupas e adultos, além dos efeitos no desenvolvimento, emergência e reprodução da espécie. Os resultados indicaram alterações no ciclo de vida (redução no tempo de reprodução), alterações na proporção de machos e fêmeas, adiantamento da primeira desova, redução da taxa de eclosão e anormalidades nas desovas, além dos efeitos de bioacumulação dos metais Fe e Mn. Conclui-se que o rejeito acumulado no sedimento dos ambientes aquáticos pode causar efeitos deletérios sobre a comunidade bentônica, interferindo na dinâmica das espécies e no funcionamento do ecossistema.

**Palavras-chave:** sedimento, barragem do Fundão, ferro, manganês, bioacumulação e mesocomos

## 1 Introdução

Extraindo mais de 230 milhões de toneladas de minério de ferro anualmente, o Brasil é o segundo maior explorador de ferro do mundo. O estado de Minas Gerais concentra a maior reserva de ferro do Brasil (66% do total), principalmente nos municípios Barão de Cocais, Itabira, Itabirito, Mariana, Nova Lima, Ouro Preto e Santa Bárbara (BRASIL, 2009). A mineradora Samarco, de propriedade das companhias Vale (antiga Vale do Rio Doce) e BHP Billiton, está situada no quadrilátero ferrífero e é a maior exploradora do itabirito, uma das rochas da qual se extrai o ferro, da região desde 1977 e uma das maiores responsáveis pela extração mineral nacional (IBRAM, 2022; SAMARCO, 2022). O quadrilátero ferrífero é

assim conhecido por conter grandes reservas minerais no contexto geomorfológico. Fazem parte desta formação os municípios de Belo Horizonte, Itabira, Ouro Preto e Congonhas (ROESER & ROESER, 2010).

Os processos de extração mineral e suas fases são altamente impactantes para o meio ambiente, causando poluição da água e do solo, da biota presente nestes ambientes e constituindo risco eminente de intoxicação ao ser humano (BENEDICTO *et al.*, 2005; NOGUEIRA, 2007). Além destes problemas inerentes a extração mineral, existe também o risco de acidentes e desastres ambientais, como o rompimento da barragem de rejeitos ocorrido em 2015, no município de Mariana (MG, Brasil). As barragens caracterizam a principal forma de disposição de rejeitos minerários no estado de Minas Gerais, armazenando em torno de 85% do rejeito de mineração (FEAM, 2011). No município de Mariana, havia um complexo de três barragens de rejeito: as barragens do Germano, Fundão e Santarém (SAMARCO, 2022). A barragem do Fundão, que se rompeu em 5 de novembro de 2015, tinha a função de clarificação do rejeito proveniente da mineração do ferro e foi construída com capacidade de contenção de 79.674.744 m³ de rejeito argiloso e de 32.208.299 m³ de rejeito arenoso (SAMARCO, 2022).

Aproximadamente 50 milhões de metros cúbicos de rejeitos sólidos e líquidos provenientes da extração do minério de ferro extravasaram da barragem, após o rompimento, e se espalharam por mais de 700 km a jusante da mesma, atingindo mais de 41 cidades entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo, até chegar à foz do rio Doce (IBAMA, 2015). Além dos impactos sociais, a "lama" devastou mais de mil hectares de mata nativa, soterrou nascentes, atingiu rios, lagoas, mangues, praias e ambientes costeiros (GUERRA *et al.*, 2017; ANDRADES *et al.*, 2020, COSTA *et al.* 2022). O "desastre ambiental de Mariana", como passou a ser chamado, foi considerado o maior desastre socioambiental da história do Brasil e, segundo autores e a mídia da época, um dos maiores rompimentos de barragens de mineração do mundo (FERNANDES *et al.*, 2016; CARMO *et al.*, 2017).

Os ambientes de água doce, considerados ecossistemas importantes para a manutenção da biodiversidade, são extremamente ameaçados pelas ações antrópicas, como as atividades de mineração (GLEICK, 1996; DUDGEON *et al.*, 2005). De fato, o aporte de rejeito de mineração tem potencial de transformação das características morfológicas e físico-químicas ambientais, além do potencial de contaminação por meio de ressuspensão do material depositado e disponibilização de poluentes, como metais e metaloides, ao longo do tempo (HATJE *et al.*, 2008; VIANA *et al.*, 2020). Uma vez no ambiente aquático, metais provenientes da extração mineral, podem causar efeitos tóxicos para as espécies expostas.

Porém, diferentemente de outros contaminantes, os metais não são degradados física, química ou biologicamente, tendendo a permanecerem acumulados no ambiente (NOGUEIRA, 2007) e transferidos e biomagnificados pela cadeia trófica (HANAZATO, 1998). Dentre os possíveis efeitos dos metais nos ecossistemas aquáticos destaca-se a interferência nos processos fisiológicos, na reprodução e consequentemente no ciclo de vida das espécies expostas, além de alterações em padrões comportamentais que modificam as interações biológicas e a dinâmica de populações, podendo causar desequilíbrios ecológicos no ecossistema aquático (BRULAND *et al.*, 1991; NOGUEIRA, 2007). Desta forma, além do potencial tóxico para espécies individualmente, estes compostos podem causar alterações em toda a cadeia trófica.

Após o extravasamento do rejeito, alguns estudos quantificaram os metais contidos na lama anteriormente estocada na barragem (CAETANO, 2021; COUTO, 2021; DAVILA, 2020; ESTEVES, 2020; FERREIRA, 2021; de PÁDUA, 2021; SCHETTINI, 2020) e na água (SEGURA, et al., 2016; FROESCH et al., 2020; MACÊDO et al., 2020; SANTANA et al., 2021; BONECKER, et al., 2022) e sedimento (QUARESMA et al., 2021; SANTOS, et al., 2021; COSTA et al., 2022) de ambientes atingidos pela lama. Os metais encontrados com maior frequência e concentração foram o ferro e o manganês, no entanto, outros metais tais como alumínio, chumbo, zinco, cádmio, cromo, cobre, níquel, arsênio e mercúrio também foram identificados em todas as matrizes. Tendo em vista que os metais tendem a se cumular no sedimento de ambientes aquáticos (QUARESMA et al., 2020) ressalta-se a importância de se verificar os efeitos causados por estes contaminantes à biota que habita este compartimento ambiental.

Até a presente data foram reportados resultados interessantes a respeito dos efeitos da água contaminada com rejeito para as espécies de peixes *Geophagus brasilienses* e *Astyanax lacustres*, tais como danos ao DNA e mudanças histológicas nas brânquias e fígado, respectivamente (GOMES *et al.*, 2019; MACÊDO *et al.*, 2020). Também foram reportadas alterações na biomassa e taxa de crescimento de macrófitas (*Egeria densa* e *Chara* sp.) expostas à água de rios contaminados (BOTTINO *et al.*, 2017) e alterações mitóticas em células de *Allium cepa* expostas a amostras de água coletadas ao longo do rio Doce (QUADRA *et al.*, 2019). Além destas pesquisas realizadas em laboratório com água contaminada por rejeito, outros estudos ecotoxicológicos utilizando solo de áreas atingidas também foram encontrados na literatura (NASCIMENTO *et al.*, 2020; ESTEVES *et al.*, 2020; BUCH *et al.*, 2020), no entanto, não foram encontrados artigos que reportassem o efeito do

sedimento contaminado ou estudos laboratoriais que investigassem os efeitos do rejeito para os organismos bentônicos.

Neste sentido, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da contaminação do sedimento de ambientes aquáticos de água doce pelo rejeito da barragem do Fundão (Mariana/MG) na emergência e reprodução de mosquitos da espécie *C. riparius*. Além disso, foram quantificadas a acumulação dos metais Fe e Mn em diversos estágios de vida da espécie.

## 2 Metodologia

Todos os experimentos descritos foram realizados com amostras de sedimento coletadas em mesocosmos contaminados pelo rejeito de mineração da Barragem do Fundão (Mariana, MG). Informações sobre a coleta do rejeito, montagem dos mesocosmos e contaminação dos sistemas experimentais estão apresentadas no Capítulo II desta tese de doutorado.

No caso específico da coleta de sedimento para a realização dos testes de toxicidade, as amostras de sedimento foram retiradas dos mesocosmos com o auxílio de amostradores tipo core (15 cm de diâmetro), após a contaminação com o rejeito. As amostras foram secas ao sol, estocadas em potes plásticos atóxicos e levadas ao laboratório de Ecotoxicologia da Faculdade de Ciências da *Vrije Universiteit* – VU (Amsterdam/Holanda), local de realização deste experimento e de realização de estágio no exterior dentro do Programa Capes Print/USP.

## 2.1 Organismo-teste

Massas ovígeras do inseto aquático *C. riparius* foram obtidas da cultura préestabelecida no laboratório do Departamento de Ecologia de Água doce e Marinha da Universidade de Amsterdã (UVA), onde são cultivados segundo as normas da OECD – 218 (2004), com água de cultivo, alimentação, luminosidade e temperatura controladas. As massas foram mantidas em água de cultivo até eclosão dos ovos. Os organismos recém-eclodidos, no primeiro instar (com idade entre 1 e 4 dias de vida) foram usados para o início dos testes.

# 2.2 Testes de emergência e reprodução

Dez organismos, no primeiro instar de desenvolvimento, foram inseridos em cada réplica, contendo 50g de sedimento e 250 ml de água de cultivo ("Dutch Standard water" (DSW) – água desmineralizada com 200 mg/L CaCl<sub>2</sub>\*2H<sub>2</sub>O, 180 mg/L MgSO<sub>4</sub>\*H<sub>2</sub>O, 100 mg/L NaHCO<sub>3</sub>, e 20 mg/L KHCO<sub>3</sub>; dureza de 210 mg de CaCO<sub>3</sub>/L e pH 8.2 ± 0.2), respeitando-se condições estabelecidas pela norma OECD – 218 (2004). Foram montados seis tratamentos contendo seis réplicas cada, sendo que os três primeiros foram controles (laboratorial, LUFA e sedimento não contaminado) e os três últimos os tratamentos contendo as amostras de sedimento contaminado. O controle laboratorial (denominado como "Lab"), continha areia artificial utilizada no cultivo do organismo-teste. O controle LUFA (denominado como "LUFA"), continha sedimento constituído de um solo natural não contaminado utilizado como controle em experimentos laboratoriais com espécies edáficas. O controle com sedimento não contaminado (denominado como "Sed"), continha sedimento coletado nos mesocosmos anteriormente à contaminação. Os tratamentos com sedimento contaminado, chamados M3, M5 e M6, consistiram de amostras de sedimento provenientes dos três mesocosmos contaminados, igualmente, com o rejeito, estabelecidos no CRHEA/EESC/USP. Os recipientes testes foram fechados com plástico filme para evitar evaporação excessiva e fuga de adultos após a emergência.

O experimento teve duração de 33 dias e foi mantido a temperatura de 20 ± 1 °C, luminosidade 16:8h claro-escuro e aeração constante do sistema. A partir do 15° dia, quando as larvas começaram a emergir, todos os dias foram verificados o número de mosquitos machos e fêmeas. Estes eram realocados para uma câmara de copulação, onde permaneciam até o final e serem encontrados mortos. A câmara continha água de cultivo no fundo para ovoposição e era fechada com uma tela, permitindo a troca de oxigênio com o meio externo. Diariamente as desovas eram retiradas, a normalidade aparente avaliada e o número de ovos contados. A massa de ovos era considerada "normal" quando apresentasse forma espiralada, de tamanho regular e fixa na borda do recipiente (Pinto *et al.*, 2022). Ao final do experimento, foi possível obter a resposta à contaminação pela taxa de emergência, razão machos/fêmeas e reprodução.

# 2.3 Teste de bioacumulação

Em paralelo ao experimento supracitado, foi realizado um teste independente, nas mesmas condições descritas anteriormente, que forneceu material biológico para análise de bioacumulação nas fases larval, adulta e nas desovas. Para esta finalidade, a cada sete dias de

experimento foram feitas amostragens dos organismos nas fases em que se encontravam. Posteriormente, os indivíduos foram separados, realizando os procedimentos utilizados no laboratório do Departamento de Ciências Ambientais, da Universidade Livre de Amsterdam (*Vrije Universiteit*), para a determinação de metais. As análises foram feitas por espectrofotometria direta de absorção atômica AA 240FS VARIAN, de acordo com metodologias específicas (SMWW 3111D), pela qual cada metal absorve um cumprimento de onda específico (MIRANDA, 2017).

#### 2.4. Análise dos dados

Os dados foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados (GLM) no software R (Versão 4.1.3) com aplicação do Rstudio (Versão 2022.07.0). Os efeitos foram avaliados descritos foram avaliados pela GLM usando a família Gaussiana com a aplicação da função de ligação identidade. Todas as análises foram realizadas com um nível de confiança de 95% (p < 0.05).

## 3 Resultados

Não houve diferença estatisticamente significativa no número total de adultos emergidos (p>0,05) entre os controles Lab e Sed e os tratamentos contaminados (M3, M5 e M6) (Figura 1). No entanto, houve uma diminuição na emergência total no controle Lufa, tanto em relação aos outros controles quanto aos tratamentos contaminados (p<0,01). Dessa forma, o sedimento com solo Lufa causou efeito na emergência de C. riparius e, portanto, não foi considerado um bom sedimento referência neste experimento. Os tratamentos que receberam adição de rejeito não se diferenciaram significativamente (p>0,05) quanto à emergência total de organismos.

Diferentemente, todos os tratamentos (M3, M5 e M6) que receberam adição do rejeito diferenciaram estatisticamente do controle laboratorial e contendo sedimento em relação ao tempo para a primeira emergência (p<0,05). Nota-se que a contaminação por rejeito causou adiantamento de 2, 3 e 4 dias na emergência dos tratamentos M3, M5 e M6, respectivamente.

O tempo médio de emergência, consistindo na diferença entre o primeiro e o último dia em que houve emergência, também diferenciou estatisticamente entre todos os tratamentos e controle laboratorial e de sedimento (p<0,05). Apesar de também terem se

diferenciado estatisticamente, os controles laboratoriais e controles de sedimento não contaminados apresentaram tempos médios de emergência maiores que os tratamentos com contaminação, com médias de 23,75 e 21,5 dias, respectivamente, enquanto os menores valores médios de emergência ocorreram em M6 (18 dias) e solo Lufa (18,3 dias).

Quanto a emergência total separada pelos sexos, os controles Lab e Sed não diferenciaram entre si (p>0.05, Figuras 2 e 3). Porém, o controle LUFA apresentou menor emergência total de machos, em relação ao controle Sed, e menor emergência de fêmeas quando comparado ao controle laboratorial (p<0.05). No tratamento M3 verificou-se uma menor emergência de machos, enquanto no tratamento M5 obteve-se maior emergência de fêmeas, ambos em relação ao controle com sedimento (p>0.05).

De forma geral, verificou-se mudança na proporção entre os sexos emergidos nos controles e tratamentos (Figura 4). Enquanto nos controles obteve-se a maior proporção de machos, nos tratamentos (M3, M5 e M6) ocorreu a maior proporção de fêmeas em relação aos controles Lab e Sed, sendo que o sedimento não contaminado apresentou diferença estatística significativa (p<0,05) em relação a M3 e M5.

As primeiras emergências foram de organismos machos tanto nos controles quanto nos tratamentos com contaminação por rejeito. Os controles começaram a apresentar emergência de machos por volta do 19° dia e de fêmeas por volta do 21° dia. O período da primeira emergência de machos nos tratamentos com contaminação sofreu redução estatisticamente significativa em relação ao controle laboratorial e no de sedimento (p<0,05). M3 apresentou as primeiras emergências com redução de aproximadamente dois dias e M5 e M6 apresentaram as primeiras emergências com redução de aproximadamente 3 e 4 dias, respectivamente. O período de tempo da primeira emergência das fêmeas nos tratamentos com contaminação também sofreu redução em relação aos controles Lab e Sed, variando de 4 a 5 dias (p<0,001). Os controles Lab e Sed apresentaram tempo médio de emergência de machos e fêmeas maiores que os tratamentos contaminados (p<0,05).

O tempo para a produção da primeira desova também foi significativamente influenciado pela adição do rejeito ao sedimento (Figura 5). Enquanto nos controles Lab e Sed obteve-se a média de 27 dias para a ocorrência da primeira desova, nos tratamentos M3 e M6 a média foi de 22 dias para a primeira desova (p<0,001). Já o tratamento M5 apresentou média de 25 dias para a primeira desova, também diferenciando estatisticamente (p<0,05) dos controles. O solo Lufa também causou adiantamento significativo de aproximadamente 3 dias da primeira desova de C. riparius (p<0,01).

A média de ovos produzidos pelas fêmeas foi afetada apenas pelos tratamentos M6 e LUFA, sendo observado um aumento em relação aos controles Lab e Sed (p<0,05). Apesar da média de ovos dos controles Lab e Sed ser significativamente menor, a taxa de eclosão foi significativamente maior (p<0,5) em todos os controles, inclusive no sedimento LUFA. As desovas dos tratamentos que receberam contaminação por rejeito não eclodiram. Além disso, as desovas das fêmeas emergidas dos tratamentos que receberam contaminação por rejeito apresentaram maior índice de anormalidades que as desovas dos controles (Figura 6). Exemplos de deformidades observados nas desovas deste experimento estão na figura 7. Enquanto os controles laboratoriais e de sedimento apresentaram médias acima de 70% de normalidade nas desovas, os tratamentos M3 e M5 apresentaram 43,75% e 29,16% de desovas classificadas como extremamente anormais. O tratamento M6, diferentemente, obteve 78% de desovas normais, 22% com alguma anormalidade e 11% extremamente anormais.

Quanto à biomassa, as larvas com idade de 8 e 15 dias não diferenciaram significativamente (p>0.05) entre controles e tratamentos (Figura 8), respectivamente. Somente o tratamento Lufa apresentou larvas de 8 dias com maior biomassa em relação a todos os tratamentos, incluindo os outros controles, e as larvas de 15 dias com maior biomassa em relação ao controle Lab (p<0.05).

Apesar da ausência de efeitos na biomassa das larvas, verificou-se acúmulo significativo de 36 a 52,5 vezes de Fe em larvas de 8 dias nos sedimentos do M3, M5 e M6 em relação ao controle Lab, bem como acúmulo de 9 a 29 vezes em larvas de 15 dias de idade nos sedimentos dos mesocosmos M3 e M6 em relação ao controle laboratorial e M3 e ainda mais de três vezes em relação ao controle Sed (p<0,05). Para o Mn, o acúmulo significativo (p<0,05) foi de cinco vezes maior em larvas de 8 dias de idade expostas a sedimento do mesocosmos M3, e de 3 a 5 vezes maiores em larvas de 15 dias dos sedimentos dos mesocosmos M3 e M6, em relação ao controle laboratorial. O solo Lufa também causou acúmulo significativo de Mn nas larvas de 8 e 15 dias.

A biomassa de exúvia diferenciou estatisticamente (p<0,01) apenas em M6, além do solo Lufa, em relação ao controle de laboratório e não foram obtidos acúmulos significativos de Fe e Mn. Mais uma vez, o sedimento contendo solo Lufa contribuiu para altas concentrações de Mn (p<0,001, Figura 9).

A biomassa de mosquitos adultos, cujas larvas foram expostas aos tratamentos, apresentou aumento significativo em M3 (p<0,05) em relação ao controle lab. O mesmo tratamento causou acúmulo (p<0,1) de até 2,3 vezes de Mn em relação aos controles (Figura

10). Nenhum tratamento causou acúmulo de Fe nos adultos de *C. riparius*. Quando os sexos foram analisados separadamente, notou-se um aumento significativo na biomassa de machos em M3 e M6 (p<0,05), enquanto os metais não se diferenciam significativamente em relação aos controles em nenhum dos tratamentos (Figura 11).

Apesar das desovas de *C. riparius* expostos aos tratamentos não terem apresentado biomassa estatisticamente diferentes dos controles, houve uma diminuição na quantidade de Fe e Mn para todos os tratamentos em relação aos controles Lab e Sed (p<0,05, Figura 12), sendo que as reduções de Mn chegaram a 200 vezes (p<0,05).

#### 4 Discussão

Os sedimentos naturalmente costumam conter misturas de elementos traços oriundos de processos geoquímicos, além de serem compartimentos destino de contaminantes provenientes de atividades antropogênicas, tais como os metais (Péry *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2018). No caso do "desastre ambiental de Mariana", o rompimento da barragem causou o extravasamento de toneladas de lama rica em metais, produtos da extração de Fe, que atingiram quilômetros de solo e ecossistemas aquáticos, incluindo o compartimento bentônico, causando os mais diversos danos tanto para organismos aquáticos quanto terrestres. Buch *et al* (2020), por exemplo, verificaram que a contaminação de solos atingidos causou redução de quatro vezes na densidade de ácaros da espécie *Scheloribates praeincisus* em relação à locais referências não contaminados da região. Em outros testes laboratoriais os autores constataram que, apesar de não causar efeitos agudos, a exposição ao rejeito causou efeito crônico de redução e em alguns casos de inibição na reprodução do organismo. Da mesma forma, no presente estudo foram verificados efeitos semelhantes para *C. riparius*, mesmo considerando ambientes e espécies tão distintas entre si.

Nota-se que a exposição nos primeiros dias de desenvolvimento ao sedimento proveniente de unidades experimentais contaminadas com o rejeito de mineração causou efeitos nocivos às larvas de *C. riparius*. Apesar de não ter havido diferença no número de adultos emergidos entre controles e tratamentos, houve adiantamento da primeira emergência e diminuição no tempo total de emergência para fêmeas e machos. Diferentemente, em experimentos com metais isolados (Cd, Zn e Cr), McCafferty *et al* (1978) observaram a redução em mais de três vezes na emergência total para a espécie *C. tentans*. Apesar da ausência de informação sobre concentração, forma iônica e biodisponibilidade dos metais, verifica-se que o rejeito não foi suficientemente tóxico para inibir o desenvolvimento das

larvas, impedindo sua emergência, porém, o adiantamento no início da emergência pode indicar um comportamento de fuga do *C. riparius* do sedimento contaminado. Tal adiantamento em emergência também foi observado por Postma *et al* (1995) para esta mesma espécie quando expostas ao Cd.

No presente estudo, as alterações na proporção de machos e fêmeas emergidos, bem como a maior presença de fêmeas nos tratamentos contaminados, associadas às alterações no tempo normal de emergência, podem ter implicações populacionais para a espécie, como discutido por Pinto *et al.* (2022), que observou efeitos na emergência e razão sexual da espécie *C. sancticaroli* após exposição a agrotóxicos.

Além do tempo de emergência, neste estudo também se verificou que a presença do rejeito no sedimento causou adiantamento na primeira oviposição e aumento na média de ovos produzidos. Efeito contrário foi observado em experimentos com Cd, Zn e Cr, de forma isolada, no estudo de McCafferty et al (1978). Os autores observaram atrasos de dois dias na reprodução de C. tentans. No entanto, tendo em vista que organismos estrategistas R de reprodução investem em quantidade de descendentes no intuito de perpetuar a espécie, podese inferir que a contaminação "branda" causada pela presença de metais essenciais no rejeito testado também tenha induzido este aumento no número de ovos bem como o adiantamento na oviposição, análogo à fuga da emergência, no sentido de garantir a reprodução. No entanto, nota-se o efeito direto da contaminação na fecundidade dos ovos produzidos pelas fêmeas das unidades contaminadas por rejeito. Dessa forma, apesar do aumento do número de ovos, estes não foram viáveis. Ainda foi possível notar aumento no percentual de desovas consideradas extremamente anormais. Postma et al., (1995), por outro lado, observou menor número de desovas por fêmeas e menor número de ovos por desova de C. riparius quando expostos ao metal Cd. A taxa de eclosão, neste último estudo, não variou entre controles e locais contaminados nos organismos de campo, no entanto, quando expostos ao Cd em laboratório houve redução a menos de 5% de eclosão. Ainda que respostas diferentes tenham sido obtidas entre os estudos citados, a exposição de diferentes espécies de Chironomus, tanto a lama contaminada quanto a outros metais, causou alterações reprodutivas em organismos deste gênero.

Apesar da biomassa das larvas neste trabalho não ter sido significativamente alterada pela exposição ao rejeito, outros trabalhos relatam redução de peso e/ou comprimento de larvas de *Chironomus* expostos a metais. Atchison *et al* (1977), por exemplo, obteve redução do comprimento em duas vezes e do peso em até 14 vezes de larvas de *C. tentans* expostas a sedimento contaminado com os metais Cd, Cr e Zn. Por sua vez, Faria *et al* (2008)

observaram inibição no crescimento larval de *C. riparius* em experimentos *in situ* em ecossistemas aquáticos localizados em áreas de mineração. Os mesmos autores também notaram que o tamanho da cápsula cefálica e comprimento corporal não se desenvolveram entre os dias 0 e 6, diferentemente do local de referência. Em artigo anterior, os mesmos autores (Faria *et al*, 2006), constataram que, juntamente ao pH, os metais Mn e Fe foram responsáveis por 97% da variação de crescimento corporal de *C. riparius* entre os rios portugueses amostrados, ressaltando a influência destes metais essenciais no desenvolvimento de organismos aquáticos. Outros danos morfológicos causados por metais foram evidenciados por Beghelli *et al* (2018), em estudo com sedimentos do reservatório do complexo Cantareira para *C. sancticaroli*. Os autores não encontraram letalidade causada pelos metais, mas sim redução no comprimento corporal e alterações morfológicas no mento. Péry *et al* (2008) também observaram diminuição no comprimento corporal de *Chironomus* quando expostos as misturas de Cu/Zn, Cd/Cu e Zn/Cd, além do acúmulo destes metais nos tecidos dos organismos.

A contaminação de sedimentos pelo rejeito também causou acúmulo de metais em organismos dos biomas adjacentes ao rio Doce. Costa *et al* (2022), por exemplo, amostraram caranguejos de praias da costa do Espírito Santo após a chegada do rejeito à zona costeira, verificando aumento de Mn e Zn nos tecidos dos organismos associados as concentrações destes metais nos sedimentos. Os mesmos autores também observaram aumento da concentração de Fe em tecidos de camarões marinhos da foz do Rio Doce e no plâncton marinho (fito e zooplâncton) ao longo do tempo, todos associados ao aumento deste metal no sedimento. Isso foi observado também para outros metais tais como Hg e Zn. O rejeito também causou acúmulo de Al, Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, Ni, As, Cd, Hg e Pb em ácaros de solos de áreas contaminadas nos arredores do rompimento da barragem (Buch *et al* ,2020).

No presente trabalho, foi verificada a bioacumulação de Fe e Mn nas larvas de *C. riparius*. Segundo Young & Harvey (2017), em experimentos com Chironomidae, geralmente de 20 a 50% da concentração de Fe, Al e Mn é transferida dos sedimentos contaminados para as larvas e ainda 10% dessa quantidade é transferida das larvas para os adultos. Não foi encontrada acumulação dos metais nas exúvias das larvas, apenas um aumento de biomassa em um dos tratamentos. Para os adultos, foi verificada a bioacumulação de Mn em um dos tratamentos e a redução da concentração de ambos os metais nos ovos. Tais resultados demonstram que os metais acumulados afetaram a fecundidade dos ovos, apesar de não serem transferidos para as massas de ovos.

Organismos bentônicos vivem pelo menos parte do seu ciclo de vida em contato direto com o sedimento, sendo suscetíveis a acumular seus contaminantes. Larvas da espécie *C. calipterus*, por exemplo, expostas a efluentes ricos em metais, apresentaram acúmulo de Fe, Zn, Mn e Pb. Este estudo indica que as larvas do *C. calipterus* tem alta capacidade de acumular certos metais (El-Shenawy, 2010). Outro exemplo foi publicado por Krantzberg & Stokes (1989), que relataram a bioacumulação de Zn, Pb, Cd, Cu, Ni e Mn por quironomídeos expostos a água de lagos contaminados com metais. Dentre os efeitos observados, foi apontada diminuição do crescimento das larvas. Shuhaimi-Othman *et al* (2011) verificaram a bioacumulação de Cd, Cu, Fe, Pb, Al, Mn, Zn e Ni em larvas de *C. javanus* expostas a estes metais em experimentos laboratoriais.

Nas pesquisas realizadas com quironomídeos de riachos no Canadá, que recebem água de drenagem de minas, foram quantificados Cu, Cd e Zn nos tecidos destes organismos. As concentrações encontradas foram correlacionadas tanto às concentrações destes metais na água quanto no perifíton amostrado nos locais (Swansburg, 2009). Além da bioacumulação, o estudo relatou que a comunidade de Chironomidae foi severamente afetada com redução da riqueza e aumento na ocorrência de deformidades de mento em duas vezes em relação aos locais de referência.

Apesar de não fazer parte dos objetivos deste trabalho, foi possível perceber também que o solo Lufa não foi um bom sedimento para ser utilizado como controle. Este provocou alterações significativas nos organismos, como redução na emergência total e no tempo médio de emergência, adiantamento da primeira desova, aumento no número de ovos e biomassa, e aumento na concentração de Mn nas larvas e exúvias.

Segundo Canfiel *et al* (1994), juntamente aos Oligochaeta, a família Chironomidae compõem 90% da fauna de macroinvertebrados bentônicos de sedimentos moles e ambos costumam ser tolerantes a poluição. Tendo em vista todos os resultados supracitados, mesmo sendo consideradas resistentes, as diversas espécies do gênero Chironomidae sofrem efeitos nocivos quando expostos a sedimentos contaminados tais como o rejeito proveniente da barragem da mineradora Samarco de Mariana, MG. Tais efeitos podem ser observados desde a bioacumulação de metais até a emergência de adultos e reprodução. Em consequência, a contaminação pelo rejeito afeta diretamente a estrutura da comunidade dos quironomídeos, grupo relevante na cadeia trófica e de grande importância nos ecossistemas aquáticos. Tais resultados chamam atenção para a necessidade de recuperação dos danos já causados nos biomas afetados pelo rejeito da mineradora Samarco na região de Mariana, MG.

#### 5 Conclusões

A espécie C. riparius se mostrou sensível à contaminação por rejeito de mineração em experimentos laboratoriais com amostras dos mesocosmos contaminados. Os principais efeitos foram: adiantamento na emergência de adultos, redução no tempo médio de emergência, redução na emergência total de machos e aumento na emergência total de fêmeas, adiantamento da primeira desova, aumento na média de ovos, inviabilidade dos ovos e aumento de anormalidades nas desovas. Também foi constatado acúmulo de Fe e Mn em larvas, acúmulo de Mn em adultos e reduzido acúmulo na biomassa das exúvias e de adultos expostos ao sedimento contaminado. Não foi possível observar alterações na emergência total de adultos, alterações na biomassa de larvas, acúmulo de ambos os metais nas exúvias, acúmulo de Fe em adultos, alterações na biomassa de desovas e transferência de metais para estas. Assim, como evidenciado em diversos outros estudos, organismos bentônicos, especialmente os quironomídeos estudados neste trabalho, são suscetíveis a contaminações e sofrem danos reprodutivos que trazem efeitos em cascata para toda a cadeia alimentar, tendo o potencial de afetar a estrutura dos ecossistemas nos quais os organismos estão inseridos. Além disso, tais alterações trazem potenciais riscos de perdas dos serviços ecossitemicos, considerando a importância desse grupo de organismos em ambientes aquáticos.

### Referências

ANDRADES, Ryan; GUABIROBA, Helder C.; HORA, Maik S. C.; MARTINS, Rebeka F.; RODRIGUES, Vitor L. A.; VILAR, Ciro C.; GIARRIZZO, Tommaso; JOYEUX, Jean Christophe. Early evidences of niche shifts in estuarine fishes following one of the world's largest mining dam disasters. **Marine Pollution Bulletin**, [S. l.], v. 154, n. January, 2020. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020.111073.

BENEDICTO, J.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, C.; CAMPILLO, J. Induction of metallothioneins in Mullus barbatus as specific biomarker of metal contamination: A field study in the western Mediterranean. **Ciencias Marinas**, *[S. l.]*, v. 31, n. 1 B, p. 265–274, 2005. DOI: 10.7773/CM.V31I12.89.

BONECKER, Ana Cristina Teixeira *et al.* An integrated study of the plankton community after four years of Fundão dam disaster. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150613.

BOTTINO, F.; MILAN, J. A. M.; CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI, I. Influence of the residue from an iron mining dam in the growth of two macrophyte species. **Chemosphere**, [S. l.], v. 186, p. 488–494, 2017. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.08.030.

BRULAND, Kenneth W.; DONAT, John R.; HUTCHINS, David A. Interactive influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic waters. Limnology and Oceanography, [S.

l.], v. 36, n. 8, p. 1555–1577, 1991. DOI: 10.4319/LO.1991.36.8.1555.

BUCH, Andressa Cristhy; SAUTTER, Klaus Dieter; MARQUES, Eduardo Duarte; SILVA-FILHO, Emmanoel Vieira. Ecotoxicological assessment after the world's largest tailing dam collapse (Fundão dam, Mariana, Brazil): effects on oribatid mites. **Environmental Geochemistry and Health**, [S. l.], v. 42, n. 11, p. 3575–3595, 2020. DOI: 10.1007/s10653-020-00593-4. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10653-020-00593-4.

CAETANO, Alessander Lopes; DE PÁDUA, Maxwell Pereira; POLO, Marcelo; PASQUAL, Moacir; PEREIRA, Fabricio José. Growth, anatomy, and gas exchange of Cenostigma pluviosum cultivated under reduced water levels in iron mining tailings. **Journal of Soils and Sediments**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 381–391, 2022. DOI: 10.1007/s11368-021-03060-4. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1007/s11368-021-03060-4">https://doi.org/10.1007/s11368-021-03060-4</a>.

CANFIELD, Timothy J.; KEMBLE, Nile E.; BRUMBAUGH, William G.; DWYER, F. James; INGERSOLL, Chris G.; FAIRCHILD, James F. Use of benthic invertebrate community structure and the sediment quality triad to evaluate metal-contaminated sediment in the upper clark fork river, montana. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 13, n. 12, p. 1999–2012, 1994. DOI: 10.1002/ETC.5620131213. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.5620131213. Acesso em: 26 jul. 2022.

CARMO, Flávio Fonseca Do *et al.* Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. **Perspectives in Ecology and Conservation**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 145–151, 2017. DOI: 10.1016/J.PECON.2017.06.002.

COSTA, Patrícia Gomes; MARUBE, Liziane Cardoso; ARTIFON, Vanda; ESCARRONE, Ana Laura; HERNANDES, Juliana Carriconde; ZEBRAL, Yuri Dornelles; BIANCHINI, Adalto. Temporal and spatial variations in metals and arsenic contamination in water, sediment and biota of freshwater, marine and coastal environments after the Fundão dam failure. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151340.

COUTO, Fernanda Resende; FERREIRA, Angela de Mello; PONTES, Patrícia Procópio; MARQUES, Andréa Rodrigues. Physical, chemical and microbiological characterization of the soils contaminated by iron ore tailing mud after Fundão Dam disaster in Brazil. **Applied Soil Ecology**, [S. l.], v. 158, n. April 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103811.

DAVILA, Rafael Biscotto; FONTES, Mauricio Paulo Ferreira; PACHECO, Anderson Almeida; FERREIRA, Matheus da Silva. Heavy metals in iron ore tailings and floodplain soils affected by the Samarco dam collapse in Brazil. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 709, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.136151.

DE PÁDUA, Maxwell Ptereira; CAETANO, Alessander Lopes; POLO, Marcelo; PASQUAL, Moacir; PEREIRA, Fabricio José. Ecophysiological Responses of Copaifera langsdorffii Grown in Mining Tailings Under Lower Water Availability. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. 1.], v. 232, n. 2, 2021. DOI: 10.1007/s11270-021-05037-y.

DE SOUZA BEGHELLI, Frederico Guilherme; LOPEZ-DOVÁL, Julio César; ROSA, André Henrique; POMPÊO, Marcelo; CARLOS, Viviane Moschini. Lethal and sublethal effects of metal-polluted sediments on *Chironomus sancticaroli* Strixino and Strixino, 1981. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 286–299, 2018. DOI: 10.1007/S10646-018-1894-8/TABLES/6. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s10646-018-1894-8. Acesso em: 26 jul. 2022.

DORNFELD, Carolina Buso; RODGHER, Suzelei; NEGRI, Rogério Galante; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta; DAAM, Michiel A. *Chironomus sancticaroli* (Diptera, Chironomidae) as a Sensitive Tropical Test Species in Laboratory Bioassays Evaluating Metals (Copper and Cadmium) and Field

Testing. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, [S. l.], v. 76, n. 1, p. 42–50, 2019. DOI: 10.1007/S00244-018-0575-1/TABLES/2. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00244-018-0575-1. Acesso em: 26 jul. 2022.

ESTEVES, Gisele de Fátima; BRESSANIN, Leticia Aparecida; DE SOUZA, Kamila Rezende Dázio; DA SILVA, Adriano Bortolotti; MANTOVANI, José Ricardo; MARQUES, Daniele Maria; MAGALHÃES, Paulo César; PASQUAL, Moacir; DE SOUZA, Thiago Corrêa. Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 27, n. 31, p. 38662–38673, 2020. b. DOI: 10.1007/s11356-020-10013-w.

FARIA, Mafalda S.; LOPES, Ricardo J.; MALCATO, João; NOGUEIRA, António J. A.; SOARES, Amadeu M. V. M. In situ bioassays with Chironomus riparius larvae to biomonitor metal pollution in rivers and to evaluate the efficiency of restoration measures in mine areas. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 151, n. 1, p. 213–221, 2008. DOI: 10.1016/J.ENVPOL.2007.01.050.

FARIA, Mafalda S.; RÉ, Ana; MALCATO, João; SILVA, Paula C. L. D.; PESTANA, João; AGRA, Ana R.; NOGUEIRA, António J. A.; SOARES, Amadeu M. V. M. Biological and functional responses of in situ bioassays with Chironomus riparius larvae to assess river water quality and contamination. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 371, n. 1–3, p. 125–137, 2006. DOI: 10.1016/J.SCITOTENV.2006.08.036.

FERNANDES, Geraldo Wilson *et al.* Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza e Conservação**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 35–45, 2016. DOI: 10.1016/j.ncon.2016.10.003.

FERREIRA, Amanda D.; QUEIROZ, Hermano M.; KANEAGAE, Maira P.; NÓBREGA, Gabriel N.; OTERO, Xosé L.; BERNARDINO, Ângelo F.; FERREIRA, Tiago O. Gypsum amendment induced rapid pyritization in fe-rich mine tailings from doce river estuary after the Fundão dam collapse. **Minerals**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 1–13, 2021. a. DOI: 10.3390/min11020201.

GOMES, L. C. *et al.* Genotoxicity effects on Geophagus brasiliensis fish exposed to Doce River water after the environmental disaster in the city of Mariana, MG, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, *[S. l.]*, v. 79, n. 4, p. 659–664, 2018. DOI: 10.1590/1519-6984.188086. Disponível em: http://www.scielo.br/j/bjb/a/vKSr8WtvMHVRnyf9CSZphHH/abstract/?lang=en. Acesso em: 31 mar. 2022.

GUERRA, Marcelo Braga Bueno; TEANEY, Brian T.; MOUNT, Brianna J.; ASUNSKIS, Daniel J.; JORDAN, Brennan T.; BARKER, Ryan J.; SANTOS, Eliana E.; SCHAEFER, Carlos Ernesto G. R. Post-catastrophe Analysis of the Fundão Tailings Dam Failure in the Doce River System, Southeast Brazil: Potentially Toxic Elements in Affected Soils. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. 1.], v. 228, n. 7, 2017. DOI: 10.1007/s11270-017-3430-5.

HATJE, Vanessa; PEDREIRA, Rodrigo M. A.; DE REZENDE, Carlos Eduardo; SCHETTINI, Carlos Augusto França; DE SOUZA, Gabriel Cotrim; MARIN, Danieli Canaver; HACKSPACHER, Peter Christian. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, *[S. l.]*, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-11143-x.

HUANG, Danlian *et al.* Remediation of lead-contaminated sediment by biochar-supported nanochlorapatite: Accompanied with the change of available phosphorus and organic matters. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 348, p. 109–116, 2018. DOI: 10.1016/J.JHAZMAT.2018.01.024.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Laudo técnico preliminar do rompimento da barragem de mariana - Direito Ambiental. 2015. Disponível em: https://www.passeidireto.com/arquivo/21124833/laudo-tecnico-

preliminar-do-rompimento-da-barragem-de-mariana. Acesso em: 31 mar. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. **Informacoes e analises da economia mineral brasileira**. [s.l: s.n.]. Disponível em: www.ibram.org.br,. Acesso em: 31 mar. 2022.

JANSSENS DE BISTHOVEN, L.; POSTMA, J.; VERMEULEN, A.; GOEMANS, G.; OLLEVIER, F. Morphological Deformities in Chironomus Riparius Meigen Larvae after Exposure to Cadmium over Several Generations. **Water, Air, and Soil Pollution 2001 129:1**, [S. l.], v. 129, n. 1, p. 167–179, 2001. DOI: 10.1023/A:1010367524314. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1023/A:1010367524314. Acesso em: 26 jul. 2022.

KRANTZBERG, G.; STOKES, P. M. Metal Regulation, Tolerance, and Body Burdens in the Larvae of the Genus Chironomus. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, [S. l.], v. 46, n. 3, p. 389–398, 2011. DOI: 10.1139/F89-051. Disponível em: https://cdnsciencepub.com/doi/10.1139/f89-051. Acesso em: 26 jul. 2022.

MACÊDO, Anderson Kelvin Saraiva; SANTOS, Keiza Priscila Enes Dos; BRIGHENTI, Ludmila Silva; WINDMÖLLER, Cláudia Carvalhinho; BARBOSA, Francisco Antônio Rodrigues; RIBEIRO, Rosy Iara Maciel de Azambuja; SANTOS, Hélio Batista Dos; THOMÉ, Ralph Gruppi. Histological and molecular changes in gill and liver of fish (Astyanax lacustris Lütken, 1875) exposed to water from the Doce basin after the rupture of a mining tailings dam in Mariana, MG, BrazilScience of the Total Environment, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139505.

PENG, Wei; FANG, Zhen Dong; QIAO, Hua; HAO, Quan Long; ZHANG, Kai; YU, Hai Bo. A Review on Remediation Technologies of PCBs from the Contaminated Soils or Sediments. Advanced Materials Research, [S. l.], v. 955–959, p. 2238-2242, 2014. DOI: 10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/AMR.955-959.2238. Disponível em: https://www.scientific.net/AMR.955-959.2238. Acesso em: 26 jul. 2022.

PÉRY, Alexandre R. R.; GEFFARD, Alain; CONRAD, Arnaud; MONS, Raphaël; GARRIC, Jeanne. Assessing the risk of metal mixtures in contaminated sediments on Chironomus riparius based on cytosolic accumulation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 71, n. 3, p. 869–873, 2008. DOI: 10.1016/J.ECOENV.2008.04.009.

POSTMA, J. F.; VAN KLEUNEN, A.; ADMIRAAL, W. Alterations in life-history traits of Chironomus riparius (diptera) obtained from metal contaminated rivers. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology 1995 29:4**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 469–475, 1995. DOI: 10.1007/BF00208376. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/BF00208376. Acesso em: 26 jul. 2022.

QUADRA, Gabrielle R. *et al.* Far-reaching cytogenotoxic effects of mine waste from the Fundão dam disaster in Brazil. **Chemosphere**, [S. l.], v. 215, p. 753–757, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.104.

QUARESMA, V. S.; AGUIAR, V. M. C.; BASTOS, A. C.; OLIVEIRA, K. S.; VIEIRA, F. V.; SÁ, F.; BAPTISTA NETO, J. A. The impact of trace metals in marine sediments after a tailing dam failure: the Fundão dam case (Brazil). **Environmental Earth Sciences**, [S. l.], v. 80, n. 17, 2021. DOI: 10.1007/s12665-021-09817-x.

QUARESMA, Valéria S.; BASTOS, Alex C.; LEITE, Marcos Daniel; COSTA, Adeíldo; CAGNIN, Renata Caiado; GRILO, Caroline F.; ZOGHEIB, Ludmilla F.; SANTOS OLIVEIRA, Kyssyanne Samihra. The effects of a tailing dam failure on the sedimentation of the eastern Brazilian inner shelf. **Continental Shelf Research**, [S. 1.], v. 205, n. May, 2020. DOI: 10.1016/j.csr.2020.104172.

ROESER, Hubert Matthias Peter; ROESER, Patricia Angelika. O Quadrilátero Ferrífero - MG, Brasil: aspectos sobre sua história, seus recursos minerais e problemas ambientais relacionados. **Geonomos**, [S. l.], 2013. DOI: 10.18285/GEONOMOS.V18I1.67

SAMARCO MINERAÇÃO. RADA-Relatório de Avaliação do Desempenho Ambiental Barragem Fundão SAMARCO MINERAÇÃO RADA RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO AMBIENTAL Barragem de Fundão Tipo do Documento Município Data Área Volume RADA Mariana-MG Abril/2013 Barragem Fundão Único. Brasil. Disponível em: http://www.siam.mg.gov.br/siam/lc/2013/0001519840952013/7086862013.pdf. Acesso em: 31 mar. 2022.

SANTANA, Felipe C.; FRANCELINO, Márcio R.; SCHAEFER, Carlos E. G. R.; VELOSO, Gustavo V.; FERNANDES-FILHO, Elpídio I.; SANTANA, Adalgisa de J. P.; TIMO, Lucas B.; ROSA, André P. Water Quality of the Gualaxo do Norte and Carmo Rivers After the Fundão Dam Collapse, Mariana, MG. **Water, Air, and Soil Pollution**, [S. l.], v. 232, n. 4, 2021. DOI: 10.1007/s11270-021-05113-3.

SANTANA, Genilson Pereira; BARRONCAS, Priscila de Souza Rosa. Estudo de metais pesados (Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn) na Bacia do Tarumã-Açu Manaus (AM). **Acta Amazonica**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 111–118, 2007. DOI: 10.1590/s0044-59672007000100013.

SANTOS, Elisabeth C. de Oliveira *et al.* Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia: síntese dos estudos do Instituto Evandro Chagas/FUNASA. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 171–185, 2003. DOI: 10.1590/S1415-790X2003000200010. Disponível em: http://www.scielo.br/j/rbepid/a/3PmZtFcYhht3nLRS8T9BFgK/?lang=pt. Acesso em: 31 mar. 2022.

SANTOS, Eugênia Moreira; NALINI, Hermínio Arias; ABREU, Adriana Trópia; NOGUEIRA, Leonardo Brandão. Mobilization of heavy metals in river sediments from the region impacted by the Fundão dam rupture, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, [S. l.], v. 80, n. 24, 2021. a. DOI: 10.1007/s12665-021-10107-9.

SCHETTINI, Carlos A. F.; HATJE, Vanessa. The Suspended Sediment and Metals Load from the Mariana's Tailing Dam Failure to the Coastal Sea. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 661–668, 2020. a. DOI: 10.1002/ieam.4274.

SEGURA, Fabiana Roberta *et al.* Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 218, p. 813–825, 2016. a. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.08.005.

SHUHAIMI-OTHMAN, Mohammad; YAKUB, Nadzifah; UMIRAH, Nur Shahirul; ABAS, Ahmad. Toxicity of eight metals to Malaysian freshwater midge larvae Chironomus javanus (Diptera, Chironomidae). **Toxicology and Industrial Health**, [S. l.], v. 27, n. 10, p. 879–886, 2011. DOI: 10.1177/0748233711399318. Disponível em: https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0748233711399318. Acesso em: 26 jul. 2022.

SWANSBURG, Erin O.; FAIRCHILD, Wayne L.; FRYER, Brian J.; CIBOROWSKI, Jan J. H. Mouthpart deformities and community composition of chironomidae (diptera) larvae downstream of metal mines in New Brunswick, Canada. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 21, n. 12, p. 2675–2684, 2002. DOI: 10.1002/ETC.5620211221. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.5620211221. Acesso em: 26 jul. 2022.

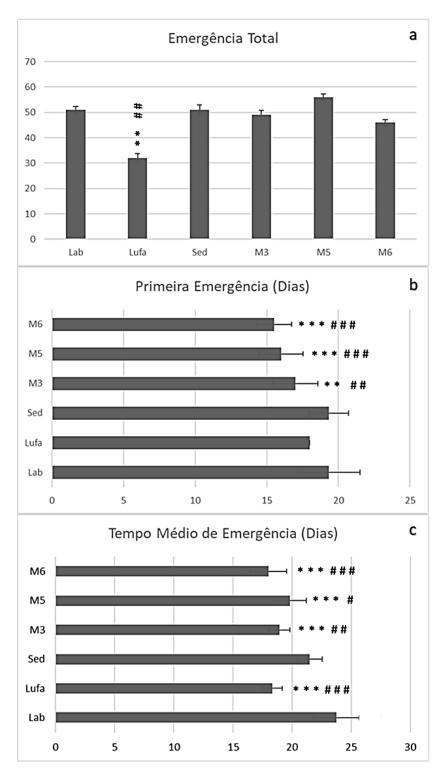
WENTSEL, R.; MCINTOSH, A.; ATCHISON, G. Sublethal effects of heavy metal contaminated sediment on midge larvae (Chironomus tentans). **Hydrobiologia 1977 56:2**, [S. l.], v. 56, n. 2, p. 153–

156, 1977. DOI: 10.1007/BF00023354. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/BF00023354. Acesso em: 26 jul. 2022.

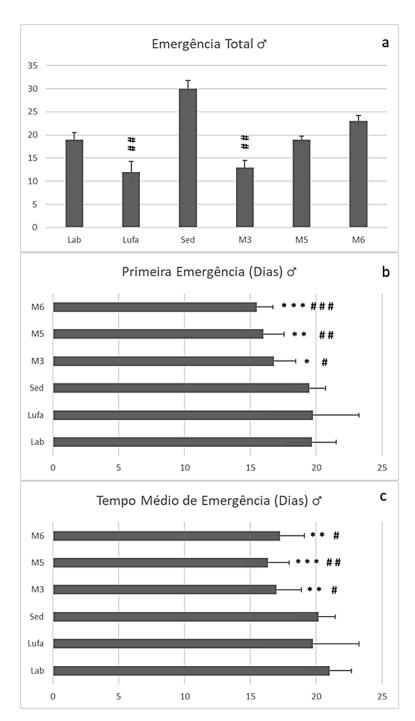
WENTSEL, R.; MCINTOSH, A.; MCCAFFERTY, W. P. Emergence of the midge chironomus tentans when exposed to heavy metal contaminated sediment. **Hydrobiologia 1978 57:3**, [S. l.], v. 57, n. 3, p. 195–196, 1978. DOI: 10.1007/BF00014573. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/BF00014573. Acesso em: 26 jul. 2022.

YOUNG, Leah Bendell; HARVEY, Harold H. Metals in Chironomidae larvae and adults in relation to lake pH and lake oxygen deficiency. **Verhandlungen**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 246–251, 2017. DOI: 10.1080/03680770.1987.11897934. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03680770.1987.11897934. Acesso em: 26 jul. 2022.

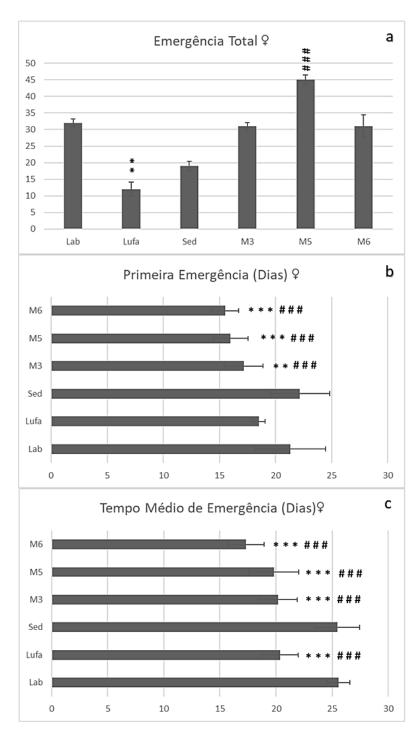
## Anexo A – Lista de Figuras



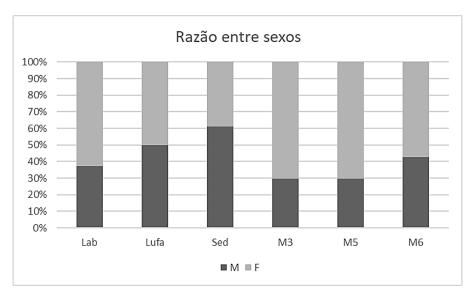
**Figura 1:** Emergência total (a), dia da primeira emergência (b) e tempo médio de emergência (c) de *C. riparius* expostos a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.



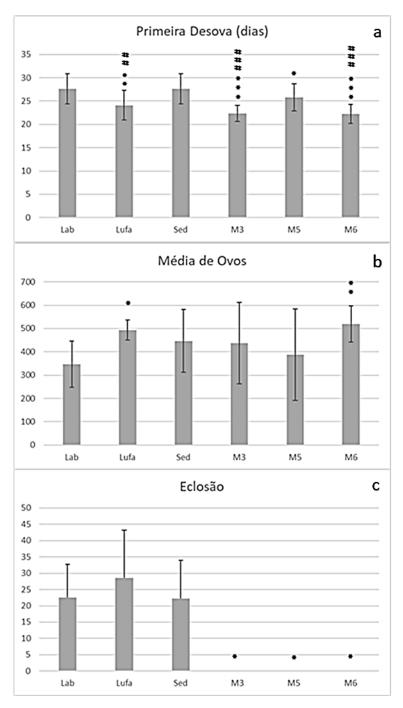
**Figura 2:** Emergência total (a), dia da primeira emergência (b) e tempo médio de emergência (c) de machos de *C. riparius* expostos a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.



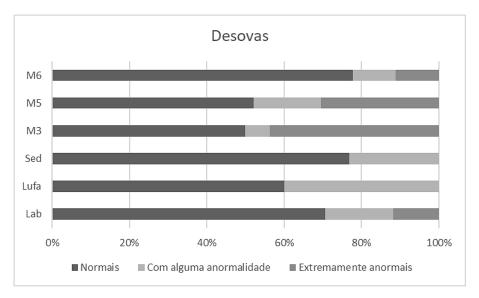
**Figura 3:** Emergência total (a), dia da primeira emergência (b) e tempo médio de emergência (c) de fêmeas de *C. riparius* expostos a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.



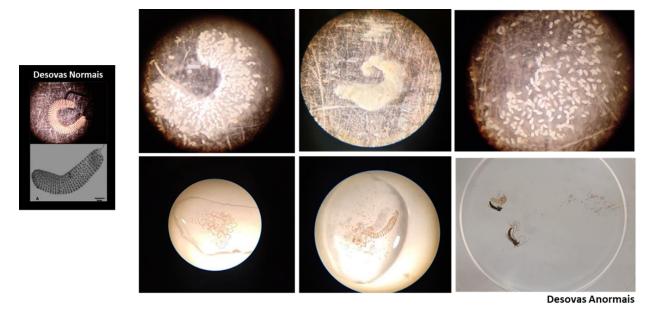
**Figura 4:** Razão de adultos emergidos machos e fêmeas. As diferenças estatísticas foram do controle de laboratório em relação ao controle com sedimento não contaminado, do solo Lufa em relação a M3 e M5 e do sedimento não contaminado em relação a M3 e M5 (p<0,05).



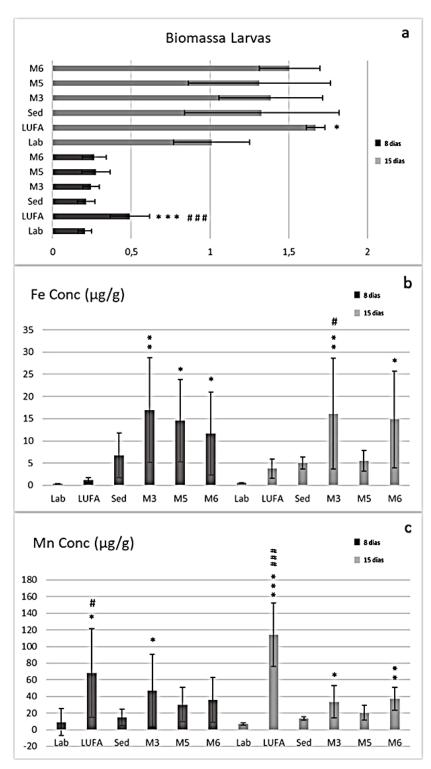
**Figura 5:** Dia da primeira desova (a), média no número de ovos (b) e taxa de eclosão (c) de *C. riparius* expostos a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.



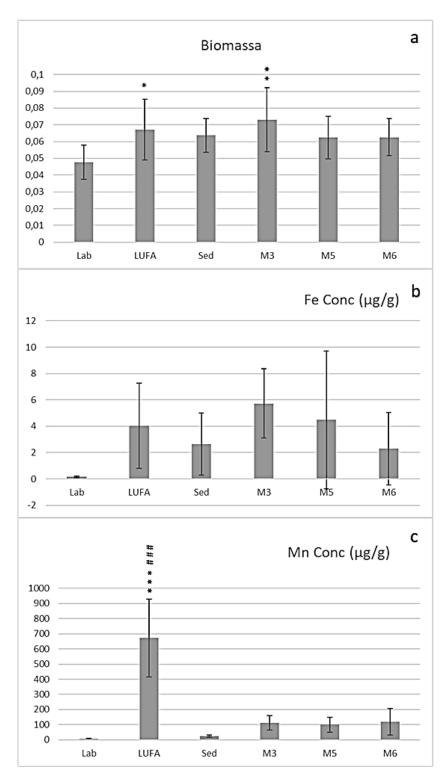
**Figura 6:** Porcentagem de desovas produzidas por organismos expostos à contaminação, consideradas normais, com alguma anormalidade ou extremamente anormais.



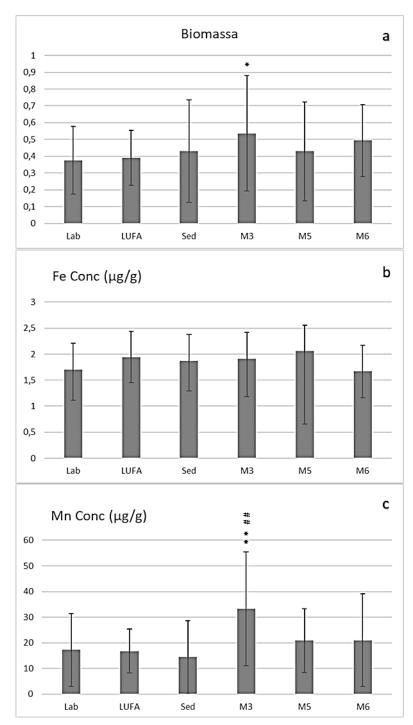
**Figura 7:** Exemplos de desovas normais (a esquerda) e desovas anormais (a direita) da espécie C. Riparius expostos a sedimento contaminado com rejeito de mineração. Exemplos de características consideradas anormais: desovas não espiraladas, ovos soltos, massa sem ovos e ovos desorganizados.



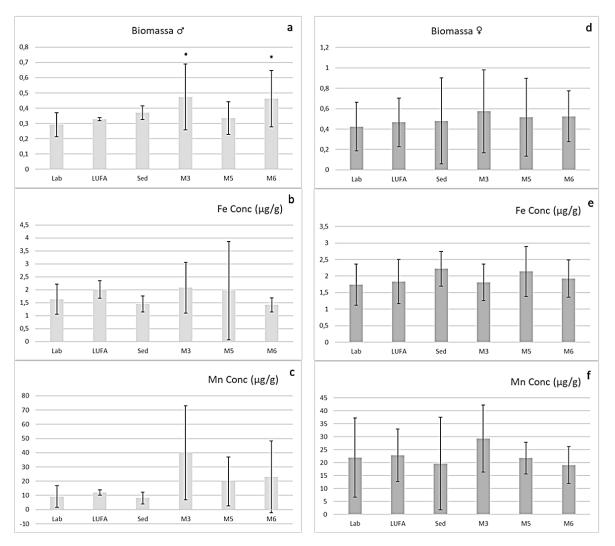
**Figura 8:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em larvas de 8 e 15 dias de idade de *C. riparius* expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.



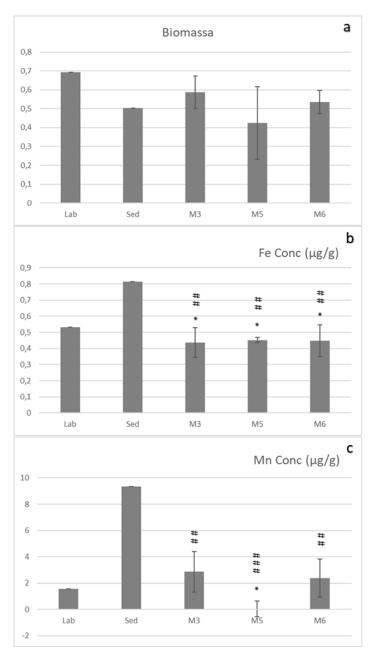
**Figura 9:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em exúvias de larvas de *C. riparius* expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.



**Figura 10:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em adultos de *C. riparius* emergidos de larvas expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.



**Figura 11:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em adultos de *C. riparius* emergidos de larvas expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.



**Figura 12:** Biomassa e concentrações de Fe e Mn encontradas em desovas de *C. riparius* de larvas expostas a sedimentos contaminados por rejeito. Os (\*) indicam comparações com o controle de laboratório e os (#) indicam comparações com o controle com sedimento. Códigos de significância: (\*/#) p<0,05; (\*\*/##) 0,001<p<0,01; (\*\*\*/###) 0<p<0,001.

<u>Capítulo V:</u> Efeitos nocivos da mistura dos metais Mn e Fe em *Daphnia magna* – caso baseado no derramamento de rejeitos do desastre ambiental de Mariana (MG/Brasil)

#### Resumo

Por serem considerados metais essenciais, a toxicidade dos metais Mn e Fe é pouca avaliada pela comunidade científica. Se por um lado estes metais causam deficiências nutricionais aos seres vivos em baixas concentrações, por outro, podem ser nocivas a diferentes formas de vida em concentrações excessivas, além de serem passíveis de bioacumulação. O rompimento da barragem de contenção de resíduos da mineração de Fe em Mariana (MG/Brasil) foi a causa do aporte de uma enorme quantidade de metais nos ecossistemas adjacentes. Dentre os principais metais, Mn e Fe foram quantificados nas maiores concentrações, tanto no solo quanto em sedimentos e na água de rios afetados. Em cenário real de ambientes naturais e, principalmente, em contexto de desastres ambientais, é mais provável a ocorrência de metais em mistura do que isolados. Assim, é relevante entender os efeitos nocivos à biota que estes contaminantes podem exercer. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta aguda (imobilidade) e crônica (reprodução/biomassa/bioacumulação) da espécie de cladócero Daphnia magna exposta à contaminação pelos metais Mn e Fe e suas misturas binárias. A mistura do Mn e Fe agiu de forma predominantemente antagônica para o cladócero, sendo que o modelo de concentração de adição dependente da dose da mistura (CA/DR) foi o que melhor explicou o efeito obtido. As concentrações de Fe, abaixo das registradas por outros autores nos ambientes atingidos pela lama em Minas Gerais, causaram efeitos na reprodução (número de neonatos e atraso no início reprodutivo), na perda de biomassa e acumularam em D. magna. O Mn foi menos tóxico à D. magna, no entanto, a mistura com o Fe fez com que ocorresse atraso reprodutivo e acúmulo de Mn nos organismos. Os resultados obtidos mostraram que a mistura dos metais Mn e Fe se mostrou nociva ao cladócero D. magna, ressaltando o potencial tóxico do rejeito proveniente do rompimento da Barragem do Fundão em Mariana (MG).

Palavra-chave: metal, mistura de metais, manganês, ferro, bioacumulação, rejeitos de mineração

# 1 Introdução

No dia 05 de novembro de 2015 ocorreu no Brasil o maior desastre ambiental envolvendo barragens de mineração. A Barragem do Fundão, localizada no subdistrito de Bento Rodrigues, Mariana (MG/Brasil), que armazenava quase 50 milhões de metros cúbicos de rejeito de mineração de ferro, se rompeu derramando todo seu conteúdo por quase 700 km e soterrando cidades e ecossistemas inteiros até atingir o oceano (IBAMA, 2015). O rejeito é composto por todos resíduos da etapa de beneficiamento do processo da extração de metais.

Por fazer parte de etapas químicas da extração, este rejeito pode conter diferentes compostos, dentre eles os metais, como o cádmio, provenientes da etapa de beneficiamento do caulim (SILVA *et al.*, 2001), o mercúrio proveniente de processos físico-químicos da extração do ouro ou derivados do cianeto (CIMINELLI & GOMES, 2002), o cromo, proveniente da extração química de níquel (GARNIER *et al.*, 2006), e arsênio e manganês, provenientes da mineração do próprio manganês (SANTOS *et al.*, 2003). Além disso, materiais carbonosos e sólidos ricos em sulfetos de ferro, como por exemplo, os provenientes da extração do carvão, são também comuns (FUNGARO, 2005). Nota-se, portanto, a grande quantidade de metais que são gerados como resíduos de mineração.

São chamados metais pesados qualquer metal ou metaloide tóxico em baixas concentrações e com densidade entre 3,5 e 7 g/cm³ (TCHOUNWOU et al., 2012). Estes estão entre os tóxicos biocumulativos persistentes (PBTs), são persistentes e bioacumulam nos ambientes aquáticos (RAY & MCCORMICK-RAY, 2014; AHMED et al., 2015; ISLAM et al., 2015). Apesar de sua toxicidade e potencial de bioacumulação, eles ocorrem naturalmente nos ambientes devido às formações geológicas e são também essenciais ao desenvolvimento de muitos seres-vivos. No entanto, atividades antropogênicas, tais como a atividade mineradora, podem aumentar sua concentração drasticamente no ambiente. Em um contexto de desastre ambiental, tais proporções podem chegar a níveis extremamente preocupantes.

No caso do rejeito proveniente da Barragem do Fundão, estudos subsequentes ao desastre identificaram altas concentrações principalmente de ferro (de 37,9 mg/Kg a 386 g/Kg) e manganês (de 248,7 mg/Kg a 14 g/Kg) (COUTO *et al.*, 2021; FERREIRA *et al.*, 2021; de PÁDUA *et al.*, 2021) em amostras da lama. Tais metais também foram aqueles encontrados em maior quantidade em sedimentos (de 92,2 mg/Kg a 216,8g/Kg de Fe e de 18,9 mg/Kg a 1733 mg/Kg de Mn) e nas águas (até 3,26 mg/L de Fe e até 2,59 mg/L de Mn) (COUTO *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2021; BONECKER *et al.*,2022; COSTA *et al.*, 2022) de rios e riachos atingidos pelo rejeito. Segundo os dados supracitados encontrados na literatura, o Fe e o Mn chegaram a atingir concentrações 10 e 26 vezes, respectivamente, maiores que as máximas indicadas pela resolução nacional CONAMA 367/2005.

O ferro e manganês, assim como o cobre, zinco e o selênio, são considerados metais essenciais, ou seja, são necessários ao desenvolvimento e manutenção da vida para vários organismos. Quando disponíveis em quantidades insuficientes podem causar deficiência nutritiva, porém quando presentes em níveis excessivos podem ser tóxicos às diferentes formas de vida (USEPA, 1985). Muitos estudos mostram a toxicidade e alterações nos parâmetros ambientais por metais, porém, justamente por serem considerados essenciais, o

Mn e o Fe não são comumente considerados tóxicos ou danosos ao meio ambiente (HARFORD *et al.*, 2015), sendo raro estudos de toxicidade disponíveis para estes metais. No entanto, sabe-se que o Fe é um componente importante nas hemoglobinas, estando diretamente ligado ao transporte de oxigênio, e que o Mn possui maior afinidade por células neurais e em excesso pode bioacumular nestes tecidos desempenhando papel neurotóxico (CERSOSIMO & KOLLER, 2006). Porém, ainda não se tem descrito os modos de ação específicos que ambos os metais agem nos organismos vivos (LU *et al.*, 2018).

É possível que compostos tóxicos aumentem a suscetibilidade dos animais aquáticos a várias doenças por interferirem nas funções normais dos processos imunológicos, reprodutivos e de desenvolvimento (EISSA et al., 2013). Estudos de toxicidade de metais isolados apresentam grande relevância científica, porém a toxicidade de poluentes em ambientes aquáticos não se dá apenas por um composto isolado e sim por uma mistura de compostos presentes nos ambientes reais. Segundo LI & YANG (2018), a contaminação por Mn é frequentemente acompanhada por misturas complexas envolvendo Pb, Cd, Zn, Cu, Fe, dentre outros. Em estudos de toxicidade aguda com a espécie de nematoide *Caenorhabditis elegans*, por exemplo, verificou-se que enquanto a mistura de Mn com Cd induziu efeito antagônico (ou seja, a toxicidade da mistura foi menor que a toxicidade dos metais isolados), a mistura de Mn com Pb induziu efeito sinérgico (ou seja, a toxicidade da mistura foi maior que a toxicidade dos dois metais isolados). A mesma pesquisa identificou padrões mais complexos de toxicidade crônica e ressaltou a complexidade da interação entre metais bem como a relação dos seus diferentes modos de ação e os efeitos tóxicos à biota (LU et al., 2018).

Atualmente existem modelos preditivos que permitem obter dados mais realísticos do comportamento tóxico das misturas de compostos químicos no ambiente (JONKER et al, 2005). Tais modelos são baseados nos diferentes modos de ação (MoA) destes contaminantes nos organismos expostos (FREITAS et al, 2014; LOUREIRO et al, 2010). O modelo chamado "concentração de adição" (CA) é aplicado quando ambos os compostos apresentam o mesmo MoA, ou seja, a mesma rota biológica que contribui para uma resposta proporcional aos efeitos de cada contaminante. Portanto, a CA soma as toxicidades relativas de cada composto da mistura (LOEWE & MUISCHNEK, 1926). Já o modelo chamado "ação independente" (IA) é aplicado quando os compostos testados possuem MoA distintos, ou seja, agem no organismo por diferentes rotas, resultando, desta forma, em uma multiplicação das probabilidades de efeito de cada um dos compostos que formam a mistura (BLISS, 1939). A partir destas interações é possível categorizar o efeito causado pelas misturas analisadas como

sinérgico, antagônico ou dependente das doses (diferindo em altas ou baixas concentrações), e dependentes da proporção da composição das misturas (JONKER *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2015).

Neste contexto, nota-se a relevância de estudos com misturas de metais, mesmo àqueles considerados essenciais, uma vez que estes estão comumente presentes nos ecossistemas e muitas vezes em altas concentrações, como é o caso do Fe e Mn contidos no rejeito proveniente da extração de Fe em Mariana (MG). O objetivo deste trabalho foi identificar efeitos letais e subletais dos metais Mn e Fe, isolados e em mistura, no organismoteste *Daphnia magna*, bem como observar se houve bioacumulação destes contaminantes nos organismos após o período crônico de exposição.

## 2 Metodologia

## 2.1 Organismo-teste e cultivo

Todos os ensaios foram realizados com a espécie *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladócera, Crustácea) cultivadas em laboratório e testadas sob condições estabelecidas pelas normas OECD (OECD, 1984; OECD, 1998) para testes crônicos. Os cultivos já estavam previamente estabelecidos (e aclimatados) no laboratório de Ecotoxicologia da Faculdade de Ciências da *Vrije Universiteit* (VU, Amsterdã) e foram mentidos sob as condições laboratoriais controladas descritas a seguir. Aproximadamente 20 fêmeas por litro foram cultivadas em aquários transparentes contendo meio de cultivo "Aachener Daphnien médium" (ADaM) (KLUTTGEN *et al.*, 1994), e mantidas a 20° C e fotoperíodo 16/8h claro/escuro. A renovação do meio ocorreu três vezes na semana e a alimentação se deu na mesma frequência, com mistura de algas unicelulares vivas das espécies *Raphidocelis subcapitata* e *Chlamydomonas reinhardtii* (proporção de 3:1 e concentração de 1,5 mg C/L).

#### 2.2 Bioensaios com metais

Tendo em vista que os metais encontrados em maiores concentrações no rejeito de mineração extravasado da Barragem do Fundão (Mariana/MG) foram o Fe e o Mn, estes dois metais foram escolhidos para este estudo. Para determinar a toxicidade dos metais Fe e Mn para *D. magna* as formas clorídricas dos metais (FeCl<sub>2</sub> e MnCl, grau analítico de pureza > 99%), foram utilizadas para a produção da solução estoque. Foram preparadas soluções

estoque nas concentrações de 6 g/L de Mn e 2 g/L de Fe para os testes agudos isolados, e 8 g/L de Mn e 6 g/L de Fe para os testes agudos e crônico em misturas. Uma vez que os compostos eram solúveis em água, não houve necessidade de utilização de outros solventes. As soluções foram preparadas em laboratório com água destilada e suas diluições foram feitas em água de cultivo dos organismos-teste, conforme norma estabelecida pela OECD (1984; 1998). Considerando a estabilidade e lenta degradação dos metais utilizados, a solução estoque foi preparada imediatamente antes dos experimentos em volume suficiente para que a mesma fosse utilizada durante toda a renovação do teste, evitando assim, variações nas concentrações ao longo do ensaio.

Os organismos-teste foram submetidos a três exposições laboratoriais: i) teste agudo de 48h com os metais Fe e Mn isolados para obtenção dos valores de CE<sub>10</sub> e CE<sub>50</sub> para estes contaminantes; ii) teste agudo de 48h com a mistura dos metais Fe e Mn; iii) teste crônico de 21 dias, no qual as primeiras concentrações testadas representam um teste crônico com as substâncias isoladas e as concentrações subsequentes eram de misturas binárias com Mn e Fe em diferentes proporções como será descrito a seguir. Assim como a manutenção do cultivo, todos os ensaios seguiram as recomendações estabelecidas em normas técnicas OECD 202 (OECD, 1984) para testes agudos e OECD 211 (OECD, 1998) para testes crônicos.

# 2.2.1 Bioensaios agudos com metais isolados

Segundo OECD 202 para testes agudos com *D. magna*, os organismos com idade inferior a 24h de vida foram submetidos a uma faixa de pelo menos cinco concentrações da substância teste (solução feita com água do meio de cultivo) mais um controle contendo a própria água de cultivo, por 48h. A exposição foi mantida sob condições controladas de temperatura e fotoperíodo iguais às do cultivo (20 °C e 16/8h claro/escuro). Foram colocadas 5 fêmeas por recipiente contendo 30 ml de solução teste em quatro réplicas, totalizando 20 organismos por concentração. Após 48h foi quantificada a imobilidade dos organismos testados e calculada as concentrações de efeito para 10% e 50% da população (CE<sub>10</sub> e CE<sub>50</sub>). Baseado em resultados de testes preliminares, o ensaio agudo com as substâncias isoladas estabeleceu as seguintes concentrações nominais para os contaminantes – Mn: 0; 37,5; 75; 150; 300; 600 mg/L e Fe: 0; 20; 30; 45; 67.5; 101,5 mg/L.

#### 2.2.2 Bioensaios agudos com mistura de metais

Para o ensaio agudo com as substâncias em mistura, as concentrações seguiram o modelo "full factorial" (FREITAS et al., 2014), o qual inclui um grupo controle, cinco

concentrações do contaminante 1 isolado, cinco concentrações do contaminante 2 isolado, e 25 concentrações de misturas combinando todas as cinco concentrações do contaminante 1 com todas as cinco concentrações do contaminante 2. As concentrações nominais testadas de Mn variaram de 37,5 a 600 mg/L e as concentrações nominais de Fe variaram de 12,5 a 200 mg/L. Tais concentrações foram baseadas, porém adaptadas, nos resultados obtidos nos testes isolados. Foram adicionadas 5 fêmeas por recipiente contendo 30 ml de solução teste em quatro réplicas, totalizando 20 organismos por concentração. Da mesma forma que os testes isolados, ao final de 48h foi verificada a imobilidade dos organismos-teste.

#### 2.2.3 Bioensaios crônicos com mistura de metais

A partir dos valores de CE<sub>10</sub> e CE<sub>50</sub> obtidos nos testes de toxicidade aguda com as substâncias isoladas, foram determinados os valores utilizados como unidades tóxicas (UT). Testes preliminares mostraram que os valores obtidos de CE<sub>50</sub> e CE<sub>10</sub> causaram altas mortalidades no organismo utilizado. Dessa forma, optou-se por utilizar o conceito de ACR10, "the acute to chonic toxicity ratio" (HOFF et al., 2010). ACR10 é a razão entre o valor agudo e o valor crônico, onde o valor agudo é definido como a concentração letal (CL<sub>10</sub>) ou concentração de efeito (CE<sub>10</sub>) para 10% dos organismos testados e o valor crônico é a concentração de efeito não observado (CENO). Dessa forma, os valores obtidos de TU foram 30 mg/L para o Mn e 5 mg/L para o Fe.

Para o teste crônico, o *design "partial fixed-ratio*" foi escolhido (CASSEE *et al.*, 1998), o qual inclui um grupo controle, quatro concentrações do contaminante 1 isolado, quatro concentrações do contaminante 2 isolado e onze concentrações de misturas combinando quatro diferentes "forças toxicas". As forças tóxicas se referem às frações das UT combinadas entre si. Dessa forma, as "forças toxicas" utilizadas neste experimento foram: 0,25 (0,125 + 0,125; 0,0625 + 0,1875; 0,1875 + 0,0625); 0,5 (0,25 + 0,25; 0,125 + 0,375; 0,375 + 0,125); 1 (0,5 + 0,5; 0,25 + 0,75; 0,75 + 0,25) e 2 (1 + 1; 0,5 + 1,5; 1,5 + 0,5) unidades tóxicas (UT). As concentrações de Mn variaram de 7.5 a 60 mg/L nos testes isolados e de 1,88 a 45 mg/L nas misturas, enquanto as concentrações de Fe variaram de 1,25 a 10 mg/L nos testes isolados e de 0,3125 a 7.5 mg/L nas misturas.

Seguindo as normas estabelecidas pela OECD 211 (OECD, 1998) para testes crônicos com *D. magna*, organismos com idade inferior a 24h de vida foram submetidos às concentrações supracitadas da substância teste (em solução com água do meio de cultivo), além de um controle contendo a própria água de cultivo. A exposição foi mantida sob condições controladas de temperatura e fotoperíodo iguais às do cultivo (20°C e 16/8h

claro/escuro) e foi colocada apenas uma fêmea por recipiente contendo 30 ml de solução. Cada concentração foi representada por 5 réplicas. O experimento teve duração de 21 dias com alimentação a cada renovação das soluções, a qual foi realizada a cada 48h. Todas as vezes que as soluções eram renovadas os neonatos de cada fêmea eram quantificados.

## 2.3 Biomassa e Bioacumulação

Ao final do bioensaio agudo com os metais Mn e o Fe isolados e do bioensaio crônico de misturas com os mesmos metais, a biomassa e a bioacumulação dos metais testados foram mensuradas nos organismos sobreviventes. Para tal, ao final dos testes, exemplares de *D. magna* foram congeladas separadamente. No início do processo de quantificação, os animais foram liofilizados por 48h, pesados em microbalança (dado utilizado para comparação entre biomassas) e digeridos em 2 ml de uma mistura 4:1 HNO3 65% (Riedel-de Haen) e HCl 37% (Baker) em sistemas fechados de bombas de teflon. Estas foram aquecidas em forno até 140° C por 7h (Binder) e a quantificação do Fe e do Mn foi dada por meio de espectrofotometria de absorção atômica com chama (AAS; Perkin-Elmer AAnalyst 100). As concentrações de metal nos organismos foram apresentadas com base no peso seco. A qualidade da análise foi verificada usando os materiais de referência certificados DOLT4 (fígado de cação, Normas LGCS) e fígado bovino (BCR-185R).

#### 2.4 Análise de dados

Os valores de CE<sub>10</sub> e CRE<sub>50</sub> dos testes agudos isolados e crônico foram analisados por regressão não linear utilizando curva logística por meio do Software Statistica versão 7.0 (StatSoft 2004). Os parâmetros obtidos no teste crônico, tais como número de neonatos, início da reprodução, biomassa e bioacumulação, foram analisados quanto às diferenças significativas entre os tratamentos em relação ao controle, por análise de variância ANOVA de uma via. Os resultados obtidos em ambos os testes de mistura, agudo e crônico, foram analisados pelos modelos de concentração de adição "concentration addition" (CA) e de ação independente "independent action" (IA,) por meio da ferramenta MIXTOX (JONKER et al., 2005). Segundo metodologia descrita em Jonker et al. (2005), adicionando-se os parâmetros a e b é possível modelar os três desvios do modelo de referência: interações sinérgicas/antagonistas (S/A), desvio dependente da razão de dose (DR) e desvio dependente do nível de dose (DL).

#### 3 Resultados

### 3.1 Bioensaios agudos com metais isolados

As médias dos valores de CE<sub>50,48h</sub> e CE<sub>10;48h</sub> encontradas para *D. magna* expostas às diferentes concentrações de Mn e Fe foram: 180,959 e 122,516 mg/L e 53,629 e 46,120 mg/L, respectivamente. Os valores de CE<sub>50</sub> de ambos os compostos com seus limites inferiores e superiores estão apresentados na Figura 1. As respectivas curvas dose-resposta estão representadas na Figura 2.

### 3.2. Bioensaios agudos com mistura de metais

Os dados e parâmetros obtidos por meio do programa MIXTOX para o teste de exposição aguda com a mistura de Mn e Fe estão expressos na Tabela 1. Visto que o modelo que melhor explicou os resultados obtidos para a mistura dos metais (SS: 47,44; p<0,05;  $r^2$  = 0,462) foi o modelo de concentração de adição (CA), este foi escolhido para a representação dos dados. Segundo o modelo e o gráfico isobolograma apresentado e com base em Jonker *et al* (2005) sobre os valores de *a* e *b* obtidos pelo modelo, é observada uma relação predominantemente de antagonismo entre o Mn e o Fe, exceto para as razões de mistura, onde nota-se uma influência maior negativa de um dos compostos que cause sinergismo. No caso destes metais, o que causou esta relação foi o Fe, maior responsável pela toxicidade. Entretanto, esta relação de sinergismo não é menor quando comparada a ação antagônica entre os composto, que é predominante (desvio dependente da razão de dose - DR) (Figura 3).

## 3.3 Bioensaios crônicos com mistura dos metais

As concentrações de Fe4 (duas vezes a unidade tóxica; concentração igual a 10 mg/L de Fe) e Mix11 (força tóxica igual a 2 com 0,5 TU de Mn e 1,5 TU de Fe; concentrações iguais as 15 e 7,5mg/L de Mn e Fe, respectivamente, causaram a morte de todos os organismos e foram excluídas do teste. A Tabela 2 reúne a nomenclatura das concentrações utilizadas nos testes e suas características. Os valores de CE<sub>50</sub> calculados para o Mn e o Fe foram 91,83 e 3,5 mg/L respectivamente. Não houve diferença significativa (p>0,05) entre as diferentes concentrações de Mn testadas e o controle em relação ao número de neonatos. Já a

concentração Fe3 (2,5mg/L) causou redução (p<0,05) de 72,7% no número de neonatos em relação ao controle. As concentrações Mix8 (7,5 : 3,75 mg/L), Mix10 (30 : 5 mg/L) e Mix11 (15 : 7,5 mg/L) apresentaram redução significativa (p<0,05) de número de neonatos em 61%, 98% e 100% respectivamente, em relação ao controle (Figura 4). Em relação ao dia em que as fêmeas geraram a primeira ninhada, houve diferença (p<0,05) para o Mn4 (60 mg/L) e o Fe3 (2,5 mg/L), com um atraso médio de 3 e 5 dias, respectivamente em relação ao controle. Também foi observado atraso (p<0,05) no dia da primeira ninhada nas misturas Mix1 (3,75 : 0,625 mg/L) e Mix5 (3,75 : 1,875 mg/L) de 4 dias, Mix8 (7,5 : 3,75 mg/L) de 5 dias, Mix9 (22,5 : 1,25 mg/L) de 3 dias, Mix10 (30 : 5 mg/L) de 8 dias e Mix12 (45 : 2,5 mg/L) de 4 dias em relação ao controle (Figura 5).

## 3.4 Biomassa e bioacumulação

No teste agudo foi possível observar que, em relação ao controle, as concentrações Mn3, Mn4 e Mn5 (150, 300 e 600 mg/L) e Fe1 e Fe4 (20 e 67,5 mg/L) causaram redução (p<0.005) na biomassa de D. magna. As concentrações de Mn causaram redução de 50, 44.5 e 61% de biomassa em relação ao controle laboratorial. Já as concentrações de Fe causaram redução de 36 e 50% de biomassa em relação ao controle. Da mesma forma, foram obtidos valores significativos para bioacumulação de Mn nas mesmas concentrações, Mn3, Mn4 e Mn5 (150, 300 e 600 mg/L), enquanto que para o Fe, todas as concentrações de exposição, Fe1, Fe2, Fe3 e Fe4, (20, 30, 45 e 67,5 mg/L) apresentaram valores estatisticamente significativos (p<0,05) de bioacumulação em relação ao controle. Para o Mn a bioacumulação foi proporcional ao aumento da concentração de exposição chegando à média de 18,32 μg/g (representando um aumento de 99,9% ou 6021 vezes em relação ao controle) de Mn nos organismos expostos a 600 mg/L do metal. Já os maiores valores de bioacumulação de Fe nos organismos foram observados na concentração Fe3 e Fe4 (45 e 67,5mg/L), com médias de 11,13 e 10,35 µg/g nos organismos. Estes valores representam aumentos de mais de 98% e de 82 e 67 vezes, respectivamente, em relação ao controle (Figura 6). Tanto para biomassa quanto para bioacumulação a concentração Fe5 não foi analisada devido à mortalidade de 100% dos organismos durante o período do teste.

A exposição crônica ao Mn não causou redução (p>0,05) na biomassa de *D. magna*. Por outro lado, a exposição crônica ao Fe causou redução (p<0,05) de biomassa em todos os três tratamentos, Fe1, Fe2 e Fe3 (1,25; 2,5 e 5 mg/L). As reduções em biomassa causadas pela

exposição crônica ao Fe foram de 22, 25 e 30% em relação ao controle. A exposição crônica à mistura dos metais Mn e Fe causou redução de biomassa (p<0,05) em *D. magna* expostas a seis das onze combinações de misturas testadas. São estas concentrações: Mix1 (3,75 : 0,625), Mix4 (7,5 : 1,25), Mix5 (3,75; 1,875), Mix7 (15 : 2,5), Mix8 (7,5 : 3,75) e Mix12 (45 : 2,5) de Mn e Fe (mg/L) respectivamente. As reduções mais proeminentes ocorreram nas misturas Mix7 (35% de perda de biomassa), Mix 8 (32,5% de perda de biomassa) e Mix 12 (32% de perda de biomassa) referentes as misturas de 0,5 : 0,5 TU, 0,25 : 0,75 TU e 1,5 : 0,5TU de Mn e Fe (Figura 7).

Quanto à bioacumulação do Mn durante a exposição crônica, não se observou diferença (p>0,05) quando este metal foi administrado isoladamente, porém notou-se aumento (p<0,05) em relação ao controle da acumulação deste metal em Mix4 (7,5 : 1,25 mg/L), Mix6 (11,3:0,625 mg/L), Mix7 (15:2,5 mg/L), Mix8 (7,5:3,75 mg/L), Mix9 (22,5:1,25 mg/L), Mix10 (30 : 5 mg/L) e Mix12 (45 : 2,5 mg/L) de Mn e Fe, respectivamente. Todos os aumentos na bioacumulação de Mn foram maiores que 99%, variando de mil a 5 mil vezes mais em relação ao controle de laboratório. Assim, a presença do Fe, até mesmo em baixas concentrações (a partir de 0,625 mg/L), favoreceu a bioacumulação do Mn em concentrações que isoladamente não eram bioacumuladas no organismo D. magna (a partir de 7,5 mg/L). Os organismos chegaram a bioacumular de 0,5 a 3,04 µg/g de Mn. A exposição crônica causou efeito significativo (p<0,05) de bioacumulação em relação ao controle nas concentrações Fe2 (2,5 mg/L) e F3 (5 mg/L), quando testados isoladamente, representando aumento de 82 e 91% na bioacumulação de Fe em relação ao controle (de 2,25 a 7,1 μg/g). Em misturas com o Mn, a bioacumulação foi significativa para Mix4 (7,5 : 1,25 mg/L), Mix5 (3,75 : 1,875 mg/L), Mix7(15 : 2,5 mg/L), Mix8 (7,5 : 3,75 mg/L) e Mix12 (45 : 2,5 mg/L) de Mn e Fe, respectivamente. As porcentagens de bioacumulação de Fe em relação ao controle nestes organismos foram de 77,5; 81; 87,5; 89 e 83%, respectivamente, variando de 4,5 a 9 vezes a quantidade de Fe em relação ao controle. Os organismos biacumularam de 3 a 6 µg/g de Fe nas misturas.

Notou-se que a presença do Mn também estimulou a bioacumulação de Fe, uma vez que a concentração F1 (1,25 mg/L) não bioacumulou significativamente (p<0,05), porém a concentração Mix4 (7,5 : 1,25 mg/L) apresentou valores significativos (p<0,05) para a bioacumulação de Fe. As demais concentrações já apresentavam valores de Fe maiores ou iguais às que bioacumularam significativamente no teste isolado. No entanto, as misturas Mix9 (22,5 : 1,25 mg/L) e Mix10 (30 : 5 mg/L), que apresentavam valores bioacumuláveis de Fe, na presença do Mn não bioacumularam e sim o Mn bioacumulou significativamente,

provavelmente devido às altas doses deste metal. As misturas que causaram bioacumulação significativa de ambos os metais foram Mix4 (7,5 : 1,25 mg/L), Mix7 (15 : 2,5 mg/L), Mix8 (7,5 : 3,75 mg/L) e Mix12 (45 : 2,5 mg/L) (Figura 8, Tabela 3).

#### 4 Discussão

Naturalmente, o ambiente aquático é um compartimento ambiental destino de poluentes, dentre eles os metais (LEMES, 2001). Uma vez que a mineração de ferro produz dois tipos de rejeitos, o argiloso e o arenoso, compostos principalmente por metais, 52% de ferro e 14% de dióxido de silício e 82% de dióxido de silício e 12% de ferro, respectivamente, nota-se o potencial risco de acúmulo destes compostos nas regiões afetadas pelo desastre. Os metais presentes em maiores concentrações no rejeito de minério oriundo das barragens de mineração em Mariana (MG) foram o ferro e o manganês, cujas concentrações nos ambientes aquáticos atingidos pela entrada do rejeito variam pelo percurso do rio Doce até sua foz (HATJE *et al.* 2017).

Dentre os possíveis efeitos dos metais aos organismos aquáticos está a mortalidade causada por concentrações letais. Os primeiros resultados deste trabalho indicam concentrações efetivas para imobilidade de *D. magna* (CE<sub>50;48h</sub>) de 181 mg/L de Mn e 53,6 mg/L de Fe. Na literatura foram encontrados valores de toxicidade variáveis, porém, em geral, maiores para cladóceros expostos ao Mn. Tais valores variaram de 0,053 mg/L para *D. magna* a 26 mg/L para *D. galeata* (KHANGAROT & RAY, 1989; STUBBLEFIELD *et al.*, 1997; LASIER *et al.*, 2000; HOBBS *et al.*, 2006; KHANGAROT & DAS, 2009; TEODOROVIC *et al.*, 2009; CUI *et al.*, 2018). Quanto ao Fe, outros trabalhos encontrados na literatura reportaram valores de toxicidade aguda na mesma magnitude para dafinídeos expostos a este metal, tais como 39 mg/L (valor médio obtido para *D. magna* a partir de outros estudos); 25 mg/L para *D. galeata* e 23,8 mg/L para *D. magna* (BURBA, 2012; CUI *et al.*, 2018). No entanto, é comum encontrar trabalhos que obtiveram maiores valores de toxicidade de ferro para estes cladóceros, variando de 0,3 mg/L a 7,2 mg/L (BIESINGER & CHRISTERSEN 1972; KHANGAROT & RAY, 1989; SANTOS-MEDRANOY&RICO-MARTNEZ, 2015; KUMAR *et al.*, 2020).

A título de comparação, alguns autores quantificaram metais na lama proveniente do rompimento da Barragem do Fundão. Girotto *et al* (2020), por exemplo, encontrou as concentrações de 3320 mg/L de Mn e 29230 mg/L de Fe em solução estoque feita com rejeito diluído em laboratório em proporção realística ao encontrado no local no dia do rompimento

da barragem. Tais concentrações foram 18,5 e 545,3 vezes maiores que as CE<sub>50</sub> encontradas para D. magna neste estudo, o que demonstra que no dia do derramamento de rejeito, muito provavelmente as comunidades foram expostas a Mn e Fe, dentre outros metais, em concentrações altíssimas, até centenas de vezes maiores que as concentrações que causariam morte para 50% da população de D. magna. Além disso, em estudos com águas adjacentes ao rompimento da barragem atingidas pelo rejeito alguns autores quantificaram até 2,6 mg/L de Mn em rejeito diluídos em águas de rios como Gualaxo do Norte e rio Doce (SANTOS, 2021), bem como até 3,2 mg/L de Fe também foram quantificados no rejeito diluído de rios, como no Gualaxo do Norte, rio do Carmo e rio Doce (FROESCH, 2020; SANTANA, 2021; BONECKER,2022). Tendo em vista a composição da fauna zooplanctônica, é importante lembrar que outros organismos pertencentes à fauna aquática apresentam diferentes sensibilidades aos metais testados de forma aguda, tais como os rotíferos Lecane quadridentata (LC<sub>50</sub> Fe: 0,539 mg/L), Brachionus plicatilis (LC<sub>50</sub> Fe: 469,6 mg/L), Brachionus rotundiformis (CL<sub>50</sub> Fe: 363,6 mg/L) e os ostracodas Stenocypris major (CL<sub>50</sub> Fe: 0,279; CL<sub>50</sub> Mn: 0,510mg/L) e *Cypris subglobosa* (CE<sub>50</sub> Fe: 115,2; CE<sub>50</sub> Mn: 11,77mg/L). Dessa forma, nota-se que, tanto para as quantidades de Mn quanto para as quantidades de Fe observadas nos ambientes aquáticos, a comunidade zooplanctônica estaria também em risco, considerando dados de CE50 obtidos na literatura (HOBBS et al., 2006; (KHANGAROT & DAS, 2009; GUZMÁN et al., 2010; SHUHAIMI-OTHMAN et al., 2011; SANTOS-MEDRANOY&RICO-MARTNEZ, 2015; CUI et al., 2018, KUMAR et al., 2020).

Quando em mistura binária, o Mn e o Fe causaram efeitos principalmente antagônicos para *D. magna* com resposta dependente da razão entre as misturas. Efeito semelhante foi encontrado por Park *et al.* (2019) em mistura binária entre o Zn e nanopartículas de Fe (PVP-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs) para *D. magna*. Os autores observaram sinergismo dependente da concentração de Zn e antagonismo em altas concentrações (> 5 mg/L de Zn e >9,6 mg/L de Fe) dependentes do Fe. As possíveis causas levantadas pelos autores para a diminuição da toxicidade da mistura foram o fato do Zn não acumular no intestino e exercer efeito tóxico direto e o Fe possuir esta propriedade de acúmulo, causando toxicidade por efeito indireto de bioacumulação. Assim, em mistura a presença do Fe no trato intestinal da *D. magna* diminuiria o efeito tóxico do Zn além do Fe ter alta capacidade de adsorção para compostos orgânicos. Também foram encontrados estudos que observaram efeitos antagônicos para misturas binárias com Mn e outros metais. Son *et al.*, (2016), por exemplo, observaram que, enquanto as concentrações menores e iguais às CE<sub>50</sub> do Mn e do Cu causaram interações sinérgica para a reprodução de colêmbolos, em concentrações maiores que as CE<sub>50</sub> destes

metais esta relação tornou-se antagônica. Os autores concluíram que possivelmente o Mn e o Cu possuem modo de ação similar. Ainda, Lu *et al.* (2018) encontraram efeito antagônico para a mistura de Mn e Cd em bioensaios agudos com o nematóide *Caenorhabditis elegans* e efeitos aditivos em ensaios subletais com o mesmo organismo ao avaliaram longevidade, estresse oxidativo e neurotoxicidade. Em outro estudo com a mesma mistura binária (Mn+Cd) e também com nematóides os autores observaram efeito antagônico no crescimento, reprodução e alimentação de *C. elegans* (TANG *et al.*, 2019).

A toxicidade de metais ocorre devido a diferentes estabilidades entre os íons e seus sítios de ligação. Estes sítios são determinados principalmente por dois fatores químicos: os valores de índice covalente e valores de índice iônico de metais (NIEBOER & FLETCHER, 1996). Os metais mais tóxicos como Pb, Hg e Cu tendem a apresentar maiores índices covalentes e, portanto, exercem efeitos sinérgicos com maior frequência. Já os metais de menor índice covalente, dentre eles Cd, Mn e Fe, acabam sendo mais influenciados pela combinação com o outro metal da mistura e exercem efeitos de impactos mais variáveis (WAH CHU & CHOW, 2002). Tanto o Mn quanto o Fe são elementos essenciais para o desenvolvimento dos seres vivos, o que torna difícil de estabelecer um padrão de resposta em quais concentrações começam a causar efeitos tóxicos e também em que proporções e com quais outros contaminantes estes efeitos serão atenuados ou potencializados. O Mn é tanto um anti-oxidante quanto um pró-oxidante, sendo que, pode acelerar o crescimento ou aumentar a taxa reprodutiva bem como sua exposição prolongada pode diminuir tamanho corporal, longevidade e tamanho da ninhada (LIN et al., 2006; Xiao et al., 2009) além do que, tanto a deficiência quanto excesso de Mn podem causar disfunções do sistema nervoso central (CHEN et al., 2013). Já o Fe é também um elemento essencial necessário em processos biológicos tais como desenvolvimento e reprodução normais de dafinídeos (KUMAR et al., 2020) dentre outros seres vivos. Em estudo populacional, Kumar et al. (2020), verificaram taxa de crescimento populacional positiva em concentrações de até 4 mg/L de Fe, taxa que passou a ser negativa a partir de uma concentração de 8 mg/L de Fe, demonstrando que este é essencial para o desenvolvimento na mesma proporção que pode se tornar tóxico dependente da concentração. Tais resultados corroboram com presente estudo uma vez que foi observada redução de 72% no número de neonatos de fêmeas expostas a 2,5 mg/L de solução de Fe. Outros autores, ainda observaram redução de neonatos em 61,4% de fêmeas de D. similis expostas a concentração de 50 mg/L (GEBARA et al., 2019).

Em se tratando de respostas subletais, as concentrações de efeitos crônicos obtidas para o Mn e o Fe no presente estudo foram de CE<sub>50</sub> Mn: 91,83 mg/L e de CE<sub>50</sub> Fe: 3,5 mg/L,

respectivamente. Apesar de não terem sido encontradas diferenças estatísticas em relação ao número de neonatos expostos às concentrações de Mn testadas (7,5 a 60 mg/L), outros autores observaram deficiência reprodutiva de 16% em concentrações a partir de 4,1 mg/L de Mn, além de redução de biomassa de *D. magna* em relação ao controle (BIESINGER & CHRISTERSEN 1972). Já com relação à toxicidade crônica das misturas, foram observados efeitos significativos, com redução de 61%, 98% e até 100% no número de neonatos nas misturas Mix8, Mix10 e Mix11. As misturas Mix1, Mix2, Mix3 e Mix4 aparentemente tiveram seu número de neonatos aumentado em relação ao controle, tal fato pode ser devido ao efeito hormese ou, mais provavelmente, pode evidenciar a possível relação antagônica dos contaminantes em baixas doses. Ainda, tal aumento na média de número de neonatos pode ser atribuído a uma estratégia de desintoxicação do cladócero, uma vez que a redução da assimilação de metais em Cladocera pode ocorrer por excreção, muda e até mesmo por transferência da mãe para o neonato (TSUI & WANG 2007). Miao *et al.* (2012), por exemplo, verificaram transferência de 30% do metal para os neonatos de *D. magna*, o que foi bem maior do que a observada por excreção e ecdises.

Outro endpoint observado neste trabalho foi o atraso reprodutivo. Neste caso, o Mn apresentou diferença estatística significativa na concentração igual a 60 mg/L e o Fe na concentração de 2,5 mg/L. Tendo em vista que foram quantificadas concentrações de até 3,25 mg/L de Fe em águas superficiais do rio Doce e do rio Gualaxo do norte atingidos pelo rejeito proveniente da barragem rompida (FROESH et al., 2020; BONECKER et al., 2022) concluise que os dafinídeos destes locais estão sujeitos à alterações reprodutivas devido a exposição em concentrações efetivas a 50% da população (CE<sub>50</sub>) de Fe tanto em relação ao número de neonatos (com redução provável de mais de 70%) quanto em atraso reprodutivo (provável de 5 dias, segundo este trabalho). Das misturas que também apresentaram este efeito de atraso reprodutivo é interessante ressaltar que as misturas Mix1, Mix5 e Mix9 causaram atraso na primeira reprodução de D. magna em concentrações que os metais em isolado não apresentaram tal efeito, inclusive em baixas concentrações (Mix1 e Mix5), evidenciando uma possível interação com efeito sinérgico entre estes metais. Tal fato também foi observado por Godet et al., (1995) na formação de micronúcleos induzida pelos componentes metálicos de efluentes ricos em metais em anfíbios, sendo observado que o Fe e Cr combinados apresentaram maior efeito genotóxico mesmo em concentrações que não apresentavam efeitos quando testados isoladamente.

Apesar de sua importância, uma vez que neste trabalho o atraso reprodutivo foi relevante na resposta aos contaminantes, não são encontrados muitos estudos com este

endpoint. No entanto, outros efeitos subletais observados por autores causados pela exposição de organismos diversos aos contaminantes são, a seguir, evidenciados tais como: a) inibição de 12,71% no crescimento corporal de *C. silvestrii*, além da diminuição de 51,99% no número acumulado de ovos por fêmea quando expostas a concentração de 50 mg/L de Fe (GEBARA et al., 2019); b) formação de micronúcleos em células vermelhas do sangue de anfíbios sendo que, neste estudo, foi possível observar que o Fe induziu maior nível de formação dos micronúcleos até mesmo em relação ao Cr e ao Zn (GODET et al., 1995), c) efeitos aditivos na longevidade, estresse oxidativo e neurotoxicidade, além de anormalidades em neurônios dopaminérgicos de forma dependente da concentração em nematóides expostos a misturas de Mn e Pb e Mn e Cd (LU et al., 2018; Tang et al., 2019).

No presente estudo também se observou perda significativa de biomassa dos organismos expostos aos metais Mn, Fe e suas misturas. Durante exposição aguda, as concentrações de 150, 300 e 600 mg/L de Mn causaram perda significativa de massa de 50%, 44,5% e 61%, enquanto que os testes crônicos não causaram alterações na biomassa para as concentrações testadas de Mn. Já para o Fe em exposição aguda as concentrações de 20 e 67,5 mg/L causaram perda significativa de massa de 36% e 50%, enquanto em exposição crônica as concentrações de 1,25; 2,5 e 5 mg/L causaram perda significativa de biomassa de 22%, 25% e 30%. Nota-se que as duas primeiras concentrações testadas são valores abaixo do quantificado em campo (3,25 mg/L de Fe) por autores já mencionados anteriormente (FROESCH, 2020; BONECKER, 2022). Portanto, ressalta-se que, mais uma vez, em águas superficiais do rio Doce e em locais amostrados do rio Gualaxo do Norte provavelmente a população de dafinídeos estão sujeitas a perda de aproximadamente 25% em biomassa. As misturas dos dois metais também causaram reduções significativas nas biomassas, sendo que as maiores perdas foram de aproximadamente de 30%. A perda de biomassa associada à contaminação por metais já foi observada em experimentos com D. magna anteriormente e também em bioensaios com peixes (D. rerio) expostos a concentrações de Zn (MEMMERT, 1987). Tendo em vista o discutido anteriormente sobre o acúmulo do Fe no trato digestivo dos organismos, provavelmente um dos fatores causadores da redução em biomassa é justamente o impedimento físico causado por este acúmulo que impede a nutrição adequada durante o desenvolvimento do organismo. Outro possível fator é a alocação de energia uma vez que, sob condições de estresse, alguns organismos, tais como os cladóceros, tendem a realocar energia do crescimento corporal para reprodução já que esta tática garante a manutenção da espécie (GUAN & WANG, 2006; SALES et al., 2016).

Por fim, uma das características inerente aos metais é a sua não-degradabilidade, que os torna passíveis de acumulação nos ambientes e assimilação nos organismos expostos a estes contaminantes (MERCIAI et al. 2015), podendo ser bioacumulados e biomagnificados na cadeia trófica. Muitos estudos já identificaram metais bioacumulados em organismos aquáticos (MUYSSEN & JANSSEN 2002; MIAO et al., 2012; MEMMERT, 1987; RIBEIRO et al., 2017; ARAUJO et al., 2019) inclusive o Mn e o Fe (SEYMORE et al 1995; NORWOOD et al., 2006; KASYAN, 2007; HU et al., 2012; OBERHOLSTER 2012; ALMEIDA et al., 2015; WENG et al, 2021). Apesar de serem metais essenciais, tanto o Mn quanto o Fe são passíveis de bioacumulação em todos os níveis tróficos, além de causarem efeitos nocivos ao indivíduo e consequentemente à população ou comunidade na qual está inserido. Almeida et al (2015), por exemplo, verificaram bioacumulação de Fe em micelium de fungos (*Pleurotus ostreatus*) expostos a concentração de 150 mg/L deste metal, enquanto concentrações acima de 175mg/L inibiram totalmente o seu crescimento. Oberholster et al (2012) quantificaram Al e Fe em altas concentrações em algas, macroinvertebrados e em peixes de água doce em lagos Sul-africanos. Kasyan et al (2017), quantificaram Cu, Zn, Cd, Mn e Fe em zooplâncton de áreas de lançamentos de esgoto na Baía de Amursky (Japão), sendo que, destes, os obtidos em maiores quantidades foram Fe, Zn e Mn. Os autores Seymore et al (1995) também verificaram acúmulo de Mn e Fe, além de Sr em ossos e brânquias de peixes (Barbus marequensis) do baixo rio Olifants (Cabo Ocidental, África). A bioacumulação de metais pode causar má formação da carapaça, alteração de cor, formação de grânulos dorsais, estímulo de surgimento de ovos de dormência, produção de ovos não viáveis e mudança de cor nos ovos de dafinídeos (ARAUJO et al., 2019), além de estimular a expressão de biomarcadores de estresse oxidativo nos mais diversos organismos (HAM et al., 2020; MARQUES et al., 2022).

Neste estudo, observou-se o potencial de bioacumulação de Mn e Fe em *D. magna*, tanto em exposição aguda quanto crônica. Os indivíduos de *D. magna* expostos de forma aguda a partir de 150mg/L de solução de Mn, apresentaram bioacumulação de até 18,32 μg/g (em 600 mg/L). Tal concentração obtida corrobora com concentrações mensuradas por Costa *et al.* (2022) de 26,96 μg/g de Mn em zooplâncton de água doce amostrados na bacia do rio Doce no estado do Espírito Santo após o rompimento da barragem. Os mesmos autores também quantificaram 5,8 μg/g de Mn em zooplâncton marinho da foz do rio Doce. O Mn na água pode ser significativamente bioacumulado em organismos de baixos níveis tróficos como plâncton, plantas aquáticas e alguns peixes (USEPA, 1984). Apesar de não ter sido identificado acúmulo significativo de Mn em bioensaios crônicos, quando em mistura com o

Fe, a espécie D. magna acumulou quantidades altíssimas de Mn, chegando a 99% de aumento em relação ao controle em 7 das 11 misturas (acúmulo de 0,5 a 3,04 μg/g de Mn). Nota-se, por este resultado, que a presença do Fe, até mesmo nas menores concentrações (a partir de 0,625 mg/L), favoreceu a bioacumulação do Mn em concentrações que, isoladamente, não eram acumuladas em D. magna (a partir de 7,5 mg/L). Um importante aspecto do Mn é seu potencial de interação com outros metais (LU et al., 2018), o que foi observado nesta alteração no acúmulo de Mn nos organismos quando em mistura binária com o Fe. No entanto, o excesso de Mn pode ser nocivo de diversas formas a fauna aquática. A bioacumulação de Mn em bivalves marinhos afeta o sistema reprodutivo tanto em machos quanto em fêmeas, pois se depositam em grânulos corticais dos oocitos de fêmeas e em núcleos espermáticos de machos (WENG et al. 2021). Em caranguejos uma dieta com excesso de Mn evidencia a natureza essencial e tóxica deste metal uma vez que, em baixas quantidades (até 38 mg/kg), ele estimula o crescimento corporal e ganho de biomassa destes organismos, no entanto, em concentrações mais elevadas (acima de 53 mg/kg), acumulam nos músculos, carapaça e no sistema hepatopâncreas além de estimular resposta de genes antioxidantes (HU et al., 2021).

Em relação ao Fe, no presente estudo, verificou-se acúmulo significativo em D. magna exposta de forma aguda em concentrações a partir de 20mg/L de solução, acumulando aproximadamente 11 µg/g (45 mg/L a 67,5 mg/L). No zooplâncton da bacia do rio Doce, Costa et al (2022) quantificaram até 177,3 µg/g de Fe em organismos de água doce e até 203,2 µg/g em organismos marinhos de ambientes afetados pelo rejeito preveni ente da barragem rompida. Em exposição crônica, o Fe acumulou em D. magna a partir de 2,5 mg/L de solução de exposição com acúmulo de 82% até 91% (5 mg/L) em relação ao controle, acumulando de 2,25 a 7,1 μg/g de Fe. Mais uma vez, nota-se que esta concentração testada é inferior ao obtido em campo, de 3,2 mg/L (FROESCH, 2020; BONECKER, 2022) e, portanto, os dafinídeos presentes no local provavelmente foram sujeitos a cenários que permitia acumular quantidades prováveis de 2,25 µg/g de Fe. Já em mistura com o Mn, 5 das 11 combinações causaram acúmulo de Fe nos organismos sendo que, em relação ao controle, estes aumentos foram de 77,5%, 81%, 87,5%, 89% e 83%, variando de 4,5 a 9 vezes a quantidade de Fe, acumulando de 3 a 6 µg/g de Fe. Ressalta-se, aqui, a interação entre estes metais, uma vez que a presença do Mn também estimulou a bioacumulação de Fe já que, isoladamente, a concentração de 1,25 mg/L de Fe não bioacumulava, no entanto, esta mesma concentração, quando em mistura com 7,5 mg/L de Mn (Mix4), causou o acúmulo significativo de 2,9 μg/g de Fe. Em contrapartida, também houve uma mistura de 5 mg/L de Fe (acumulado isoladamente) com 30 mg/L de Mn (Mix10) em que foi identificado acúmulo significativo de Mn, porém não de Fe. O Fe em excesso acumula nos núcleos celulares e promovem condições oxidativas que podem causar danos ao DNA (MENEGHINI, 1997; EMERIT *et al.*, 2001). Além disso, a presença de Fe pode ser extremamente tóxico especialmente por promover, no ambiente, a reação de fenton (oxidação de FeII para FeIII), liberando íons hidroxila (BURY & GROSELL, 2003) e uma vez em ambientes aquáticos provocam mudanças na disponibilidade, na concentração ou no aumento de toxicidade de outros elementos, como outros metais (JEYASINGH & PULKKINEN, 2019; GEBARA, 2019) como o Mn, aumentando o risco de contaminação. Além disso, no ambiente, a contaminação por Mn é frequentemente acompanhada por outros metais tais como Pb, Cd, Zn, Cu, Fe, etc (LI & YANG, 2008).

Tendo em vista todo o contexto do "desastre ambiental de Mariana" e as altas concentrações de metais quantificadas tanto no rejeito proveniente da barragem rompida (COUTO et al., 2021; FERREIRA et al., 2021; de PÁDUA et al., 2021) quanto nas águas adjacentes que receberam diretamente grandes quantidades deste material (COUTO et al., 2021; SANTOS et al., 2021; BONECKER et al., 2022; COSTA et al., 2022) nota-se que, de fato, a mistura de vários metais potencialmente tóxicos ocorrem no ambiente pós-desastre, que esta mistura contém altas quantidades de Mn e Fe que interagem entre si e com outros metais causando efeitos tóxicos a nível agudo e crônico em diversos organismos. No que diz respeito a este trabalho, conclui-se que tanto isoladamente quanto em misturas binárias o Mn e o Fe apresentam efeitos agudos e/ou crônicos para D. magna sendo que sua interação se dá principalmente de forma antagônica para este cladócero, porém, ainda assim, nota-se alterações reprodutivas quanto ao número de neonatos e início da reprodução, além da perda de biomassa e acúmulo dos metais causadas pelas concentrações de Mn e Fe, isolados e em misturas. Para um dos metais (Fe) tais constatações ainda são observadas em concentrações abaixo do que foi quantificado em ambientes aquáticos atingidos pelo rejeito.

Os cladóceros são organismos consumidores primários e fazem parte da comunidade zooplanctônica, base da cadeia trófica de ambientes de água doce. Alterações morfológicas (que causam perda de biomassa), reprodutivas (número de neonatos e atraso reprodutivo) e o acúmulo de metais nos organismos deste estrato trófico não só afetam estes organismos, com suas funções ecossistêmicas, como desencadeiam alterações nocivas a todo ecossistema, tais como: deficiência nutritiva a organismos consumidores secundários, exclusão de espécies mais sensíveis e bioacumulação e biomagnificação de metais na cadeia trófica. Portanto, a

mistura dos metais Mn e Fe é nociva a toda estrutura trófica do ecossistema atingido pelo rejeito proveniente do rompimento da Barragem do Fundão em Mariana (MG).

#### 5 Conclusões

Neste estudo conclui-se que, apesar de serem metais essenciais ao desenvolvimento de uma variedade de seres vivos, o Mn e o Fe são tóxicos em concentrações elevadas, sendo que nas concentrações de 180,959 mg/L de Mn e 53,629 mg/L de Fe causam morte de 50% da população de D. magna e nas concentrações de 91.83mg/L de Mn e 3,5 mg/L de Fe causam efeitos subletais, incluindo a redução no número de neonatos, atraso reprodutivo, diminuição na biomassa e acúmulo dos metais nos organismos. Além disso, a interação entre os dois ocorre de forma predominantemente antagônica para D. magna e dependente da proporção de mistura, sendo principalmente influenciada pelas concentrações mais elevadas de Fe, o metal mais tóxico dentre os dois. Embora a mistura de Mn e Fe tenha causado atraso reprodutivo em organismos expostos em concentrações que, quando testadas isoladamente, não causavam tal efeito, assim como a presença do Fe, até mesmo em baixas concentrações, favoreceu o acúmulo de Mn. Este estudo se baseou no cenário real do desastre ambiental de Mariana, MG, cujo derramamento de rejeito inseriu grandes quantidades de metais nos ecossistemas aquáticos adjacentes, dentre eles o Mn e o Fe que foram identificados em maiores concentrações. Nota-se que muitos efeitos causados à D. magna, como redução de até 73% em número de neonatos, atraso reprodutivo de até 5 dias, redução em 25% de biomassa e acúmulo de 82% de Fe nos organismos em relação ao controle (2,25 µg/g), ocorreram por exposição ao Fe em concentrações menores as concentrações quantificadas em ecossistemas aquáticos após o incidente. O Mn se mostrou menos tóxico que o Fe neste estudo, no entanto, em mistura binária também causou efeitos na biomassa e acúmulo deste metal nos organismos. Assim, a mistura dos metais Mn e Fe se mostrou nociva ao cladócero D. magna, ressaltando o potencial tóxico do rejeito proveniente do rompimento da Barragem do Fundão, em Mariana (MG).

#### Referências

ALMEIDA, S. M.; UMEO, S.H.; MARCANTE, R. C. YOKOTA, M. E.; VALLE. J. S. DRAGUNSKI, D. C.; COLAUTO, N. B. LINDE, G. A. Iron bioaccumulation in mycelium of Pleurotus ostreatus. Brazilian Journal of Microbiology. 46 (1), 2015.

- ARAUJO, G. S.; PAVLAKI, M. D.; SOARES, A. M. V. M.; ABESSA, D. M. S.; LOUREIRO, S. Bioaccumulation and morphological traits in a multi-generation test with two Daphnia species exposed to lead. Chemosphere, [S. 1.], v. 219, p. 636–644, 2019. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2018.12.049.
- BIESINGER, Kenneth E.; CHRISTENSEN, Glenn M. Effects of Various Metals on Survival, Growth, Reproduction, and Metabolism of Daphnia magna. https://doi.org/10.1139/f72-269, [S. 1.], v. 29, n. 12, p. 1691–1700, 2011. DOI: 10.1139/F72-269. Disponível em: https://cdnsciencepub.com/doi/abs/10.1139/f72-269. Acesso em: 31 mar. 2022.
- BLISS, C. I. THE TOXICITY OF POISONS APPLIED JOINTLY1. Annals of Applied Biology, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 585–615, 1939. DOI: 10.1111/J.1744-7348.1939.TB06990.X. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1744-7348.1939.tb06990.x. Acesso em: 31 mar. 2022.
- BONECKER, Ana Cristina Teixeira *et al.* An integrated study of the plankton community after four years of Fundão dam disaster. Science of the Total Environment, [S. 1.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150613.
- BURBA, Aloyzas. The *design* of an experimental system of estimation methods for effects of heavy metals and their mixtures on daphnia magna. Acta Zoologica Lituanica, [S. 1.], v. 9, n. 2, p. 21–29, 1999. DOI: 10.1080/13921657.1999.10512283.
- BURY, Nicolas R.; GROSELL, Martin. Waterborne iron acquisition by a freshwater teleost fish, zebrafish Danio rerio. Journal of Experimental Biology, [S. 1.], v. 206, n. 19, p. 3529–3535, 2003. DOI: 10.1242/JEB.00584. Disponível em: https://journals.biologists.com/jeb/article/206/19/3529/14007/Waterborne-iron-acquisition-by-a-freshwater. Acesso em: 31 mar. 2022.
- CASSEE, Flemming R.; GROTEN, John P.; VAN BLADEREN, Peter J.; FERON, Victor J. Toxicological Evaluation and Risk Assessment of Chemical Mixtures. http://dx.doi.org/10.1080/10408449891344164, [S. 1.], v. 28, n. 1, p. 73–101, 2008. DOI: 10.1080/10408449891344164. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408449891344164. Acesso em: 31 mar. 2022.
- CASTELHANO GEBARA, R.; Souza, Jaqueline, P; Mansano, Adrislaine S. Sarmento, Hugo; MELÃO Maria G. Effects of iron oxide nanoparticles (Fe3O4) on life history and metabolism of the Neotropical cladoceran Ceriodaphnia silvestrii. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 186, 2019.
- CERSOSIMO, Maria G.; KOLLER, William C. The diagnosis of manganese-induced parkinsonism. NeuroToxicology, [S. 1.], v. 27, n. 3, p. 340–346, 2006. DOI: 10.1016/J.NEURO.2005.10.006.
- CHEN, Pan; CULBRETH, Megan; ASCHNER, Michael. Exposure, epidemiology, and mechanism of the environmental toxicant manganese. Environmental Science and Pollution Research 2016 23:14, [S. l.], v. 23, n. 14, p. 13802–13810, 2016. DOI: 10.1007/S11356-016-6687-0. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-016-6687-0. Acesso em: 31 mar. 2022.
- CIMINELLI, Virgínia S. T. GOMES, Áurea, D. Princípios dacianetação. Extração de ouro: Princípios, Tecnologia e Meio Ambiente. C. 3 p. 59 94. 2002.Disponível em: mineralis.cetem.gov.br. Acesso em: 31 mar. 2022.
- COSTA, Patrícia Gomes; MARUBE, Liziane Cardoso; ARTIFON, Vanda; ESCARRONE, Ana Laura; HERNANDES, Juliana Carriconde; ZEBRAL, Yuri Dornelles; BIANCHINI, Adalto. Temporal and spatial variations in metals and arsenic contamination in water, sediment and biota of freshwater,

marine and coastal environments after the Fundão dam failure. Science of the Total Environment, [S. 1.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151340.

COUTO, Fernanda Resende; FERREIRA, Angela de Mello; PONTES, Patrícia Procópio; MARQUES, Andréa Rodrigues. Physical, chemical and microbiological characterization of the soils contaminated by iron ore tailing mud after Fundão Dam disaster in Brazil. Applied Soil Ecology, [S. 1.], v. 158, n. April 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103811.

CUI, Rongxue; KWAK, Jin II; AN, Youn Joo. Comparative study of the sensitivity of Daphnia galeata and Daphnia magna to heavy metals. Ecotoxicology and Environmental Safety, [S. 1.], v. 162, n. June, p. 63–70, 2018. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.06.054. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.054.

DE PÁDUA, Maxwell Ptereira; CAETANO, Alessander Lopes; POLO, Marcelo; PASQUAL, Moacir; PEREIRA, Fabricio José. Ecophysiological Responses of Copaifera langsdorffii Grown in Mining Tailings Under Lower Water Availability. Water, Air, and Soil Pollution, [S. 1.], v. 232, n. 2, 2021. DOI: 10.1007/s11270-021-05037-y.

DE SALES, Suellen Cristina Moreira; RIETZLER, Arnola C.; RIBEIRO, Marcela M. Arsenic toxicity to cladocerans isolated and associated with iron: Implications for aquatic environments. Anais da Academia Brasileira de Ciencias, [S. 1.], v. 88, p. 539–548, 2016. DOI: 10.1590/0001-3765201620140670.

EMERIT, J.; BEAUMONT, C.; TRIVIN, F. Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. Biomedicine & Pharmacotherapy, [S. 1.], v. 55, n. 6, p. 333–339, 2001. DOI: 10.1016/S0753-3322(01)00068-3.

FERREIRA, Amanda D.; QUEIROZ, Hermano M.; KANEAGAE, Maira P.; NÓBREGA, Gabriel N.; OTERO, Xosé L.; BERNARDINO, Ângelo F.; FERREIRA, Tiago O. Gypsum amendment induced rapid pyritization in fe-rich mine tailings from doce river estuary after the Fundão dam collapse. Minerals, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 1–13, 2021. a. DOI: 10.3390/min11020201.

FERREIRA, Frederico Fernandes; DE FREITAS, Mariella Bontempo Duca; SZINWELSKI, Neucir; VICENTE, Natállia; MEDEIROS, Laila Carine Campos; SCHAEFER, Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud; DERGAM, Jorge Abdala; SPERBER, Carlos Frankl. Impacts of the Samarco Tailing Dam Collapse on Metals and Arsenic Concentration in Freshwater Fish Muscle from Doce River, Southeastern Brazil. Integrated Environmental Assessment and Management, [S. 1.], v. 16, n. 5, p. 622–630, 2020. a. DOI: 10.1002/ieam.4289.

FERREIRA, Frederico Fernandes; DE FREITAS, Mariella Bontempo Duca; SZINWELSKI, Neucir; VICENTE, Natállia; MEDEIROS, Laila Carine Campos; SCHAEFER, Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud; DERGAM, Jorge Abdala; SPERBER, Carlos Frankl. Impacts of the Samarco Tailing Dam Collapse on Metals and Arsenic Concentration in Freshwater Fish Muscle from Doce River, Southeastern Brazil. Integrated Environmental Assessment and Management, [S. 1.], v. 16, n. 5, p. 622–630, 2020. b. DOI: 10.1002/ieam.4289. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1002/ieam.4289.

FERREIRA, Gabriel W. D.; RIBEIRO, Bruno T.; WEINDORF, David C.; TEIXEIRA, Barbara I.; CHAKRABORTY, Somsubhra; LI, Bin; GUILHERME, Luiz Roberto G.; SCOLFORO, José Roberto S. Assessment of iron-rich tailings via portable X-ray fluorescence spectrometry: the Mariana dam disaster, southeast Brazil. Environmental Monitoring and Assessment, [S. 1.], v. 193, n. 4, p. 1–19, 2021. b. DOI: 10.1007/s10661-021-08982-7. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10661-021-08982-7.

- FOESCH, Meri Diana Strauss; FRANCELINO, Marcio Rocha; ROCHA, Pablo Azevedo; GOMES, Adalberto Rodrigues Lira. River water contamination resulting from the Mariana disaster, Brazil. Floresta e Ambiente, [S. l.], v. 27, n. 4, p. 1–10, 2020. DOI: 10.1590/2179-8087.013218.
- FREITAS, Emanuela Cristina; PINHEIRO, Carlos; ROCHA, Odete; LOUREIRO, Susana. Can mixtures of cyanotoxins represent a risk to the zooplankton? The case study of Daphnia magna Straus exposed to hepatotoxic and neurotoxic cyanobacterial extracts. Harmful Algae, [S. 1.], v. 31, p. 143–152, 2014. DOI: 10.1016/J.HAL.2013.11.004.
- FUNGARO, Denise Alves; IZIDORO, Juliana De Carvalho. Remediação de drenagem ácida de mina usando zeólitas sintetizadas a partir de cinzas leves de carvão. Química Nova, [S. 1.], v. 29, n. 4, p. 735–740, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000400019. Disponível em: http://www.scielo.br/j/qn/a/Fs6456qt5DvCkP9gtFTMtqG/?lang=pt. Acesso em: 31 mar. 2022.
- GARNIER, J.; QUANTIN, C.; MARTINS, E. S.; BECQUER, T. Solid speciation and availability of chromium in ultramafic soils from Niquelândia, Brazil. Journal of Geochemical Exploration, [S. l.], v. 88, n. 1–3, p. 206–209, 2006. DOI: 10.1016/J.GEXPLO.2005.08.040.
- GIROTTO, Laís; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta; GEBARA, Renan Castelhano; FREITAS, Juliane Silberschmidt. Acute and Chronic Effects on Tadpoles (Lithobates catesbeianus) Exposed to Mining Tailings from the Dam Rupture in Mariana, MG (Brazil). Water, Air, and Soil Pollution, [S. 1.], v. 231, n. 7, 2020. DOI: 10.1007/s11270-020-04691-y.
- GODET, Fabrice; BABUT, Marc; BURNEL, Daniel; VEBER, Anne Marie; VASSEUR, Paule. The genotoxicity of iron and chromium in electroplating effluents. Mutation Research Genetic Toxicology, [S. 1.], v. 370, n. 1, p. 19–28, 1996. DOI: 10.1016/S0165-1218(96)90123-8.
- GUAN, Rui; WANG, Wen Xiong. Comparison between two clones of Daphnia magna: Effects of multigenerational cadmium exposure on toxicity, individual fitness, and biokinetics. Aquatic Toxicology, [S. l.], v. 76, n. 3–4, p. 217–229, 2006. DOI: 10.1016/J.AQUATOX.2005.10.003.
- HARFORD, Andrew J.; MOONEY, Thomas J.; TRENFIELD, Melanie A.; VAN DAM, Rick A. Manganese toxicity to tropical freshwater species in low hardness water. Environmental Toxicology and Chemistry, [S. 1.], v. 34, n. 12, p. 2856–2863, 2015. DOI: 10.1002/ETC.3135. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.3135. Acesso em: 31 mar. 2022.
- HATJE, Vanessa; PEDREIRA, Rodrigo M. A.; DE REZENDE, Carlos Eduardo; SCHETTINI, Carlos Augusto França; DE SOUZA, Gabriel Cotrim; MARIN, Danieli Canaver; HACKSPACHER, Peter Christian. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. Scientific Reports, [S. 1.], v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-11143-x.
- HOBBS, Melissa S.; GRIPPO, Richard S.; FARRIS, Jerry L.; GRIFFIN, Billy R.; HARDING, Lora L. Comparative acute toxicity of potassium permanganate to nontarget aquatic organisms. Environmental Toxicology and Chemistry, [S. 1.], v. 25, n. 11, p. 3046–3052, 2006. DOI: 10.1897/05-453R2.1.
- HOFF, Dale; LEHMANN, Wade; PEASE, Anita; RAIMONDO, Sandy; RUSSOM, Chris; STEEGER, Tom. Predicting the Toxicities of Chemicals to Aquatic Animal Species. [S. 1.], 2010.
- HU, Ji; WANG, Demin; WANG, Jianmin; WANG, Jiangtao. Bioaccumulation of Fe 2O 3(magnetic) nanoparticles in Ceriodaphnia dubia. Environmental Pollution, [S. l.], v. 162, p. 216–222, 2012. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.11.016.
- IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Laudo técnico preliminar do rompimento da barragem de mariana Direito

- Ambiental. 2015. Disponível em: https://www.passeidireto.com/arquivo/21124833/laudo-tecnico-preliminar-do-rompimento-da-barragem-de-mariana. Acesso em: 31 mar. 2022.
- ISLAM, Md Saiful; AHMED, Md Kawser; RAKNUZZAMAN, Mohammad; HABIBULLAH -AL-MAMUN, Md; ISLAM, Muhammad Kamrul. Heavy metal pollution in surface water and sediment: A preliminary assessment of an urban river in a developing country. Ecological Indicators, [S. 1.], v. 48, p. 282–291, 2015. DOI: 10.1016/J.ECOLIND.2014.08.016.
- JEYASINGH, Punidan D.; PULKKINEN, Katja. Does differential iron supply to algae affect Daphnia life history? An ionome-wide study. Oecologia 2019 191:1, [S. 1.], v. 191, n. 1, p. 51–60, 2019. DOI: 10.1007/S00442-019-04482-1. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00442-019-04482-1. Acesso em: 31 mar. 2022.
- JONKER, Martus J.; SVENDSEN, Claus; BEDAUX, Jacques J. M.; BONGERS, Marina; KAMMENGA, Jan E. Significance testing of synergistic/antagonistic, dose level-dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture dose-response analysis. Environmental Toxicology and Chemistry, [S. 1.], v. 24, n. 10, p. 2701–2713, 2005. DOI: 10.1897/04-431R.1.
- KASYAN, V. V. Bioaccumulation of heavy metal in zooplankton (Copepoda) from the Amursky Bay, Japan/East Sea | Health & Environmental Research Online (HERO) | US EPA. [S. 1.], 2007. Disponível em: https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference\_id/162680. Acesso em: 31 mar. 2022.
- KHANGAROT, B. S.; RAY, P. K. Investigation of correlation between physicochemical properties of metals and their toxicity to the water flea Daphnia magna Straus. Ecotoxicology and Environmental Safety, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 109–120, 1989. DOI: 10.1016/0147-6513(89)90071-7.
- KLÜTTGEN, B.; DÜLMER, U.; ENGELS, M.; RATTE, H. T. ADaM, an artificial freshwater for the culture of zooplankton. Water Research, [S. 1.], v. 28, n. 3, p. 743–746, 1994. DOI: 10.1016/0043-1354(94)90157-0.
- KUMAR, Kanchan; TIWARI, V. K.; DUBE, Kiran; PRAKASH, Chandra; RANI, A. M. Babitha; VERMA, A. K. Effect of Sub-Lethal Concentration of Iron on Growth and Survival of Daphnia (Müller, 1785). Fishery Technology, [S. 1.], v. 57, p. 36–40, 2020.
- LASIER, P. J.; WINGER, P. V.; BOGENRIEDER, K. J. Toxicity of manganese to Ceriodaphnia dubia and Hyalella azteca. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, [S. l.], v. 38, n. 3, p. 298–304, 2000. DOI: 10.1007/s002449910039.
- LI, M. S.; YANG, S. X. Heavy Metal Contamination in Soils and Phytoaccumulation in a Manganese Mine Wasteland, South China: https://doi.org/10.4137/ASWR.S2041, [S. 1.], v. 1, p. 31–41, 2008. DOI: 10.4137/ASWR.S2041. Disponível em: https://journals.sagepub.com/doi/10.4137/ASWR.S2041. Acesso em: 31 mar. 2022.
- LI, M. S.; YANG, S. X. Heavy Metal Contamination in Soils and Phytoaccumulation in a Manganese Mine Wasteland, South China: https://doi.org/10.4137/ASWR.S2041, [S. 1.], v. 1, p. 31–41, 2008. DOI: 10.4137/ASWR.S2041. Disponível em: https://journals.sagepub.com/doi/10.4137/ASWR.S2041. Acesso em: 31 mar. 2022.
- LIN, Yi Ting; HOANG, Hanh; HSIEH, Scott I.; RANGEL, Natalie; FOSTER, Amanda L.; SAMPAYO, James N.; LITHGOW, Gordon J.; SRINIVASAN, Chandra. Manganous ion supplementation accelerates wild type development, enhances stress resistance, and rescues the life span of a short–lived Caenorhabditis elegans mutant. Free Radical Biology and Medicine, [S. 1.], v. 40, n. 7, p. 1185–1193, 2006. DOI: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2005.11.007.

- LOEWE, S.; MUISCHNEK, H. Über Kombinationswirkungen Mitteilung: Hilfsmittel der Fragestellung. Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie, [S. 1.], v. 114, n. 5–6, p. 313–326, 1926. DOI: 10.1007/BF01952257.
- LOUREIRO, Susana; SVENDSEN, Claus; FERREIRA, Abel L. G.; PINHEIRO, Clara; RIBEIRO, Fabianne; SOARES, Amadeu M. V. M. Toxicity of three binary mixtures to Daphnia magna: Comparing chemical modes of action and deviations from conceptual models. Environmental Toxicology and Chemistry, [S. 1.], v. 29, n. 8, p. 1716–1726, 2010. DOI: 10.1002/ETC.198. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.198. Acesso em: 31 mar. 2022.
- LU, Cailing; SVOBODA, Kurt R.; LENZ, Kade A.; PATTISON, Claire; MA, Hongbo. Toxicity interactions between manganese (Mn) and lead (Pb) or cadmium (Cd) in a model organism the nematode C. elegans. Environmental Science and Pollution Research, [S. 1.], v. 25, n. 16, p. 15378–15389, 2018. DOI: 10.1007/s11356-018-1752-5.
- MARQUES, Joseane A. *et al.* Biochemical response and metals bioaccumulation in planktonic communities from marine areas impacted by the Fundão mine dam rupture (southeast Brazil). Science of the Total Environment, [S. 1.], v. 806, 2022. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150727.
- MEMMERT, Ulrich. Bioaccumulation of zinc in two freshwater organisms (Daphnia magna, crustacea and Brachydanio, rerio, pisces). Water Research, [S. 1.], v. 21, n. 1, p. 99–106, 1987. DOI: 10.1016/0043-1354(87)90104-7.
- MENEGHINI, Rogerio. Iron Homeostasis, Oxidative Stress, and DNA Damage. Free Radical Biology and Medicine, [S. l.], v. 23, n. 5, p. 783–792, 1997. DOI: 10.1016/S0891-5849(97)00016-6.
- MERCIAI, Roberto; RODRÍGUEZ-PRIETO, Conxi; TORRES, Jordi; CASADEVALL, Margarida. Bioaccumulation of mercury and other trace elements in bottom-dwelling omnivorous fishes: The case of Diplodus sargus (L.) (Osteichthyes: Sparidae). Marine Pollution Bulletin, [S. 1.], v. 136, p. 10–21, 2018. DOI: 10.1016/J.MARPOLBUL.2018.08.061.
- MIAO, Ai Jun; WANG, Ning Xin; YANG, Liu Yan; WANG, Wen Xiong. Accumulation kinetics of arsenic in Daphnia magna under different phosphorus and food density regimes. Environmental toxicology and chemistry, [S. 1.], v. 31, n. 6, p. 1283–1291, 2012. DOI: 10.1002/ETC.1822. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22488569/. Acesso em: 31 mar. 2022.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE RESOLUÇÃO CONAMA No 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. Disponível em: http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO\_CONAMA\_n\_357.pd
- MORLEY, N. J. Interactive effects of infectious diseases and pollution in aquatic molluscs. Aquatic Toxicology, [S. l.], v. 96, n. 1, p. 27–36, 2010. DOI: 10.1016/J.AQUATOX.2009.09.017.
- MUYSSEN, B. T. A.; JANSSEN, C. R. Accumulation and Regulation of Zinc in Daphnia magna: Links with Homeostasis and Toxicity. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 2002 43:4, [S. 1.], v. 43, n. 4, p. 0492–0496, 2002. DOI: 10.1007/S00244-002-1245-9. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00244-002-1245-9. Acesso em: 31 mar. 2022.
- NIEBOER, Evert; FLETCHER, Glenn G.; THOMASSEN, Yngvar. Relevance of reactivity determinants to exposure assessment and biological monitoring of the elements. Journal of Environmental Monitoring, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1–14, 1999. DOI: 10.1039/A808849G. Disponível em: https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1999/em/a808849g. Acesso em: 31 mar. 2022.

- NORWOOD, W. P.; BORGMANN, U.; DIXON, D. G. Saturation models of arsenic, cobalt, chromium and manganese bioaccumulation by Hyalella azteca. Environmental Pollution, [S. 1.], v. 143, n. 3, p. 519–528, 2006. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.11.041.
- OBERHOLSTER, Paul J.; MYBURGH, Jan G.; ASHTON, Pete J.; COETZEE, Jan J.; BOTHA, Anna Maria. Bioaccumulation of aluminium and iron in the food chain of Lake Loskop, South Africa. Ecotoxicology and Environmental Safety, [S. 1.], v. 75, n. 1, p. 134–141, 2012. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2011.08.018. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.08.018.
- RAY, G. Carleton. Marine conservation: science, policy, and management. [S. 1.], p. 370, 2013. Disponível em: https://books.google.com/books/about/Marine\_Conservation.html?hl=es&id=eVVZAQAAQBAJ. Acesso em: 31 mar. 2022.
- RIBEIRO, Fabianne; VAN GESTEL, Cornelis A. M.; PAVLAKI, Maria D.; AZEVEDO, Sofia; SOARES, Amadeu M. V. M.; LOUREIRO, Susana. Bioaccumulation of silver in Daphnia magna: Waterborne and dietary exposure to nanoparticles and dissolved silver. Science of The Total Environment, [S. 1.], v. 574, p. 1633–1639, 2017. DOI: 10.1016/J.SCITOTENV.2016.08.204.
- SANTANA, Felipe C.; FRANCELINO, Márcio R.; SCHAEFER, Carlos E. G. R.; VELOSO, Gustavo V.; FERNANDES-FILHO, Elpídio I.; SANTANA, Adalgisa de J. P.; TIMO, Lucas B.; ROSA, André P. Water Quality of the Gualaxo do Norte and Carmo Rivers After the Fundão Dam Collapse, Mariana, MG. Water, Air, and Soil Pollution, [S. 1.], v. 232, n. 4, 2021. DOI: 10.1007/s11270-021-05113-3.
- SANTOS, Elisabeth C. de Oliveira *et al.* Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia: síntese dos estudos do Instituto Evandro Chagas/FUNASA. Revista Brasileira de Epidemiologia, [S. 1.], v. 6, n. 2, p. 171–185, 2003. DOI: 10.1590/S1415-790X2003000200010. Disponível em: http://www.scielo.br/j/rbepid/a/3PmZtFcYhht3nLRS8T9BFgK/?lang=pt. Acesso em: 31 mar. 2022.
- SANTOS, Eugênia Moreira; NALINI, Hermínio Arias; ABREU, Adriana Trópia; NOGUEIRA, Leonardo Brandão. Mobilization of heavy metals in river sediments from the region impacted by the Fundão dam rupture, Brazil. Environmental Earth Sciences, [S. 1.], v. 80, n. 24, 2021. a. DOI: 10.1007/s12665-021-10107-9.
- SANTOS, M. P. O.; SANTOS, M. V. N.; MATOS, R. S.; VAN DER MAAS, A. S.; FARIA, M. C. S.; BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; BOMFETI, C. A. Pleurotus strains with remediation potential to remove toxic metals from Doce River contaminated by Samarco dam mine. International Journal of Environmental Science and Technology, [S. 1.], n. 0123456789, 2021. b. DOI: 10.1007/s13762-021-03597-4. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13762-021-03597-4.
- SANTOS-MEDRANO, Gustavo Emilio; RICO-MARTINEZ, Roberto. Acute and chronic effects of five metals in a battery of freshwater planktonic organisms. Fresenius Environmental Bulletin, [S. 1.], v. 24, n. 12B, p. 4658–4666, 2015.
- SEYMORE, T.; DUPREEZ, H. H.; VANVUREN, J. H. J. Manganese, Lead And Strontium Bioaccumulation In The Tissues Of The Yellowfish, Barbus-Marequensis From The Lower Olifants River, Eastern Transvaal . 1995, [S. 1.], [s.d.]. Disponível em: https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference\_id/6689182. Acesso em: 31 mar. 2022.
- SHUHAIMI-OTHMAN, Mohammad; YAKUB, Nadzifah; RAMLE, Nur Amalina; ABAS, Ahmad. Toxicity of metals to a freshwater ostracod: Stenocypris major. Journal of Toxicology, [S. 1.], v. 2011, 2011. DOI: 10.1155/2011/136104.

SILVA, Alessandro Costa Da; VIDAL, Mariângela; PEREIRA, Madson Godoi. Impactos ambientais causados pela mineração e beneficiamento de caulim. Rem: Revista Escola de Minas, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 133–136, 2001. DOI: 10.1590/S0370-44672001000200010. Disponível em: http://www.scielo.br/j/rem/a/BhDY5L7mHb7J3STpqp89sfp/abstract/?lang=pt. Acesso em: 31 mar. 2022.

SON, Jino; LEE, Yun sik; KIM, Yongeun; SHIN, Key II; HYUN, Seunghun; CHO, Kijong. Joint toxic action of binary metal mixtures of copper, manganese and nickel to Paronychiurus kimi (Collembola). Ecotoxicology and Environmental Safety, [S. 1.], v. 132, p. 164–169, 2016. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.05.034. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.034.

STUBBLEFIELD, William A.; BRINKMAN, Steven F.; DAVIES, Patrick H.; GARRISON, Tyler D.; HOCKETT, James R.; MCINTYRE, Matthew W. Effects of water hardness on the toxicity of manganese to developing brown trout (Salmo trutta). Environmental Toxicology and Chemistry, [S. 1.], v. 16, n. 10, p. 2082–2089, 1997. DOI: 10.1002/ETC.5620161014.

TANG, Bowen; TONG, Ping; XUE, Kathy S.; WILLIAMS, Phillip L.; WANG, Jia Sheng; TANG, Lili. High-throughput assessment of toxic effects of metal mixtures of cadmium(Cd), lead(Pb), and manganese(Mn) in nematode Caenorhabditis elegans. Chemosphere, [S. 1.], v. 234, p. 232–241, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.05.271. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.271.

TCHOUNWOU, Paul B.; YEDJOU, Clement G.; PATLOLLA, Anita K.; SUTTON, Dwayne J. Heavy Metal Toxicity and the Environment. EXS, [S. l.], v. 101, p. 133–164, 2012. DOI: 10.1007/978-3-7643-8340-4\_6. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-7643-8340-4\_6. Acesso em: 31 mar. 2022.

TEODOROVIC, Ivana; PLANOJEVIC, Ivana; KNEZEVIC, Petar; RADAK, Sonja; NEMET, Irena. Sensitivity of bacterial vs. acute Daphnia magna toxicity tests to metals. Central European Journal of Biology, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 482–492, 2009. DOI: 10.2478/s11535-009-0048-7.

Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. [S. 1.], OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, 2004. DOI: 10.1787/9789264069947-EN. Disponível em: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test\_9789264069947-en. Acesso em: 31 mar. 2022.

Test No. 235: Chironomus sp., Acute Immobilisation Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. [S. 1.], OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, 2011. DOI: 10.1787/9789264122383-EN. Disponível em: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-235-chironomus-sp-acute-immobilisation-test\_9789264122383-en. Acesso em: 31 mar. 2022.

TORRES GUZMÁN, Félix; GONZÁLEZ, Francisco Javier Avelar; RICO MARTÍNEZ, Roberto. Implementing Lecane quadridentata acute toxicity tests to assess the toxic effects of selected metals (Al, Fe and Zn). Ecotoxicology and Environmental Safety, [S. l.], v. 73, n. 3, p. 287–295, 2010. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2009.10.006.

TSUI, Martin Tsz Ki; WANG, Wen Xiong. Biokinetics and tolerance development of toxic metals in Daphnia magna. Environmental Toxicology and Chemistry, [S. 1.], v. 26, n. 5, p. 1023–1032, 2007. DOI: 10.1897/06-430R.1. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1897/06-430R.1. Acesso em: 31 mar. 2022.

US EPA. United States Environmental Protection Agency. Disponível em: https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300078793. Acesso em: 31 mar. 2022.

WAH CHU, K.; CHOW, King L. Synergistic toxicity of multiple heavy metals is revealed by a biological assay using a nematode and its transgenic derivative. Aquatic Toxicology, [S. l.], v. 61, n. 1–2, p. 53–64, 2002. DOI: 10.1016/S0166-445X(02)00017-6.

WENG, N.; Guagliardo, P.; JIANG, H. Nanosims imaging of bioaccumulation and subcellular distribution of manganese during oyster gametogenesis. Environ. Sci. Technol. 55, 12, 8223–8235, 2021.

### Anexo A - Lista de tabelas

**Tabela 1:** Parâmetros do modelo de concentração de adição (CA) aplicados aos resultados do bioensaio agudo com *Daphnia magna* (48h) expostas a diferentes concentrações de misturas de Mn e Fe.

Modelo de adição da concentração (CA)						
	CA	S/A	D/R	D/L		
Max	0,98	0,98	0,98	0,98		
βMn	4,279	4,285	4,290	4,392		
βFe	8,185	13,954	13,432	15,619		
EC <sub>50</sub> Mn (mg/L)	257,868	201,848	207,167	201,406		
EC <sub>50</sub> Fe (mg/L)	70,299	55,079	54,865	54,656		
a	-	1,674	1,843	1,429		
bDR/DL	-	-	-0,471	-0,126		
SS	47,440	26,161	26,084	26,106		
$\mathbf{r}^2$	0,462	0,703	0,704	0,703		
X <sup>2</sup> /F test	40,728	21,279	21,355	21,334		
df	-	1	2	2		
p-value	3,05x10 <sup>-8</sup>	3,97x10 <sup>-6</sup>	2,3x10 <sup>-5</sup>	2,33 x10 <sup>-5</sup>		

S/A: desvio de sinergismo ou antagonismo, DR: desvio dependente da razão de dose e DL: desvio dependente do nível de dose. Max: valor máximo de resposta;  $\beta$ : inclinação da curva de resposta à dose individual; EC50: concentração do efeito para 50% da população; a, bDR e bDL: parâmetros da função; SS: soma dos resíduos quadrados; r2: coeficiente de regressão;  $\chi$ 2/F test: Chi-quadrado ou likelihood test; df: graus de liberdade; p-value: nível de significância estatístico.

**Tabela 2:** Nomenclaturas das concentrações utilizadas no teste crônico de misturas com *D. magna*. Contém: força tóxica utilizada no teste, TU: unidade tóxica e concentrações (mg/L) de cada contaminante (Mn e Fe).

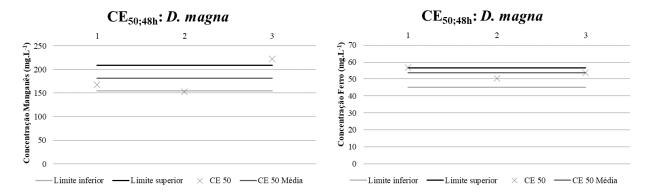
Teste crônico de mistura						
Força tóxica	TU			Concentrações (mg/L)		
	Mn	Fe	-	Mn	Fe	
Controle		0	0		0	0
Mn1		0,25	0		7,5	0
Mn2		0,5	0		15	0
Mn3		1	0		30	0
Mn4		2	0		60	0
Fe1		0	0,25		0	1,25
Fe2		0	0,5		0	2,5
Fe3		0	1		0	5
Fe4*		0	2		0	10
Mix1	0,25	0,125	0,125		3,75	0,625
Mix2	0,25	0,0625	0,1875		1,875	0,9375
Mix3	0,25	0,1875	0,0625		5,625	0,3125
Mix4	0,5	0,25	0,25		7,5	1,25
Mix5	0,5	0,125	0,375		3,75	1,875
Mix6	0,5	0,375	0,125		11,25	0,625
Mix7	1	0,5	0,5		15	2,5
Mix8	1	0,25	0,75		7,5	3,75
Mix9	1	0,75	0,25		22,5	1,25
Mix10	2	1	1		30	5
Mix11*	2	0,5	1,5		15	7,5
Mix12	2	1,5	0,5		45	2,5

As concentrações Fe4\* e Mix11\* estão indicadas, porém foram retiradas do teste crônico por terem causado morte de todos os organismos.

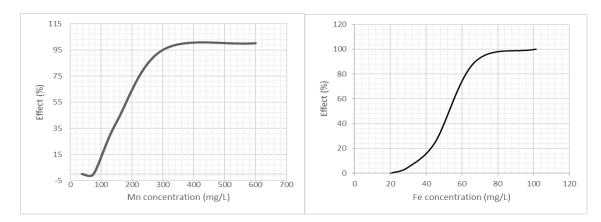
**Tabela 3:** Biomassa (mg); perda de biomassa em relação ao controle (%) concentrações de Mn e Fe nos organismos (ug/g) e bioacumuação (%) em relação ao controle em *D. magna* expostas em bioensaios crônicos aos metais Mn e Fe isolados e em mistura binária.

-	Biomassa		Mn		Fe	
		Perda (%)		Bioacumulação		Bioacumulação
Controle	0,281		0,001		0,663	
Mn1	0,251	10,795	0,388	99,867		
Mn2	0,266	5,329	0,660	99,922		
Mn3	0,263	6,512	1,682	99,922		
Mn4	0,223	20,623	2,606	99,980		
Fe1	0,219	21,940			2,257	70,637
Fe2	0,212	24,680			3,666	81,928
Fe3	0,171	39,306			7,134	90,712
Mix1	0,197	30,036	0,263	99,803	2,535	90,712
Mix2	0,260	7,491	0,124	99,581	1,838	63,956
Mix3	0,282	-0,439	0,293	99,823	1,089	39,156
Mix4	0,206	26,646	0,523	99,901	2,947	77,518
Mix5	0,205	26,931	0,337	99,846	3,555	81,362
Mix6	0,252	10,498	0,520	99,900	1,943	65,897
Mix7	0,182	35,062	0,865	99,940	5,300	87,499
Mix8	0,190	32,527	0,537	99,904	5,892	88,754
Mix9	0,243	13,428	1,603	99,968	1,880	64,754
Mix10	0,212	24,413	1,812	99,971	2,757	75,969
Mix12	0,191	31,868	3,050	99,983	3,980	83,353

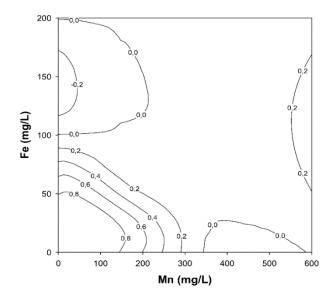
## Anexo B – Lista de figuras



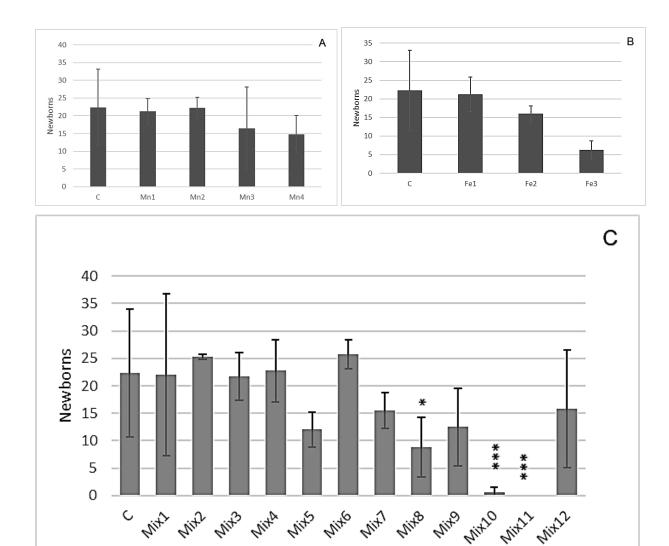
**Figura 1**: CE50, limite inferior e limite superior obtidos em testes agudos (48h) com *D. magna* expostas a diferentes concentrações de manganês e ferro (mg/L).



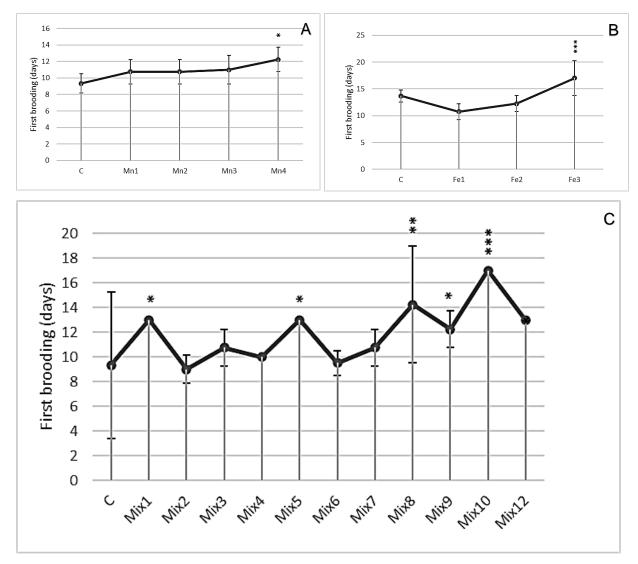
**Figura 2:** Curvas dose-resposta referentes aos testes agudos  $CE_{50,48h}$  com Mn e Fe, respectivamente e *D. magna*.



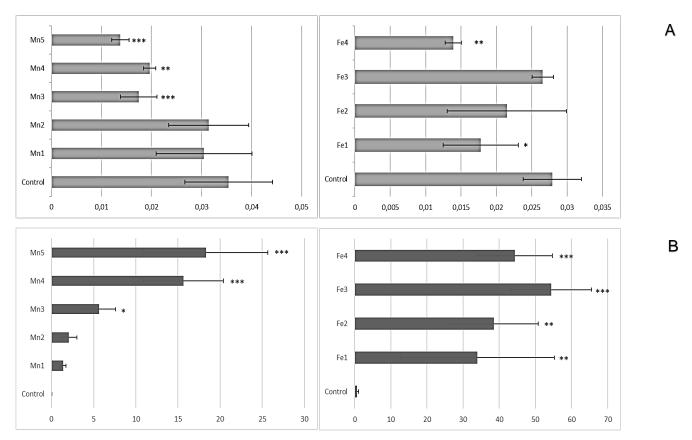
**Figura 3:** Gráfico isobolograma representativo do efeito agudo (48h) na imobilidade de Daphnia magna pela mistura de Mn e Fe (mg/L). O efeito apresentado corresponde ao efeito dependente da razão de dose (DR) do modelo de concentração de adição (CA) evidenciando o efeito antagônico da mistura dos metais.



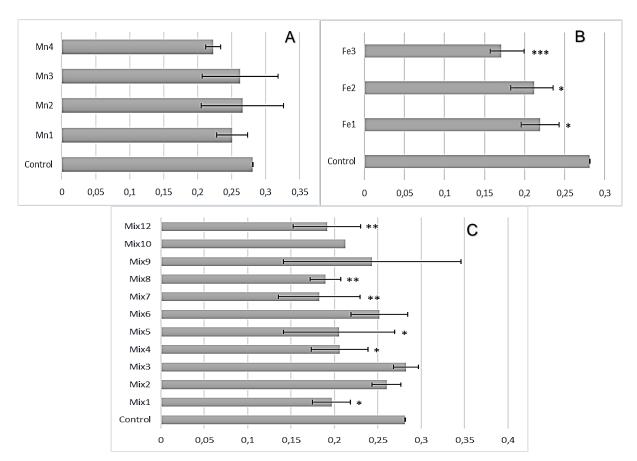
**Figura 4:** Efeito crônico (número de neonatos) em D. magna obtidos nos bioensaios com mistura dos metais Mn e Fe. A) Efeito na reprodução frente a exposição ao Mn (7.5-60mg/L) isoladamente; B) Efeito na reprodução frente a exposição ao Fe (0.313-3.75mg/L) isoladamente; C) Efeito na reprodução frente a exposição a misturas em diferentes proporções de Mn e Fe. Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0.001 ; (\*\*\*) <math>0.001 .



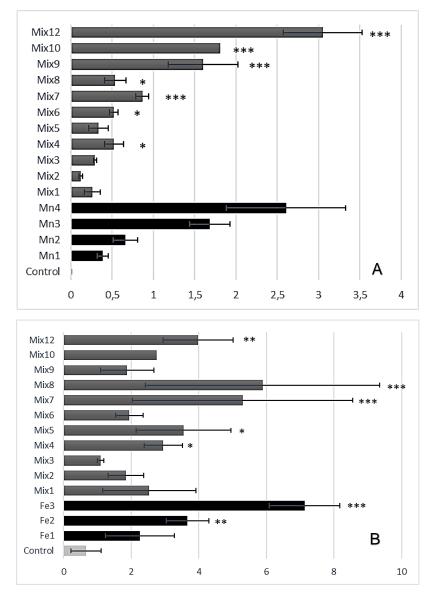
**Figura 5:** Efeito crônico (início da reprodução) em *D. magna* obtidos nos bioensaios com mistura dos metais Mn e Fe. A) Efeito na reprodução frente a exposição ao Mn (7.5 – 60mg/L) isoladamente; B) Efeito na reprodução frente a exposição ao Fe (0.313 – 3.75mg/L) isoladamente; C) Efeito na reprodução frente a exposição a misturas em diferentes proporções de Mn e Fe. Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,001<p<0,01; (\*\*\*) 0<p<0,001.



**Figura 6:** Efeito na A) biomassa (mg) e na B) bioacumulação ( $\mu$ g/g) dos metais Mn e Fe respectivamente em *D. magna* após exposição aguda (48h) aos metais manganês (37.5 – 600mg/L) e ferro (20 – 101.5mg/L). Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,001<p<0,01; (\*\*\*) 0<p<0,001.



**Figura 7:** Biomassa de *D. magna* (mg) após exposição crônica (21d) aos metais A) manganês (7.5 – 60mg/L) e B) ferro (1.25 – 5mg/L) isolados e em C) misturas de diferentes proporções (Mn: 1.88 – 45mg/L; Fe: 0.313 – 3.75mg/L). Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,001<p<0,01; (\*\*\*) 0<p<0,001.



**Figura 8:** Bioacumulação dos metais A) manganês e B) ferro em *D. magna* ( $\mu$ g/g) após exposição crônica (21d) isoladamente (Mn: 7,5 – 60 mg/L e Fe: 1,25 – 5 mg/L) e em misturas (Mn: 1,88 – 45 mg/L e Fe: 0,313 – 3.75 mg/L) em diferentes proporções. Níveis de significância: (\*) p<0,05; (\*\*) 0,001<p<0,01; (\*\*\*) 0<p<0,001.

# CONCLUSÃO GERAL

Esta tese de doutoramento trouxe elementos importantes a serem considerados na discussão acerca dos efeitos nocivos, causados pelo rejeito extravasado da barragem rompida da Empresa Samarco, em Mariana-MG, para os ecossistemas aquáticos, considerando não apenas as alterações físicas e químicas, mas sobretudo os efeitos sobre as comunidades aquáticas. Tendo em vista o caráter heterogêneo do rejeito, bem como sua diluição após a entrada no ambiente aquático, muitos pesquisadores, em associação às vozes de empresas e alguns órgãos governamentais, têm subestimado o potencial de toxicidade deste, imprimindo ao desastre uma feição menos impactante do que na realidade tem sido observado por outros pesquisadores e associações não governamentais, os quais não têm medido esforços em buscar respostas mais efetivas sobre o real efeito do aporte do rejeito, em diferentes escalas de tempo. No meio de tantas perguntas, ainda sem respostas, procurou-se nesta pesquisa reconhecer alguns destes efeitos por meio do desenvolvimento de estudos experimentais laboratoriais e da simulação do aporte do rejeito em condições de simulação, utilizando modelos ecossistêmicos (mesocosmos), o que permitiu uma avaliação em nível populacional, de comunidades e de ecossistemas.

Adicionalmente, considerando os principais metais presentes no rejeito, como o ferro e manganês, avaliou-se como estes metais, isolados e em mistura, podem interferir na sobrevivência, reprodução e biomassa de uma espécie zooplanctônica, além da avaliação da bioacumulação. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que os efeitos observados foram classificados como letais, reprodutivos, interferiram no crescimento populacional ou alteraram a biomassa e ainda promoveram acumulação de metais nos organismos. Concluiu-se, também, que a aporte do rejeito nos ecossistemas aquáticos (mesocosmos) interferiram nas características físicas e químicas da água e sedimento, promovendo alterações na composição e densidade das espécies zooplanctônicas e de macroinvertebrados bentônicos. Os efeitos observados nos testes de toxicidade, associados aos estudos de semicampo (mesocosmos), certificam claramente o potencial do rejeito em causar danos estruturais e funcionais nos ecossistemas aquáticos, o que tem sido observado por diversos autores, como mencionado nos diferentes capítulos que compõem essa tese de doutorado. Assim, com base nos resultados obtidos, concluiu-se que as hipóteses 1 (A contaminação da água e sedimento por rejeito de mineração causa toxicidade aos organismos aquáticos principalmente de forma crônica, alterando a reprodução e crescimento populacional de diferentes organismos pertencentes a diferentes estratos tróficos) e 2 (Os metais encontrados em maiores proporções no rejeito contaminante, manganês e ferro, apesar de serem essenciais ao desenvolvimento dos organismos vivos, em mistura binária causam efeitos letais e subletais à D. magna e são passíveis de acumulação na cadeia trófica) são aceitas e que os objetivos gerais e específicos foram atendidos.

Apesar de seis anos já terem se passado desde o que foi considerado o maior desastre ambiental do Brasil, ainda não se sabe com maior precisão a extensão dos danos causados para muitas espécies, em todos os ambientes que foram atingidos pela "lama", quer sejam dulcícolas ou marinhos, aquáticos ou terrestres. O rejeito continua estocado, sendo liberado de forma gradativa, por diferentes processos, os quais contribuem para que os componentes tóxicos sejam incorporados de forma contínua e lenta no sistema aquático, implicando no desaparecimento das espécies mais sensíveis e, por conseguinte, afetando toda a estruturação biologia. Ressalta-se, ainda, a problemática relacionada à bioacumulação, como reportada nesta pesquisa para uma espécie planctônica, a qual representa um elo importante entre produtores primários e consumidores secundários, o que pode colocar em risco à saúde humana, considerando o consumo de peixes. Ou seja, os efeitos vão além da ideologia ambiental!

Desastrosamente, um ano depois houve outro rompimento de barragem, desta vez em Brumadinho (MG), demonstrando que pouco se faz neste país para a real mudança deste cenário de grandes impactos ambientais, mesmo que estes estejam em evidência e ocorrendo sucessivamente. Neste contexto, é necessário que haja investimento econômico, político e intelectual para a busca de conhecimento e, concomitantemente, de soluções para a remediação dos danos já causados e a prevenção, para que tais histórias não mais se repitam.