



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ISADORA RIBEIRO DE CARVALHO

**QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS E ESTIMATIVA DO
TAMANHO DO GENOMA EM AMOSTRAS DE CAPIVARAS (*HYDROCHOERUS*
HYDROCHAERIS) ORIUNDAS DA BACIA DO RIO PARAÓPEBA**

ISADORA RIBEIRO DE CARVALHO

**QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS E ESTIMATIVA DO
TAMANHO DO GENOMA EM AMOSTRAS DE CAPIVARAS (*HYDROCHOERUS*
HYDROCHAERIS) ORIUNDAS DA BACIA DO RIO PARAÓPEBA**

Monografia apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigências do
Curso de Ciências Biológicas para obtenção do
título de bacharel.

Orientadora: Mariana Machado Neves

ISADORA RIBEIRO DE CARVALHO

ISADORA RIBEIRO DE CARVALHO

**QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS E ESTIMATIVA DO
TAMANHO DO GENOMA EM AMOSTRAS DE CAPIVARAS (*HYDROCHOERUS*
HYDROCHAERIS) ORIUNDAS DA BACIA DO RIO PARAÓPEBA**

Monografia apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigências do
Curso de Ciências Biológicas para obtenção do
título de bacharel.

APROVADA: 25 de julho de 2026.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **ISADORA RIBEIRO DE CARVALHO**
Data: 07/07/2026 19:56:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Isadora Ribeiro de Carvalho

Autora

Documento assinado digitalmente
 **MARIANA MACHADO NEVES**
Data: 07/07/2026 19:47:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Mariana Machado-Neves

Orientadora

À minha mãe, que me deu a vida, mais de uma vez, e nunca mediu esforços para
realizar os meus sonhos.

Ao meu pai, que batalhou tanto para me fazer chegar até aqui.

À minha irmã, quem foi meu porto seguro mesmo a quilômetros de distância.

À minha avó Djanira e a cada terço rezado, que me manteve de pé todos os dias.

Aos amigos que fiz na UFV, meus grandes companheiros nessa jornada emocionante.

A mim mesma, que a todo instante lutei batalhas invisíveis aos olhos de todos, muitas
vezes sozinha, e só eu sei como eu consegui chegar até aqui.

A todos que tornaram esse sonho possível, dedico essa monografia.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente à minha orientadora, a Profa. Dra. Mariana Machado-Neves, que me acolheu desde o início da minha graduação, me concedeu meu primeiro estágio e minha bolsa de iniciação científica. Que me deixou livre para explorar outras áreas da biologia e me recebeu de braços abertos e sorriso no rosto quando eu decidi voltar para o laboratório e disse a frase que nunca vou esquecer, “eu sabia que você iria voltar”.

Agradeço ao Prof. Dr. Renner Carvalho, que me deu a oportunidade de acompanhar seu projeto de doutorado, que me ensinou a maioria das coisas que sei sobre laboratório e técnicas laboratoriais hoje, que acreditou em mim quando nem eu mesma acreditava.

Agradeço a todo o laboratório de Biologia Estrutural todos do Grupo de Pesquisa em Reprodução Animal e Toxicologia (LARAT), que foram minha segunda casa de 2021 a 2023, depois em 2025 até agora novamente e a todos os membros que foram essenciais para a minha formação acadêmica, em especial à Ana e à Fran, que eu acompanhei no meu tempo de estágio obrigatório e foram essenciais para a construção desse trabalho.

Agradeço com muita admiração e carinho ao Prof. Dr. Renato Feio, com quem tive o prazer de trabalhar e aprender inúmeras coisas tão essenciais para a vida, incluindo acadêmicas. Pelos momentos incríveis no Careço, pelos ensinamentos do grande mestre da herpetologia que até no Instituto Butantan é reconhecido como um dos maiores e hoje felizmente posso chamar de amigo.

Agradeço ao Prof. Dr. Guilherme Garbino, outro grande mestre, que me fez apaixonar pela mastozoologia, me deixou ser “infiltrada” no seu laboratório e me ensinou tanto para além da sala de aula.

Agradeço ao Museu de Zoologia João Moojen, ao tempo que passei lá e tudo que aprendi.

Agradeço com muito apreço à Profa. Dra. Luzimar Campos, que me orientou durante toda a minha graduação. Agradeço por todos os planos de estudos, todos os conselhos, os puxões de orelhas necessários. Você foi o começo de tudo.

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa, a mais linda, a maior e melhor do Brasil, e a todos os Departamentos que compõem a Biologia. Tenho orgulho de sair daqui uma bióloga que passou pelos melhores profissionais que poderiam existir.

Um muito obrigada de todo meu coração.

RESUMO

A capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), o maior roedor do mundo, é um animal semiaquático, herbívoro, que se organiza em grupo e é adaptado a viver em áreas altamente antropizadas. Em razão dos seus hábitos ecológicos e de sua posição na cadeia trófica, a espécie possui potencial para atuar como bioindicadora da qualidade ambiental. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar elementos químicos em quatro tipos de amostras biológicas e estimar o tamanho do genoma desses animais em papa leucocitária. Essas informações podem nortear atividades de monitoramento em ambientes antropizados. Foram coletadas amostras de pelos, fezes, sangue e soro de 20 indivíduos oriundos da Bacia do Rio Paraopeba, para quantificar os elementos químicos, sendo eles: alumínio (Al), arsênio (As), chumbo (Pb), cobre (Cu), ferro (Fe), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobalto (Co), níquel (Ni) e manganês (Mn). A papa leucocitária também foi utilizada para realizar a estimativa do genoma em citômetro de fluxo. Os resultados de bioacumulação de metais mostraram que os dez elementos químicos selecionados foram encontrados em amostras de pelos e fezes, sendo detectados apenas 5 e 6 em sangue e soro, respectivamente. Os elementos químicos com maiores concentrações nos quatro tipos amostrais foram alumínio e ferro, enquanto o cádmio foi o metal tóxico com as menores concentrações observadas em pelos e fezes. Os resultados das análises de citometria de fluxo para a estimativa do genoma não evidenciaram diferença entre machos e fêmeas.

Palavras-chave: capivara; metais tóxicos; macroelementos; genoma; Bacia Paraopeba.

ABSTRACT

The capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), the world's largest rodent, is a semi-aquatic, herbivorous animal that lives in groups and is adapted to living in highly anthropized areas. Due to its ecological habits and its position in the food chain, the species has the potential to serve as a bioindicator of environmental quality. In this context, the present study aimed to characterize chemical elements in four types of biological samples and to estimate the genome size of these animals using leukocyte pap. This information can guide monitoring activities in human-altered environments. Samples of hair, feces, blood, and serum were collected from 20 individuals from the Paraopeba River Basin, to quantify the chemical elements, namely: aluminum (Al), arsenic (As), lead (Pb), copper (Cu), iron (Fe), cadmium (Cd), chromium (Cr), cobalt (Co), nickel (Ni), and manganese (Mn). Leukocyte paste was also used to estimate the genome via flow cytometry. The results of metal bioaccumulation showed that the ten selected chemical elements were found in hair and feces samples, with only 5 and 6 detected in blood and serum, respectively. The chemical elements with the highest concentrations in the four sample types were aluminum and iron, while cadmium was the toxic metal with the lowest concentrations observed in fur and feces. The results of the flow cytometry analyses used to estimate genome size showed no difference between males and females.

Keywords: capybara; toxic metals; macronutrients; genome; Paraopeba Basin.

Sumário

1.INTRODUÇÃO	11
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. Biologia das capivaras	12
2.2. Capivara como um relevante bioindicador da qualidade do ambiente	13
2.3. Alterações do ambiente natural da fauna silvestre pelas atividades antrópicas	14
2.3.1. Rompimento da barragem B1 do Ribeirão Ferro-Carvão, em Brumadinho- Minas Gerais	15
2.4. Efeito de rompimento de barragens no ambiente	15
2.5. Interação com metais provenientes da crosta terrestre	16
2.5.1. Vias de entrada no organismo	17
2.5.1 Taxas de absorção e excreção em humanos	18
2.5.3. Limites de segurança para metais pesados no organismo humano	19
2.6. Métodos para avaliar acúmulo de metais em amostras biológicas	20
2.6.1. Preparação de amostras: digestão, contaminação cruzada, materiais de referência, controle de qualidade (QA/QC).	20
2.6.2. Técnicas analíticas: princípios gerais (ICP-OES), limites de detecção, interferências de matriz e correções	22
2.7. Tamanho do genoma: definição, metodologia de estudo e atualização do conhecimento em capivaras	23
2.7.1. Relevância da citometria de fluxo para o avanço científico na atualidade	24
2.7.2. Conhecimento em capivaras	25
3.OBJETIVOS	25
3.1. Objetivo geral	25
3.2. Objetivos específicos	25
4.MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1. Animais e comitê de ética	26
4.2. Delineamento experimental	26
4.3. Contenção animal e coleta de material biológico	27
4.4. Preparação das amostras para análise de bioacumulação de metais	28
4.5. Estimativa do tamanho do genoma e análise em citometria de fluxo	29
4.6. Análise dos dados	30
5.RESULTADOS	30
5.1. Quantificação de elementos químicos em amostras de capivara	30
5.2. Estimativa do tamanho do genoma em amostras de capivaras por citometria de fluxo	31
6.DISSCUSSÃO	33
7.CONCLUSÃO	36
8.REFERÊNCIAS	37

1.INTRODUÇÃO

A mineração é uma atividade econômica baseada na extração de recursos minerais do solo e do subsolo, sendo fundamental para a sociedade moderna por fornecer matérias-primas utilizadas em diversos setores industriais e no cotidiano da população. Minas Gerais é um exemplo de estado brasileiro com intensa atividade de mineração e contribuição desse comércio para a economia. Apesar de sua importância econômica e social, a mineração também está associada a impactos ambientais significativos, afetando diretamente o solo, a água, o ar, a fauna e a flora. Esses impactos tornam-se ainda mais evidentes diante de desastres ambientais relacionados à atividade mineradora, como os que ocorreram nas Bacias do Rio Doce e Sub-bacia do Ribeirão Ferro-Carvão, que deságuam suas águas na bacia do Paraopeba.

A bacia hidrográfica do Rio Paraopeba está localizada a sudeste do estado de Minas Gerais e abrange uma área de 13.643 km², correspondente a 2,5% da área total do estado de Minas Gerais. A região da bacia é caracterizada por uma transição entre os biomas Cerrado e Mata Atlântica, abrigando uma grande biodiversidade de fauna e flora. O ambiente que já se encontrava profundamente antropizado em decorrência de atividades como desmatamento, urbanização, agricultura e principalmente mineração (Mendes et al. 2023), sofreu alterações ainda mais devastadoras após o rompimento da barragem B1 de Brumadinho, ocorrido em 25 de janeiro de 2019, que liberou cerca de 10 milhões de metros cúbicos de rejeito de mineração contendo altas concentrações de metais como ferro, manganês, alumínio, cromo, chumbo, cádmio e arsênio, responsável por alterar as dinâmicas físicas, químicas e biológicas da região (Thompson et al. 2020; Parente et al. 2021; Mendes et al. 2023). Em decorrência disso, a análise dos impactos toxicológicos é essencial para entender como os poluentes provenientes de atividades mineradoras afetam o ecossistema local.

A análise dos ecossistemas geralmente envolve estudos de representantes da fauna considerados bioindicadores da qualidade do ambiente. Dentre esses bioindicadores temos as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Esses mamíferos têm hábitos semiaquáticos e são reconhecidos como os maiores roedores do mundo. Possuem hábito alimentar herbívoro, consumindo principalmente gramíneas, vegetação aquática e plantas presentes nas margens de corpos d'água. Além disso, destacam-se por sua elevada capacidade de adaptação a ambientes antropizados, onde frequentemente encontram condições favoráveis para sua sobrevivência e reprodução. Sua estreita interação com diferentes compartimentos do ecossistema, como solo, água e vegetação, aumenta a probabilidade de exposição a contaminantes presentes no

ambiente. Adicionalmente, o sucesso adaptativo e reprodutivo da espécie em áreas urbanizadas facilita sua amostragem e monitoramento. Dessa forma, análises toxicológicas em capivaras são relevantes para estudos de biomonitoramento, uma vez que a presença e a concentração de contaminantes em suas amostras biológicas podem refletir o nível de contaminação dos ecossistemas em que elas estão inseridas.

Considerando a relevância do desastre de Brumadinho para a Bacia do Paraopeba, bem como o monitoramento da qualidade ambiental e saúde da biodiversidade, avaliar metodologias em animais de médio porte como as capivaras passa a ser importante para estudos em ambientes não controlados. Por isso, este estudo teve como principal objetivo analisar a concentração de elementos químicos em diferentes tipos de amostras biológicas de capivaras que residem ao longo da bacia do rio Paraopeba. A avaliação dos níveis de contaminação pode fornecer informações relevantes sobre a bioacumulação de metais pesados nos organismos que podem embasar o desenvolvimento de estratégias de conservação e recuperação de ecossistemas antropizados. Além das análises de bioacumulação nesses indivíduos, a estimativa do tamanho do genoma possui grande importância em análises toxicológicas porque fornece informações fundamentais sobre a organização genética, estabilidade celular e possíveis impactos de agentes tóxicos sobre o material genético.

Este estudo busca determinar qual dessas amostras apresenta maior sensibilidade e representatividade para a detecção de contaminantes, subsidiando futuras análises de monitoramento ambiental em mamíferos silvestres, além de discutir metodologias de análises, relevância no correto preparo de amostras para realização das análises de bioacumulação e de citometria de fluxo, interpretação dos resultados à luz das características geoquímicas do ambiente, uma vez que são animais de vida livre.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Biologia das capivaras

As capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), pertencentes à família Caviidae (Rowe e Honeycutt 2002), são os maiores roedores do mundo (Mones e Ojasti 1986). São animais semi aquáticos, caracterizados por um comportamento social, vivendo em grupos familiares que geralmente variam de 5 a 14 indivíduos adultos (Moreira et al. 2012). As capivaras possuem hábitos diurnos, período que elas passam mais tempo na água para termorregulação, e possuem um pico de atividade no final da tarde, sendo o principal período de forrageamento (Mones e Ojasti 1986). As capivaras são herbívoras, ocupando o segundo nível da cadeia

trófica, sendo consumidores primários. Elas se alimentam preferencialmente de gramíneas com alto teor de proteína. Em ambientes úmidos, a dieta pode ser composta por até 87% de plantas aquáticas (Borges et al. 2007). Elas também realizam a cecotrofia, que é a ingestão de um tipo especial de fezes pastosas e ricas em nitrogênio produzidas no ceco, o que permite o reaproveitamento de proteína microbiana e vitaminas resultantes da fermentação (Herrera 1985; Mendes et al. 1999). Outra característica peculiar das é a ausência de muda de pelos, (Yang et al. 2021). A espécie é considerada sedentária, mantendo áreas de vida (home ranges) que variam geralmente entre 5 e 16 hectares (Moreira et al. 2012), circulando entre corpos d'água, para a ingestão, termorregulação, acasalamento e refúgio contra predadores, áreas de mata para descanso noturno e pastagens para forrageamento (Alho et al. 1987).

2.2. Capivara como um relevante bioindicador da qualidade do ambiente

Bioindicadores são organismos que contém informações sobre a qualidade do ambiente. Eles acumulam um ou mais elementos e/ou compostos do seu ambiente e demonstram efeitos específicos ou inespecíficos em resposta à esta exposição. Esses efeitos podem incluir alterações em sua estrutura morfológica, histológica ou celular, em seus processos metabólico-bioquímicos, em seu comportamento ou em sua estrutura populacional (Markert et al. 2003). Ao usar um mamífero como um bioindicador, obtêm-se informações sobre a qualidade do ecossistema do qual o animal faz parte (Tataruch e Kierdorf 2003). Pequenos roedores têm sido utilizados como monitores de contaminantes ambientais há décadas (Talmage et al. 1991) e especificamente na acumulação de metais em determinadas espécies de roedores subterrâneos (Da Silva et al. 2000, Šumbera et al. 2003), mas os grandes ainda são pouco utilizados.

As capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), são herbívoras, sendo consumidores primários e ocupando o segundo nível da cadeia trófica, que contribui com o aumento da concentração de metais no organismo, além da interação água-solo, pois são animais semiaquáticos, intensificando o contato com áreas contaminadas. As capivaras também são animais que obtiveram sucesso adaptativo em áreas altamente antropizadas e urbanizadas, o que, além de aumentar o risco de exposição com agentes contaminantes para a fauna silvestre no geral, também facilita o monitoramento dos indivíduos. Todas essas características são úteis para biomonitoramento, pois podem refletir a presença de contaminantes (Shore e Rattner 2001).

2.3. Alterações do ambiente natural da fauna silvestre pelas atividades antrópicas

O impacto antrópico é definido como toda ação realizada pelo homem na qual resulta em um desequilíbrio ao meio ambiente (Resolução CONAMA Nº 01, de 23 de janeiro de 1986). Esses desequilíbrios podem ser decorrentes do desmatamento, da urbanização, da agricultura e da mineração. As intervenções antrópicas frequentemente introduzem processos degenerativos profundos, afetando todo um ecossistema, tornando esses locais mais instáveis e frágeis (Ross 1994).

Enquanto ambientes naturais apresentam tendência ao equilíbrio dinâmico, a ação antrópica frequentemente transforma essas áreas em unidades ecodinâmicas instáveis, nas quais os processos de degradação superam a capacidade natural de regeneração ambiental. No Brasil, a exploração histórica de recursos naturais, associada ao cultivo de cana-de-açúcar, café, soja e à extração mineral, promoveu profundas alterações na paisagem e no uso da terra, muitas vezes de maneira irreversível.

As consequências da antropização afetam diretamente os meios físico e químico dos ecossistemas. A ocupação humana favorece processos como erosão, compactação do solo e perda de fertilidade, comprometendo a qualidade ambiental e a produtividade natural das áreas afetadas. A mineração, em especial, destaca-se pelo elevado potencial degradador, promovendo destruição da cobertura vegetal, alteração drástica do relevo e intensa mobilização de sedimentos. Nos recursos hídricos, os impactos também são significativos, uma vez que os ecossistemas aquáticos refletem diretamente as condições de uso e ocupação das bacias hidrográficas. O assoreamento, a contaminação por esgoto não tratado e a presença de metais pesados tornam-se frequentes em ambientes antropizados. Esses contaminantes apresentam alta persistência ambiental, baixa degradabilidade e tendência ao acúmulo nos sedimentos e nos organismos vivos. As alterações ambientais provocadas pela antropização afetam diretamente a saúde e o comportamento da fauna silvestre. O estresse crônico gerado pela degradação ambiental pode desencadear imunossupressão nos animais, aumentando sua vulnerabilidade a doenças infecciosas e ao desenvolvimento de câncer. Além disso, diversos poluentes presentes no ambiente podem causar danos ao DNA, comprometendo parâmetros reprodutivos, desenvolvimento embrionário e sobrevivência das espécies.

Não obstante, mineração é uma das atividades que geram impactos ambientais de maior grau, afetando solo, ar, água, fauna e flora (Da Silva et al. 2017). O “Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção” (2008) aponta a mineração como uma das principais causas que contribuem para a extinção de espécies de animais.

2.3.1. Rompimento da barragem B1 do Ribeirão Ferro-Carvão, em Brumadinho- Minas Gerais

Às 12h28min20s do dia 25 de janeiro de 2019, ocorreu o rompimento da Barragem I (B-I) da mina Córrego do Feijão, pertencente à Vale S.A., localizada no município de Brumadinho, em Minas Gerais, no Complexo Paraopeba II. O colapso da barragem provocou, em sequência, o rompimento das barragens B-IV e B-IV-A, ocasionando o carreamento de aproximadamente 12 milhões de metros cúbicos de rejeitos de mineração. Parte desse volume permaneceu na área da antiga B-I, enquanto cerca de 7,8 milhões de metros cúbicos foram depositados ao longo da calha do ribeirão Ferro-Carvão até sua confluência com o rio Paraopeba. O restante dos rejeitos atingiu a calha do rio Paraopeba, propagando-se até o remanso da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo, entre os municípios mineiros de Curvelo e Pompéu (“Histórico do rompimento das barragens da Vale na Mina Córrego do Feijão | MG.GOV.BR”, [s.d.]).

Ao longo da Bacia do Rio Paraopeba, diversos ecossistemas foram diretamente ou indiretamente afetados pelas consequências do desastre. Além das perdas humanas, os rejeitos liberados comprometeram a qualidade do solo, da água e da vegetação, impactando consequentemente a fauna da região. A pluma de rejeitos continha elevadas concentrações de metais, como ferro, manganês, alumínio, cromo, chumbo, cádmio e arsênio, elementos potencialmente tóxicos capazes de provocar efeitos ambientais e biológicos significativos nos organismos expostos (Parente et al. 2021).

Entretanto, estudos a longo prazo indicam que, embora o rompimento da barragem tenha causado toxicidade aguda imediata da água em 2019, o impacto direto dos metais derivados dos rejeitos na coluna d'água tornou-se comparativamente limitado três a cinco anos após o evento e os principais causadores da toxicidade do Rio Paraopeba atualmente são majoritariamente provenientes de efluentes urbanos e industriais (Lima et al. 2026).

2.4. Efeito de rompimento de barragens no ambiente

O rompimento de barragens de rejeitos de mineração, como os desastres de Brumadinho e Mariana, introduz grandes quantidades de metais e metalóides no ambiente, alterando significativamente a qualidade da água, do solo e a saúde da biota. Assim como a população, a fauna pode ser exposta a concentrações elevadas de metais através de diversas vias (Segura et al. 2016; Parente et al. 2021).

Exemplos de efeitos do rompimento da barragem de Brumadinho são a perda de vegetação, cerca de 2,7 km² de área, incluindo 133,27 hectares de Mata Atlântica nativa e 70,65 hectares de Áreas de Preservação Permanente (APP) e degradação da Mata Ciliar, havendo uma redução no vigor da vegetação ciliar ao longo do Rio Paraopeba, medida pelo índice NDVI (Thompson et al. 2020; Parente et al. 2021; Mendes et al. 2023).

As alterações físico-químicas na água são drásticas. A turbidez atinge níveis extremos (até 3.000 NTU em Brumadinho e 120.000 NTU em Mariana), bloqueando a luz para fotossíntese e reduzindo o oxigênio dissolvido, o que causa mortalidade massiva de peixes. Além do aumento severo nas concentrações de metais como Fe, Mn, Al, As, Hg e Pb. O mercúrio, por exemplo, chegou a ser detectado em níveis 21 vezes superiores ao aceitável. A contaminação persiste por anos devido à lixiviação contínua dos metais depositados nos sedimentos para a coluna d'água (Da Silva et al. 2016; Thompson et al. 2020; Mendes 2023).

O rejeito alterou a forma como os organismos interagem com os elementos químicos no ambiente. Os mais afetados são os peixes, pois a assimilação dos metais ocorre através das brânquias, pele e trato digestivo, provenientes de fontes abióticas (água e sedimento) ou bióticas (alimentação) e as macrófitas, que são plantas aquáticas, e apresentam altas taxas de bioacumulação (Parente et al. 2021).

2.5. Interação com metais provenientes da crosta terrestre

Naturalmente, os metais encontrados na crosta terrestre raramente aparecem isolados, existindo predominantemente nas formas de compostos inorgânicos, como óxidos, sulfetos ou sais de outros elementos, como ferro, sódio, cálcio e cobre. Muitos metais existem em múltiplos estados de oxidação, como o cromo, que varia de Cr²⁺ a Cr⁶⁺), o que determina sua mobilidade no ambiente. Alguns também podem ser sólidos, líquidos (como o mercúrio elementar, que é um líquido branco-prateado à temperatura ambiente) ou gases quando aquecidos (Jaishankar et al. 2014; Rehman et al. 2021).

No entanto, quando a concentração desses metais excede os níveis limiares recomendados, eles se tornam perigosos para organismos vivos. A toxicidade é frequentemente ditada pela especiação química (a forma específica do elemento). Em solos ácidos, o Al pode ser liberado em formas fitotóxicas, como o íon Al³⁺ que é prejudicial ao crescimento das raízes das plantas. As formas inorgânicas de As, como arsenito [As(III)] e arsenato [As(V)], são as mais letais. O arsenito é considerado entre 60 a 80 vezes mais tóxico que o arsenato. Enquanto o cromo hexavalente [Cr(VI)] é altamente solúvel, móvel e um potente carcinógeno humano, o cromo trivalente [Cr(III)] é menos móvel e atua como um

nutriente essencial para o metabolismo da glicose em doses baixas. A forma orgânica, especialmente o metilmercúrio, é extremamente perigosa por ser altamente neurotóxica e bioacumulativa, atravessando facilmente barreiras biológicas. O Pb é altamente tóxico em sua forma iônica (Pb^{2+}), pois possui a capacidade de substituir cátions essenciais (como Ca^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+}) em processos biológicos, perturbando o metabolismo celular (Jaishankar et al. 2014).

2.5.1. Vias de entrada no organismo

Os metais entram no organismo principalmente via inalação, ingestão de alimentos e água contaminados ou contato dérmico. As principais formas de interação são mimetismo iônico e substituição de metais essenciais. Eles substituem íons metálicos essenciais em seus locais de ligação em proteínas e enzimas, causando mau funcionamento celular (Witkowska et al. 2021).

O Pb e o Cd possuem semelhanças físico-químicas com o cálcio (Ca^{2+}) e o magnésio (Mg^{2+}), permitindo que se liguem a locais específicos em proteínas como a calmodulina e a proteína quinase C. Pb também inibe enzimas cruciais para a biossíntese do heme ao competir com o ferro e o zinco (Jan et al. 2015; Witkowska et al. 2021). O arsênio pentavalente (AsV), devido à sua semelhança estrutural com o fosfato, pode substituí-lo em reações químicas, resultando no desacoplamento da fosforilação oxidativa e no esgotamento das reservas de energia (ATP) da célula (Jan et al. 2015).

Os metais pesados têm alta afinidade por grupos sulfidríla ($-\text{SH}$) (tióis), selenidríla e nitrogênio presentes em proteínas e enzimas, o que altera suas estruturas e inativa suas funções. Hg liga-se fortemente a esses grupos, danificando a estrutura terciária e quaternária das proteínas e interferindo nos processos de transcrição e tradução. A forma trivalente do As pode inativar cerca de 200 enzimas, especialmente aquelas envolvidas no reparo e na replicação do DNA (Jan et al. 2015). A interação dos metais diretamente com o DNA e proteínas nucleares, causa quebras de fitas, mutações genéticas e inibe enzimas de reparo, o que promove o desenvolvimento de cânceres.

Além de frequentemente gerar Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), que superam as defesas antioxidantes do corpo. As ROS atacam os ácidos graxos das membranas celulares, alterando sua integridade, fluidez e permeabilidade, gerando peroxidação lipídica (Jaishankar et al. 2014; Jan et al. 2015; Witkowska et al. 2021). Diferente de outras substâncias, muitos metais pesados não são biodegradáveis e possuem meia-vida longa, acumulando-se no corpo ao longo do tempo. Cerca de 95% do Pb no corpo é

depositado nos ossos na forma de fosfato insolúvel, onde pode permanecer por décadas. O Cd e o Hg tendem a se acumular nos rins e no fígado, órgãos fundamentais para a filtragem e desintoxicação. O Hg elementar e formas orgânicas como o metilmercúrio são lipofílicos e atravessam facilmente barreiras hematoencefálicas e placentárias, atingindo o sistema nervoso central e fetos em desenvolvimento (Jaishankar et al. 2014; Jan et al. 2015; Witkowska et al. 2021).

2.5.1 Taxas de absorção e excreção em humanos

A principal via de entrada do Hg elementar (vapor) é a inalação, com uma taxa de absorção pulmonar de 75% a 85%. A absorção por contato dérmico é de apenas ~3% e pelo trato gastrointestinal é inferior a 0,1%. Já o metilmercúrio (orgânico) é prontamente absorvido pelo trato gastrointestinal, com taxas entre 90% e 100%. A absorção do Hg inorgânico após ingestão é baixa, estimada entre 7% e 15%. Sua excreção ocorre através do suor, urina, fezes e saliva. No caso do metilmercúrio, 90% são excretados na bile e fezes, e apenas 10% na urina (Jaishankar et al. 2014; Jan et al. 2015).

As formas solúveis de As são prontamente absorvidas pelo trato gastrointestinal, com uma taxa superior a 90%. O As trivalente (AsIII) é acumulado de forma mais eficiente do que o pentavalente (AsV). Para a excreção, o corpo utiliza a biometilação como processo de desintoxicação, convertendo arsênio em compostos metilados (MMA e DMA) que são eliminados principalmente pela urina. Estima-se que 60-70% seja eliminado via renal e 80-90% através da bile (Jaishankar et al. 2014; Jan et al. 2015).

A absorção pulmonar (por fumaça de tabaco ou poeira) do Cd é de cerca de 50%, enquanto a absorção pelo trato gastrointestinal é bem menor. Uma vez absorvido, o Cd acumula-se no corpo por toda a vida. Enquanto a excreção é extremamente lenta. A presença na urina é um indicador de dano renal crônico; a excreção de 2,5 mg de Cd pode indicar um dano irreversível de 4% nos túbulos renais. (Jaishankar et al. 2014; Jan et al. 2015).

A absorção intestinal do chumbo depende da idade e do estado nutricional. Crianças absorvem de forma muito mais eficiente do que adultos devido ao seu rápido crescimento. A excreção é realizada principalmente pelos rins. No entanto, o chumbo tem uma meia-vida longa, permanecendo no sangue por cerca de 30 dias, mas podendo ficar retido nos ossos por décadas (Jaishankar et al. 2014; Jan et al. 2015).

O Ni entra no corpo por ingestão, inalação ou contato dérmico. Ao contrário de outros metais pesados, as fontes indicam que ele não tende a se acumular severamente, sendo majoritariamente excretado (Jaishankar et al. 2014; Jan et al. 2015).

O Al geralmente é pobremente absorvido pelos seres humanos. A excreção ocorre por atividades normais de eliminação, mas pacientes com doenças renais têm grande dificuldade em eliminá-lo, o que leva ao acúmulo nos ossos e no cérebro (Jaishankar et al. 2014; Jan et al. 2015).

2.5.3. Limites de segurança para metais pesados no organismo humano

Os limites máximos permitidos para metais são estabelecidos por organizações internacionais como a Organização Mundial da Saúde (OMS), a EPA (Agência de Proteção Ambiental dos EUA) e o CDC (Centros de Controle e Prevenção de Doenças) com o objetivo de proteger a saúde humana contra os efeitos tóxicos decorrentes da exposição a esses elementos.

De acordo com as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS), as concentrações máximas recomendadas para alguns dos principais metais presentes na água são de 10 µg/L para As, 0,01 mg/L (ou 10 µg/L) para Pb, 0,001 mg/L para Hg, 10 µg/L para Cd, 0,05 mg/L para Cr, 0,2 mg/L para Ni, 2 mg/L para Cu, 0,2 mg/L para Al e 0,5 mg/L Mn. No caso Hg, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) estabelece um limite ligeiramente superior, de 0,002 mg/L (Rehman 2021).

Além dos padrões para água potável, existem parâmetros relacionados à exposição humana e aos limites de ingestão considerados seguros. Segundo recomendações da OMS a ingestão semanal tolerável para mercúrio é de 0,0016 mg por quilograma de peso corporal, enquanto para chumbo, cádmio e arsênio os valores são de 0,025 mg/kg, 0,007 mg/kg e 0,015 mg/kg de peso corporal, respectivamente (Jan et al. 2015; Witkowska et al. 2021)

A avaliação da exposição também pode ser realizada por meio de biomarcadores. Para o chumbo, por exemplo, os níveis sanguíneos (Blood Lead Levels – BLL) são amplamente utilizados como indicador de exposição. Atualmente, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) adota um valor de referência de 3,5 µg/dL para crianças. Níveis entre 30 e 49,9 µg/dL em trabalhadores expostos ocupacionalmente. Para o mercúrio orgânico, especialmente o metilmercúrio, concentrações superiores a 5 µg/L no sangue total ou acima de 1 µg/g no cabelo estão associadas à ocorrência de efeitos adversos à saúde (Jan et al. 2015; Witkowska et al. 2021).

Também existem regulamentações específicas para a presença de metais em alimentos e produtos cosméticos. No caso do arroz, um dos alimentos mais suscetíveis ao acúmulo de As, a OMS estabelece limites máximos de 200 µg/kg para arroz branco e 400 µg/kg para arroz integral. Em produtos cosméticos, a Food and Drug Administration (FDA) estabelece

um limite máximo de 3 ppm de As em aditivos de cor. Para Hg presente em produtos cosméticos, tanto a OMS quanto a FDA recomendam concentrações máximas de 65 ppm (partes por milhão), visando minimizar os riscos associados à exposição crônica a esse metal (Jan et al. 2015).

2.6. Métodos para avaliar acúmulo de metais em amostras biológicas

A avaliação dos níveis de contaminação pode fornecer informações relevantes sobre a bioacumulação de metais pesados nos organismos, sendo crucial para o desenvolvimento de estratégias de conservação e recuperação do ecossistema na região que foi afetada. Além das análises de bioacumulação nesses indivíduos, a estimativa do tamanho do genoma possui grande importância em análises toxicológicas porque fornece informações fundamentais sobre a organização genética, estabilidade celular e possíveis impactos de agentes tóxicos sobre o material genético.

2.6.1. Preparação de amostras: digestão, contaminação cruzada, materiais de referência, controle de qualidade (QA/QC).

A preparação de amostras é uma das etapas mais críticas para o sucesso do experimento, pois se o material não for preparado corretamente, a análise poderá obter resultados errôneos. De acordo com Rodushkin (1999), a preparação correta ou incorreta das amostras interfere nos limites de detecção, na precisão, na exatidão, na recuperação dos analitos, nas interferências de matriz e na contaminação. Portanto, uma preparação deve evitar contaminação, minimizar perdas, garantir digestão completa, preservar os analitos, produzir soluções homogêneas e compatibilizar a amostra com o equipamento analítico.

Existem diversos tipos de digestão de amostras, sendo a principal delas a digestão via úmida (digestão ácida), que consiste no uso de ácidos fortes para decompor a matéria orgânica e solubilizar os elementos. Esse tipo de digestão possui duas formas: Sistema aberto, no qual a digestão ocorre em recipientes abertos sobre chapa aquecedora, bloco digestor ou manta térmica; e o sistema fechado (micro-ondas), que utiliza recipientes fechados submetidos a alta pressão e alta temperatura.

A contaminação cruzada ocorre quando elementos ou substâncias de uma amostra contaminam outra amostra, reagente ou material analítico, causando interferência nos resultados. As principais causas de contaminação cruzada são vidrarias mal lavadas, reagentes impuros, contato manual, ambiente laboratorial inadequado e instrumentos inadequadamente

limpos. Portanto, a limpeza rigorosa de materiais, equipamentos, ambiente laboratorial e utensílios devem ser constantes. Além disso, deve evitar o contato entre as amostras.

O preparo de amostras de tecido animal tem como principal objetivo transformar a matriz biológica em uma solução homogênea, livre de interferências e adequada para análise química. Para garantir a integridade da amostra e a confiabilidade dos resultados analíticos, são necessárias etapas de armazenamento, secagem e homogeneização.

Inicialmente, as amostras são armazenadas sob congelamento, geralmente em temperaturas entre -20°C e -80°C . Esse procedimento é fundamental para preservar suas características originais, uma vez que reduz a degradação biológica, inibe a atividade microbiana e minimiza alterações químicas na matriz durante o período de armazenamento.

Antes da etapa de digestão, as amostras passam por um processo de secagem em estufa, com o objetivo de remover a água presente nos tecidos. A eliminação da umidade é importante para a padronização da massa seca utilizada nas análises, além de proporcionar maior estabilidade e conservação do material. Após a secagem, as amostras são homogeneizadas, garantindo uma distribuição uniforme de seus constituintes e aumentando a representatividade da porção analisada. Dessa forma, o preparo adequado das amostras contribui para a obtenção de resultados mais precisos e confiáveis.

A água interfere diretamente na eficiência da oxidação da matéria orgânica e dilui os reagentes digestores. A remoção da umidade melhora a digestão, reduz interferências e aumenta a precisão, exatidão e confiabilidade das análises por ICP-OES. A presença excessiva de água na digestão pode causar digestão incompleta, aumento do branco analítico, instabilidade do plasma, interferências físicas e menor sensibilidade analítica. (Krug 2008).

A garantia da qualidade (QA) assegura que todos os procedimentos sejam executados de forma padronizada, sendo eles: padronização dos métodos analíticos, o treinamento adequado dos profissionais envolvidos, a calibração periódica dos equipamentos e a validação metodológica, que verifica a adequação do método para a finalidade pretendida. Além disso, a documentação detalhada de todas as etapas e a manutenção instrumental regular são fundamentais para garantir a conformidade dos processos e minimizar a ocorrência de erros (Hakani 2019).

O controle da qualidade (QC) consiste em procedimentos operacionais aplicados durante a execução das análises para monitorar e verificar a qualidade dos resultados obtidos sendo eles: as análises em duplicata, que avaliam a precisão dos resultados; as curvas analíticas, empregadas para a quantificação dos analitos; e os padrões internos, que auxiliam na correção de possíveis variações instrumentais. Também são utilizados brancos analíticos

para identificar contaminações, testes de recuperação para avaliar a exatidão do método e ferramentas de controle estatístico para monitorar o desempenho analítico ao longo do tempo. Outra prática importante é a análise de Materiais de Referência Certificados (Certified Reference Materials – CRM), que possuem concentrações conhecidas dos analitos de interesse e permitem verificar a exatidão e a confiabilidade dos resultados gerados (Hakkani 2019).

2.6.2. Técnicas analíticas: princípios gerais (ICP-OES), limites de detecção, interferências de matriz e correções

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) é uma técnica analítica versátil para a determinação de elementos traços em diversas matrizes.

Em 1964, Greenfield e Berry publicaram um trabalho que é considerado um dos marcos iniciais do uso do plasma indutivamente acoplado em espectrometria. Posteriormente, Montaser e Golightly consolidaram os princípios instrumentais e analíticos do ICP em espectrometria atômica, tornando a técnica amplamente utilizada em laboratórios de rotina e pesquisa. Essas descobertas foram extremamente importantes para o desenvolvimento posterior da técnica de ICP-OES, considerada hoje uma das principais técnicas de análise elementar em química analítica, toxicologia e monitoramento ambiental.

De acordo com Al-Hakkani (2019), em comparação ao ICP-MS, o ICP-OES possui menor custo operacional e maior tolerância a matrizes complexas. Embora apresente sensibilidade inferior, a determinação simultânea de elementos químicos em diferentes tipos de amostras é uma vantagem. Seu princípio de funcionamento baseia-se na emissão de radiação por átomos e íons excitados em um plasma de argônio de alta temperatura. Inicialmente, a amostra líquida é introduzida no equipamento por meio de um nebulizador, que a converte em um aerossol fino. Esse aerossol é então transportado por um fluxo de gás argônio até a tocha de plasma. No interior do plasma, que atinge temperaturas extremamente elevadas, entre 6000 e 10000 K, ocorrem sucessivamente os processos de dessolvatação, vaporização, atomização, ionização e excitação atômica dos elementos presentes na amostra.

Quando os elétrons dos átomos e íons excitados retornam ao estado fundamental, ocorre a emissão de luz em comprimentos de onda específicos e característicos de cada elemento químico. Essa radiação emitida é direcionada para um sistema óptico, responsável por separar os diferentes comprimentos de onda. Em seguida, um detector converte os sinais ópticos em dados quantitativos, permitindo a determinação das concentrações dos elementos analisados.

Um dos parâmetros mais importantes da técnica é o limite de detecção (LOD – Limit of Detection), que corresponde à menor concentração de um elemento que pode ser detectada com confiança estatística, distinguindo-se do ruído de fundo do sistema. Em análises por ICP-OES, os limites de detecção geralmente são expressos em partes por milhão (ppm ou mg/L) e partes por bilhão (ppb ou µg/L), sendo que 1 ppm equivale aproximadamente a 1 mg/L e 1 ppb corresponde a cerca de 1 µg/L. Segundo Rodushkin (1999), os limites de detecção dependem não apenas do desempenho instrumental, mas também da qualidade do preparo das amostras.

Outro aspecto relevante são as interferências de matriz, que ocorrem quando componentes presentes na amostra alteram a intensidade do sinal analítico, comprometendo a exatidão e a precisão dos resultados. Matrizes contendo elevadas concentrações de sais, matéria orgânica ou alta viscosidade podem provocar interferências espectrais, aumento do sinal de fundo e instabilidade do plasma. Como consequência, há redução da sensibilidade analítica e aumento dos limites de detecção. Dessa forma, a etapa de preparação das amostras deve ser realizada de maneira criteriosa, com especial atenção ao processo de digestão, considerado uma das fases mais críticas para garantir a qualidade e a confiabilidade dos resultados obtidos por ICP-OES.

2.7. Tamanho do genoma: definição, metodologia de estudo e atualização do conhecimento em capivaras

De um modo geral, o tamanho do genoma refere-se à quantidade de DNA contida em um genoma haplóide, expressa em termos do número de pares de bases, kilobases (1 kb = 1000 pb) ou megabases (1 Mb = 1 000 000 pb), ou como a massa de DNA em picogramas (1 pg = 10–12 g). Atualmente essa estimativa pode ser feita através de duas técnicas: citometria de fluxo ou análise de k-mers.

A citometria de fluxo é uma tecnologia utilizada para a medição e análise simultânea de múltiplas características físicas, químicas e biológicas de células ou partículas em uma suspensão líquida (Dos Santos et al. 2017)

A técnica funciona através da passagem individual das partículas em um fluxo contínuo por um feixe de luz de alta intensidade, geralmente um laser. A análise baseia-se em dois princípios principais: dispersão da luz (Scattering), quando o laser intercepta a célula, a luz é dispersa em diferentes direções, fornecendo informações sobre o tamanho (forward scatter - FSC) e a granularidade ou complexidade interna (side scatter - SSC) da partícula e a fluorescência, que detecta a luz emitida por moléculas fluorescentes (fluorocromos) que

podem ser intrínsecas à célula ou, mais comumente, acopladas a anticorpos específicos para marcar componentes celulares como proteínas de superfície, citoplasma ou ácidos nucleicos (Silva et al. 2004; Dos Santos et al. 2017; Costa 2020).

A citometria de fluxo destaca-se como o método de escolha para análises multiparamétricas, pois consegue avaliar diversos parâmetros simultaneamente em cada célula individualmente. Essa capacidade permite identificar e quantificar diferentes subconjuntos de células dentro de uma amostra heterogênea em um curto período de tempo (Costa 2020). Além da análise analítica, alguns equipamentos (denominados *Cell Sorters*) permitem a separação ou purificação (*sorting*) de populações celulares de interesse a partir de critérios biológicos pré definidos, possibilitando que essas células puras sejam utilizadas em estudos posteriores, como ensaios funcionais ou biologia molecular (Dos Santos et al. 2017; Costa 2020).

2.7.1. Relevância da citometria de fluxo para o avanço científico na atualidade

A citometria de fluxo tem sido considerada uma tecnologia fundamental tanto na pesquisa científica quanto na prática clínica. Na área da medicina diagnóstica e monitoramento clínico é a ferramenta de escolha para o diagnóstico e classificação precisa de leucemias e linfomas, permitindo identificar subtipos que métodos morfológicos tradicionais não conseguem distinguir (Martins et al. 2013). Também é crucial na detecção da doença residual mínima, monitorando pequenas quantidades de células cancerígenas que resistem ao tratamento e permite avaliar a ploidia das células e a distribuição nas fases do ciclo celular, o que é vital para estudos sobre proliferação e câncer (Dos Santos et al. 2017; Costa 2020). Além de ser o método padrão para determinar a relação entre linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, essencial para o monitoramento do HIV e a eficácia da terapia antirretroviral (Dos Santos et al. 2017).

Esta metodologia tem muitas utilidades e vantagens, tanto para os seres humanos, quanto para o ecossistema como um todo. A citometria de fluxo tornou-se a técnica padrão para monitorar populações de fito e zooplânctons, fornecendo dados acurados sobre a qualidade da água e a dinâmica de ecossistemas aquáticos (Dos Santos et al. 2017; Costa 2020). Além de facilitar a identificação de células-tronco e a avaliação da resposta imune em animais frente a infecções e transplantes (Nakage et al. 2005).

2.7.2. Conhecimento em capivaras

Ainda há uma lacuna científica no conhecimento do tamanho estimado do genoma das capivaras, considerando que as primeiras pesquisas mais detalhadas e significativas são recentes. Babarinde e Saitou (2020) que realizaram o sequenciamento do genoma rascunho (draft genome) e estimaram o tamanho total em aproximadamente 2,62 a 2,7 Gb (bilhões de pares de bases). Essa estimativa foi baseada na análise da distribuição de k-mer (19-mer) a partir dos dados de sequenciamento. Também em 2020 Herrera-Alvarez et al. publicou o artigo que tem como foco as adaptações genéticas que permitiram à capivara tornar-se o maior roedor do mundo. Foram identificados genes sob seleção positiva relacionados ao crescimento ósseo pós-natal e desenvolvimento musculoesquelético, especificamente nas vias de sinalização IIS (insulina/fator de crescimento semelhante à insulina) e TGF β . O estudo também destaca a expansão de famílias gênicas (*MAGEB5* e *GZMB*) envolvidas na supressão tumoral mediada por células T.

Em 2024 Da Silva e colaboradores publicaram um estudo que forneceu a montagem e anotação detalhada do genoma mitocondrial completo da capivara, revelando que ele possui uma topologia circular com 16.681 pares de bases. Foram identificados exatamente 37 genes, sendo 13 genes de proteínas codificadoras (PCGs), 22 RNAs transportadores (tRNAs) e 2 RNAs ribossomais (rRNAs). A análise filogenética foi realizada com base nos 13 genes codificadores de proteínas de 42 genomas de Caviomorpha e a capivara foi recuperada como um grupo irmão do gênero *Cavia* (que inclui o porquinho-da-índia e o preá) com alto suporte estatístico e confirmou que a família Caviidae é um grupo monofilético.

3.OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Caracterizar elementos químicos em diferentes amostras biológicas e estimar o tamanho do genoma de capivaras da Bacia do Rio Paraopeba.

3.2. Objetivos específicos

- Detectar e descrever o perfil de elementos químicos em cada amostra biológica obtida de capivaras de vida livre, pelos, fezes, sangue e soro.
- Estimar tamanho do genoma por indivíduo e por sexo, obtendo médias por população.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais e comitê de ética

As atividades foram conduzidas no âmbito do *Programa de Diagnóstico de Danos sobre o Meio Biótico*, desenvolvido pela UFV em parceria com a Amplo Engenharia e Gestão de Projetos e Vale. Neste experimento, foram utilizadas 20 capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas, 6 machos e 14 fêmeas, procedentes da Bacia do Rio Paraopeba. Todos os procedimentos experimentais foram avaliados e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais Experimentais da UFV (número de protocolo 68/2023).

4.2. Delineamento experimental

A amostragem de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) foi realizada em quatro regiões ao longo do sistema fluvial monitorado, da nascente à foz, na seguinte ordem: um sítio amostral na região do Salto do Paraopeba, seguido do sítio localizado no trecho do rio pouco acima da confluência do ribeirão Casa Branca até jusante da mancha urbana de Brumadinho/MG, do terceiro ponto na região a montante da UHE Retiro Baixo e, por fim, no reservatório de Três Marias até a Estação Ecológica de Pirapitinga.

Em cada região amostral, os pontos para captura foram selecionados em busca ativa diurna e avaliação em campo, priorizando locais sombreados, planos e próximos ao curso d'água, associados à presença de vestígios dos animais (fezes, pegadas e/ou alimentos roídos), bem como critérios logísticos de acesso e segurança operacional.

A captura foi realizada por meio de bretes com porta-armadilha, precedida por etapa de ceva. Após selecionados os pontos, foi iniciada a atração dos indivíduos com oferta de alimentos, incluindo cana-de-açúcar, silagem e milho em espiga, disponibilizados nos pontos e renovados diariamente no período da tarde até a conclusão da captura e manejo dos animais.

Após o início da ceva, diariamente, foi realizada a inspeção nos pontos selecionados para a instalação dos bretes e, à medida que fossem observados vestígios recentes (fezes, pegadas e/ou alimentos roídos) ou presença dos animais, era iniciada a construção gradativa do brete com a instalação de duas placas por dia, de acordo com a resposta das capivaras à ceva, até a conclusão com a armação da porta-armadilha. Os bretes apresentaram dimensões padronizadas de 6,0 m × 4,0 m × 1,5 m e, quando aplicável, foi construída no interior uma barreira de segurança medindo 4,0 m × 2,0 m × 1,5 m, permitindo manejo sequencial e reduzindo riscos durante a contenção e os procedimentos.

A conclusão da instalação dos bretes ocorria no período da manhã, enquanto a armação da porta-armadilha era realizada ao final da tarde, no último dia de montagem, considerando o hábito de forrageamento crepuscular/noturno da espécie. Após a instalação, a estrutura era conferida diariamente pela manhã para identificar a presença de animais e, quando ausentes, a porta-armadilha era aberta/desarmada; no período da tarde era realizada a reposição da ceva e água e a armação da porta-armadilha.

Ao observar a presença de animais no interior do brete, os técnicos realizavam a classificação etária e definiam o manejo, priorizando indivíduos classificados como adultos e jovens/subadultos.

4.3. Contenção animal e coleta de material biológico

A contenção química foi realizada por médico veterinário, com alveijamento por dardos anestésicos com auxílio de zarabatana, com dose ajustada conforme estimativa de peso. O protocolo anestésico de referência adotado foi composto por cetamina 10% (8 mg/kg), midazolam (0,3 mg/kg) e detomidina (0,04 mg/kg).

Durante o procedimento, os indivíduos foram monitorados clinicamente, com aferição dos parâmetros vitais, como temperatura corporal, frequência cardíaca e respiratória, além de medição da saturação sanguínea de oxigênio através de oxímetro portátil, com o sensor colocado na língua. O retorno anestésico era acompanhado pela equipe, mantendo-se em observação até que o animal recuperasse estado de alerta e comportamento típico da espécie, momento em que era realizada a soltura.

Para rastreabilidade e controle de recaptura, cada indivíduo era inicialmente submetido à inspeção com leitor de microchip em busca de transponder e à avaliação de sinais de marcação auricular (por exemplo, evidência de perda prévia de brinco). Quando detectada marcação pré-existente, os registros eram conferidos com dados de campanhas anteriores e o animal era mantido sob sua identificação original, sem realização de nova marcação.

Na ausência de marcação preexistente, procedia-se à marcação individual com brinco numerado e implantação de microchip, com registro do número do transponder e da localização anatômica de implantação, garantindo rastreabilidade dos indivíduos entre campanhas.

As coletas foram direcionadas às análises de genotoxicidade e bioacumulação/toxicologia, com registro digital dos dados de campo e rastreabilidade das amostras por sistema ODK Collect. Para genotoxicidade, foi coletado sangue heparinizado (10 mL), sendo 2 mL criopreservados como sangue total em nitrogênio líquido e 8 mL

centrifugados; após centrifugação, a camada leucocitária foi removida, transferida para criotubo e adicionado tampão de congelamento com DMSO 15% na proporção 1:1, com posterior criopreservação em nitrogênio líquido.

Para bioacumulação/toxicologia, foi coletado sangue heparinizado (20 mL), sendo 10 mL distribuídos em cinco criotubos (2 mL) para criopreservação em nitrogênio líquido e 10 mL centrifugados para separação e coleta do soro; adicionalmente, o soro obtido após a centrifugação das amostras destinadas à genotoxicidade foi direcionado para complementação das análises de toxicologia/bioacumulação, com posterior aliquotagem e criopreservação.

As amostras de pelos (10 g) foram obtidas a partir do bulbo e acondicionadas em saco tipo Zip Lock®, devidamente identificadas, e as amostras de fezes (10g) foram coletadas do reto, acondicionadas em tubo coletor universal e mantidas congeladas.

O processamento e a conservação das amostras ocorreram durante a campanha, garantindo estabilidade por criopreservação em nitrogênio líquido quando aplicável e armazenamento adequado até a destinação final. Todas as amostras foram catalogadas com apoio de smartphone contendo o sistema ODK Collect, e no botijão de nitrogênio cada canister correspondeu às amostras de um único animal, identificado por etiqueta associada ao microchip do indivíduo capturado e manejado. Ao término das atividades, as amostras foram processadas, identificadas e encaminhadas para a Universidade Federal de Viçosa (Viçosa/MG), no Departamento de Biologia Geral e laboratórios associados às análises do projeto, conforme a destinação técnica definida.

4.4. Preparação das amostras para análise de bioacumulação de metais

O processamento das amostras biológicas foi realizado seguindo um protocolo padronizado para obtenção dos extratos minerais destinados à análise de metais. Inicialmente, foi conferida a identificação de cada amostra armazenada em freezer. Em seguida, as amostras de sangue, soro e fezes foram completamente descongeladas à temperatura ambiente. As amostras de pelos passaram por sucessivas lavagens com água destilada antes da secagem.

As amostras de pelos e fezes foram preparadas para digestão mediante secagem em estufa a 50–60 °C até atingirem peso constante, monitorado em balança de precisão. Para isso, cada amostra foi acondicionada em placa de Petri previamente identificada. Foram utilizados, no mínimo, 100 mg de matéria seca de cada tecido. Após a secagem completa, as amostras foram armazenadas em ambiente livre de umidade, utilizando sílica como agente dessecante, até o momento da obtenção dos extratos minerais.

Para as amostras de sangue e soro, foram identificados tubos de digestão nos quais foi adicionado 1 mL de amostra por meio de pipeta automática. Posteriormente, os tubos foram mantidos em estufa a 50–60 °C até a completa evaporação da fase líquida. Após a secagem, as amostras seguiram diretamente para o processo de digestão.

A digestão ácida foi realizada de forma semelhante para todos os tipos de amostras. Inicialmente, foram identificados os tubos de digestão e os frascos destinados ao armazenamento dos extratos minerais. Para as amostras sólidas previamente secas (pelos e fezes), aproximadamente 100 mg de material foram pesados e transferidos para tubos de digestão. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de solução digestora composta por ácido nítrico (HNO_3) e ácido perclórico (HClO_4) na proporção de 2:1 (v/v). Os três primeiros tubos foram reservados para os brancos analíticos, contendo apenas a solução digestora, enquanto os demais receberam as amostras.

Os tubos foram posicionados em bloco digestor, cuja temperatura foi elevada gradualmente até 90 °C, permanecendo nessa condição por aproximadamente 45 minutos. Nessa etapa, ocorreu a evaporação do ácido nítrico, caracterizando uma pré-digestão da amostra. Após a eliminação completa do HNO_3 , a temperatura aumentou e o ácido perclórico passou a atuar como agente oxidante, promovendo a digestão da matéria orgânica. Durante esse processo, a temperatura foi mantida abaixo de 220 °C. O aquecimento foi interrompido quando se observou a formação de névoa esbranquiçada, indicativa da volatilização do HClO_4 , e quando a solução apresentou aspecto transparente.

Após a digestão, os tubos foram resfriados e o conteúdo foi diluído com água deionizada. Em seguida, o material foi transferido quantitativamente para balões volumétricos de 10 mL, completando-se o volume com água deionizada. As soluções obtidas foram filtradas e armazenadas em frascos hermeticamente fechados. Os extratos minerais permaneceram refrigerados até a realização das análises de metais por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Os resultados foram expressos em microgramas por grama de amostra seca ($\mu\text{g g}^{-1}$).

4.5. Estimativa do tamanho do genoma e análise em citometria de fluxo

100 μL de sangue periférico não coagulado foram transferidos com o auxílio de uma micropipeta para um microtubo de 1,5 mL contendo 500 μL do tampão de extração nuclear OTTO I (0,1 M de ácido cítrico, 0.5% de Tween 20 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de RNase, pH = 2.3).

A solução contendo as células sanguíneas permaneceu incubada por 10 min a temperatura ambiente. Ao final do período de incubação, foram acrescidos 1000 μL de tampão

OTTO I (duas vezes de 500 μ L) e o material filtrado em membrana de 30 μ m de diâmetro a um tubo Eppendorf de 2,0 ml. Os tubos foram centrifugados a 100 xg por 5 min, e o sobrenadante descartado cuidadosamente.

O material precipitado foi ressuspenso em 100 μ L do tampão OTTO I com o auxílio de um vortex e permaneceu incubado por 5 min à temperatura ambiente. Decorrido esse tempo, a suspensão celular foi corada com 500 μ L do tampão OTTO II (0.4 μ M de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ suplementado com 75 μ M de iodeto de propídio e 50 μ g ml⁻¹ de RNase pH 7.8) por 30 min no escuro à temperatura ambiente.

Após, a suspensão nuclear corada foi filtrada em membrana de 20 μ m para um tubo de acrílico (Sarsted) específico para análise em citômetro de fluxo. Os tubos foram acoplados à plataforma de análise no citômetro de fluxo e pelo menos três repetições foram realizadas por amostra biológica. Os histogramas obtidos foram analisados com o auxílio do software BD Accuri™ e do software BD Accuri™ C6. Todos esses dados foram plotados em uma tabela para comparação dos parâmetros entre amostras, entre repetições e em relação aos materiais controle.

4.6. Análise dos dados

Os dados foram analisados descritivamente quanto à concentração dos elementos químicos encontrados nas amostras e ao tamanho do genoma. Os resultados foram apresentados como média e desvio-padrão

5.RESULTADOS

5.1. Quantificação de elementos químicos em amostras de capivara

Os resultados das análises de metais por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) das matrizes de pelo, fezes, sangue e soro evidenciaram diferenças na distribuição e no acúmulo dos elementos em capivaras. No pelo, as concentrações dos elementos ferro e alumínio foram muito elevadas (>1000 ppm) (tabela 1). Em contrapartida, o cádmio foi o único que apresentou uma concentração menor que 1 ppm (tabela 1). O manganês teve a maior concentração depois do Fe e Al (>100pp) Enquanto os outros detectados nas amostras foram bem abaixo (2 a 16 ppm) (tabela 1).

Nas fezes, ferro e alumínio também apresentaram as maiores concentrações (>1000 ppm). Enquanto arsênio, cádmio e cobalto tiveram concentrações abaixo de 1ppm (tabela 1), o manganês se destacou depois do Al e Fe (> 400 ppm).

Nas matrizes sanguíneas, sangue e soro, arsênio, cádmio, cobalto e níquel não foram detectados. No sangue o manganês não foi detectado. No entanto, o ferro teve uma alta concentração no sangue (>100 ppm). O alumínio e o ferro foram os únicos elementos acima de 5 ppm nas duas matrizes (tabela 1).

Tabela 1. Média $\pm$ desvio-padrão das concentrações dos elementos químicos em amostras biológicas de capivaras provenientes da Bacia do Paraopeba.

<i>Elementos químicos (ppm)</i>	<i>Pelo</i>	<i>Fezes</i>	<i>Sangue</i>	<i>Soro</i>
<i>Alumínio</i>	2871,93 $\pm$ 805,23	5213,71 $\pm$ 3749,64	4,33 $\pm$ 4,92	4,90 $\pm$ 4,30
<i>Arsênio</i>	3,26 $\pm$ 2,99	0,16 $\pm$ 0,47	-	-
<i>Chumbo</i>	5,90 $\pm$ 6,33	6,49 $\pm$ 10,63	0,15 $\pm$ 0,37	0,53 $\pm$ 1,07
<i>Cobre</i>	15,66 $\pm$ 5,00	16,32 $\pm$ 5,59	0,60 $\pm$ 0,17	1,54 $\pm$ 2,43
<i>Ferro</i>	3894,07 $\pm$ 3230,21	7626,42 $\pm$ 6950,90	392,57 $\pm$ 51,21	5,22 $\pm$ 2,44
<i>Cádmio</i>	0,85 $\pm$ 0,99	0,38 $\pm$ 1,02	-	-
<i>Cromo</i>	3,09 $\pm$ 1,33	5,10 $\pm$ 2,97	0,03 $\pm$ 0,06	0,02 $\pm$ 0,05
<i>Cobalto</i>	2,61 $\pm$ 1,40	0,95 $\pm$ 1,21	-	-
<i>Níquel</i>	5,28 $\pm$ 1,43	4,07 $\pm$ 2,27	-	-
<i>Manganês</i>	159,08 $\pm$ 59,29	550,99 $\pm$ 301,72	-	0,01 $\pm$ 0,03

5.2. Estimativa do tamanho do genoma em amostras de capivaras por citometria de fluxo

Amostras de sangue periférico heparinizado e criopreservado de 20 capivaras foram avaliadas por citometria de fluxo. O conteúdo de DNA foi definido considerando como padrão de referência *Drosophila melanogaster* fêmea ($2C = 0,36$ pg).

Considerando todos os animais avaliados, o conteúdo médio de DNA obtido para a espécie foi de $2C = 6,8$ pg, com desvio padrão de 0,47. O conteúdo de DNA médio para machos e fêmeas não apresentou diferença significativa, sendo $2C = 6,89$ pg para fêmeas e $2C = 6,61$ pg para machos.

Tabela 2. Tamanho do genoma por indivíduos fêmeas (n=14) em picogramas e megabases, média (μ) e desvio padrão (σ).

<i>Tamanho do genoma em Pg</i>	<i>Tamanho do genoma em Mpb</i>
6,72	6179,69
6,79	6412,53
6,32	6482,94
6,55	6521,49
6,63	6525,2
6,67	6531,07
6,67	6578,61
6,68	6641,68
6,81	6663,17
6,85	6700,04
6,89	6743,8
7,06	6911,09
7,30	7147,71
8,44	8261,36
μ 6,88	6618,38
σ 0,23	476,43

Tabela 3. Tamanho do genoma por indivíduos machos (n=6) em picogramas e megabases, média (μ) e desvio padrão (σ).

<i>Tamanho do genoma em Pg</i>	<i>Tamanho do genoma em Mpb</i>
6,32	6183,11
6,41	6275,2
6,47	6327,42
6,51	6365,37
6,61	6467,1
7,37	7214,02
μ 6,61	6727,65
σ 0,12	342,80

6.DISCUSSÃO

O Al e o Fe estão detectados em todas as matrizes e em altas concentrações no pelo e nas fezes. De maneira geral, isso pode ser explicado porque esses elementos estão altamente presentes na crosta terrestre, sendo o alumínio o terceiro e o ferro o quarto elemento mais abundante. A região da bacia do rio Paraopeba, por estar localizada no Quadrilátero Ferrífero, já possuía um solo com um material geológico rico em minério de ferro e alumínio. Após as atividades de mineração a distribuição e disponibilidade desses elementos nos ecossistemas foi completamente alterada (Coelho et al. 2017). É importante lembrar que, apesar da alta concentração, o ferro é um elemento essencial para o nosso organismo, sendo um componente vital da hemoglobina e mioglobina, bem como de enzimas como citocromos e catalases. O alumínio por sua vez é um metal tóxico, ele pode substituir inclusive o ferro, causando distúrbios na comunicação intercelular, crescimento celular e funções secretoras além de ser um potente neurotóxico (Jaishankar et al. 2014).

O pelo é a matriz que apresentou uma das concentrações mais altas em todos os elementos. A principal justificativa para isso ter ocorrido é o contato direto com o ambiente todo tempo. O pelo recobre quase 100% do corpo da capivara, portanto tudo que encosta nela, na realidade está em contato direto com o pelo. Outro fator importante é que, diferente da maioria dos mamíferos, a capivara não faz troca de pelo, portanto um indivíduo adulto tem a mesma pelagem de quando ele era jovem, sendo assim uma matriz capaz de acumular elementos durante toda a vida do animal. O pelo é uma estrutura formada por tecido epitelial,

composto por queratina que é uma proteína, proteínas interagem com alguns elementos e ficam presos no pelo. Alguns desses metais que se ligam à queratina são arsênio, cromo, cádmio e cobre (Klaassen 2019).

Nas fezes também foram detectadas altas concentrações de ferro e alumínio e também todos os elementos químicos selecionados para análise. Uma vez que a principal forma de absorção dos metais é pelo trato intestinal e considerando que as capivaras comem cerca de 3kg de forragem por dia, os altos índices nas análises das fezes se justificam. Outro motivo que pode ser levado em consideração é o fato delas realizarem cecofagia (Herrera 1985), portanto o metal que está sendo excretado pode também ser reabsorvido. Na tabela 4 é possível ver as taxas de absorção e excreção conhecidas dos elementos químicos selecionados para este estudo.

Dentre os metais analisados, a maioria é considerado tóxico ou considerado metal pesado. O que define um metal ser pesado é possuir um número atômico superior a 20, uma densidade elementar superior a 5 g/cm³, e causar efeitos adversos quando em baixas concentrações. Geralmente, metais pesados não exercem função biológica no organismo de mamíferos, como Pb, Hg, Cd, As, Cr, Ni. Quando observamos a tabela 1, vemos quatro elementos que obtiveram baixas concentrações em todas as matrizes, As, Pb, Cd e Cr. Isso acontece porque eles geralmente não são absorvidos pelo organismo com tanta facilidade (olhar taxa de absorção tabela 4), entretanto, quando são, eles possuem a capacidade de fazerem ligações com enzimas que facilitam sua retenção prolongada em tecidos e órgãos. Um exemplo é o Pb, que quando absorvido pelo corpo, cerca de 95% é depositado nos ossos na forma de fosfato insolúvel, permanecendo lá por período indeterminado (Jaishankar et al. 2014). O Cd forma complexos com proteínas (metalotioneína) que são quase totalmente reabsorvidos pelos túbulos proximais e distais, voltando para a circulação em vez de serem excretados (Rehman et al. 2021). O cromo (CrVI) é captado pelos glóbulos vermelhos e reduzido a CrIII, formando complexos estáveis com a hemoglobina que ficam presos dentro da célula por toda a duração da vida da hemácia (Wilbur et al. 2012).

Tabela 4. Taxa de absorção (%), taxa de excreção (%) e via metabólica por onde os elementos são excretados.

<i>Elemento</i>	<i>Taxa de absorção</i>	<i>Taxa de excreção</i>	<i>Via de excreção</i>
<i>Alumínio</i>	<1%	99%	Fezes e urina
<i>Arsênio</i>	80-90%	50-80%	Urina

<i>Chumbo</i>	5-15%	1/3 do total absorvido	Fezes e urina
<i>Cobre</i>	55-75%	<3%	Urina
<i>Ferro</i>	5% a 15% do total ingerido	Muito baixa	Fezes
<i>Cádmio</i>	5-60%	0,001% por dia	Urina
<i>Cromo</i>	2%–10%	2%	Urina
<i>Cobalto</i>	5-45%	95%	Fezes e urina
<i>Níquel</i>	25-35%	É excretado muito rápido	Urina, saliva e suor
<i>Manganês</i>	1-5%	5%	Bile (fezes)

(Klaassen 2019)

Nas matrizes sanguíneas, sangue e soro, houveram os menores índices de concentração, com cinco elementos, As, Cd, Co, Ni e Mn, sem detecção em sangue e As, Cd, Co e Ni sem detecção em soro. Essas matrizes podem ser caracterizadas como para exposição recente, devido às características do sangue. O sangue funciona como uma grande "rodovia de suprimentos e limpeza", ele participa da regulação homeostática, portanto o organismo mantém mecanismos rigorosos de regulação no sangue, o que pode tornar as concentrações sanguíneas indicadores menos confiáveis do acúmulo total nos órgãos do que para metais não essenciais (Powolny 2019). Além disso, ele é composto pelo plasma, pelas hemácias (que morrem em 120 dias), pelos leucócitos (que podem durar apenas horas) e pelas plaquetas (que morrem em 10 dias) (Junqueira et al. 2018). O sangue é uma matriz de transporte, e para algumas análises, ele tem data de validade.

A técnica analítica utilizada na detecção desses metais foi a Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES), capaz de determinar mais de 70 elementos com baixos limites de detecção, porém existem categorias específicas de elementos que não são indicadas ou que apresentam dificuldades significativas para análise por esta técnica e talvez isso explique alguns dos resultados anteriores. Embora tenha sido detectado As em grande quantidade no rio Paraopeba após o rompimento da barragem (IGAM 2019) e o próprio solo da região do Quadrilátero Ferrífero ser rico em As (COSTA et al. 2010), os resultados das análises foram extremamente baixos para pelo e fezes e não detectado em sangue. Isso pode ser explicado, porque o As é considerado um “emissor fraco”,

isso significa que, mesmo quando o átomo é excitado pelo plasma, a luz que ele emite é eficazmente de baixa intensidade e o ICP-OES não é considerada uma boa técnica para ele (Margarini 2021). Portanto isso pode justificar os valores baixos e até nulos nas matrizes.

A estimativa do tamanho do genoma das capivaras foi feita pela técnica de citometria de fluxo. A técnica baseia-se na utilização de corantes fluorescentes que se ligam ao DNA e essa ligação é diretamente proporcional à quantidade de DNA presente no interior da célula, permitindo uma avaliação quantitativa precisa do conteúdo genômico. Além de permitir a análise de milhares de células por segundo, o que permite calcular um grande número de eventos em pouco tempo, conferindo alta estatística aos dados obtidos sobre a distribuição da população celular. A citometria de fluxo também é capaz de determinar individualmente a ploidia de cada célula e a distribuição das populações ao longo das diferentes fases do ciclo celular. Comparado com outros métodos muito utilizados, como k-mers, a citometria mede a massa total de DNA nuclear independentemente do quão repetitiva ou complexa seja a sequência de bases, enquanto estimativas baseadas em sequenciamento (como k-mers) podem ter dificuldades com genomas altamente repetitivos ou complexos (Silva et al. 2004; Dos Santos et al. 2017; Costa 2020).

7.CONCLUSÃO

Os resultados das análises de quantificação de elementos químicos feitas com a técnica ICP-OES mostraram que entre as matrizes pelo, fezes, sangue e soro, a matriz com maior concentração média foi as fezes, seguida do pelo. O elemento com maior concentração por matriz foi o ferro nas fezes e o de menor concentração foi o manganês no soro. Ferro e alumínio foram os elementos com as maiores concentrações gerais. Os resultados obtidos da estimativa do tamanho do genoma das capivaras, feito com o método de citometria de fluxo, não evidenciaram diferença no tamanho do genoma entre fêmeas e machos. Esses resultados corroboram com a possibilidade da eficácia do biomonitoramento das capivaras de vida livre, além de serem um preenchimento na lacuna sobre os estudos genômicos desses animais.

8.REFERÊNCIAS

- ALHO, C. J. R.; CAMPOS, Z. M. S.; GONÇALVES, H. C. Ecologia de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*, Rodentia) do Pantanal: I. habitats, densidades e tamanho de grupo. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 1/2, p. 87–97, 1987.
- ALHO, C. J. R.; CAMPOS, Z. M. S.; GONÇALVES, H. C. Ecologia de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*, Rodentia) do Pantanal: II. atividade, sazonalidade, uso do espaço e manejo. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 1/2, p. 99–110, 1987.
- AL-HAKKANI, M. F. Guideline of inductively coupled plasma mass spectrometry "ICP–MS": fundamentals, practices, determination of the limits, quality control, and method validation parameters. **SN Applied Sciences**, v. 1, p. 791, 2019.
- BABARINDE, Isaac Adeyemi; SAITOU, Naruya. The dynamics, causes, and impacts of mammalian evolutionary rates revealed by the analyses of capybara draft genome sequences. **Genome Biology and Evolution**, v. 12, n. 8, p. 1444–1458, 2020.
- BORGES, Lucélia do Valle; COLARES, Ioni Gonçalves. Feeding habits of capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus 1766), in the Ecological Reserve of Taim (ESEC-Taim)—south of Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 409–416, 2007.
- BERGLUND, Åsa M. M. Evaluating blood and excrement as bioindicators for metal accumulation in birds. **Environmental Pollution**, v. 233, p. 1198–1206, 2018.
- COELHO, M. R. et al. **Solos do quadrilátero ferrífero sob diferentes coberturas vegetais e materiais de origem**. 1. ed. Embrapa solos: Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 2017. v. 1p. 130
- COSTA, A. T. et al. Análise estratigráfica e distribuição do arsênio em depósitos sedimentares quaternários da porção sudeste do Quadrilátero Ferrífero, bacia do Ribeirão do Carmo, MG. **Revista Escola de Minas**, v. 63, n. 4, p. 703–714, 1 dez. 2010.
- COSTA, Leticia Soto da. **Bioacumulação de metais pesados em pequenos mamíferos em áreas de remanescentes de mata atlântica e monocultura de cana-de-açúcar na Paraíba**. 2020. 69 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.
- COSTA, Rodrigo Netto. **Introdução à citometria de fluxo: um manual básico para iniciantes**. 2020.
- DA SILVA, Iuri Batista et al. Genetic chronicle of the capybara: the complete mitochondrial genome of *Hydrochoerus hydrochaeris*. **Mammalian Biology**, v. 104, n. 4, p. 459–465, 2024.
- DA SILVA, Marina Lima; ANDRADE, Márcia Cristiane Kravetz. Os impactos ambientais da atividade mineradora. **Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 11, n. 6, 2017.

DA SILVA YANG, Silvia Gabriela Nunes et al. Multi-elemental exposure assessment through concentrations in hair of free-ranging capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) in the Atlantic Forest remnants, Northeast of Brazil. **Chemosphere**, v. 26, p. 127800, 2021.

DOS SANTOS, A. et al. **Citometria de fluxo: fundamentos e aplicações na pesquisa científica**. Rio de Janeiro, 2017.

HERRERA, Emilio A. Coprophagy in the capybara, *Hydrochoerus hydrochaeris*. **Journal of Zoology**, v. 207, n. 4, p. 616–619, 1985.

HERRERA-ÁLVAREZ, Santiago et al. How to make a rodent giant: genomic basis and tradeoffs of gigantism in the capybara, the world's largest rodent. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, n. 5, p. 1715–1730, 2021.

INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. BInformativo da avaliação dos sedimentos do rio Paraopeba nos locais monitorados ao longo do Rio Paraopeba, após o desastre na barragem B1 no município de Brumadinho – Minas Gerais . Belo Horizonte: Igam, 2019.

JAISHANKAR, Monisha et al. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 7, n. 2, p. 60, 2014.

JAN, Arif Tasleem et al. Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 12, p. 29592–29630, 2015.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; CARNEIRO, José; ABRAHAMSOHN, Paulo. **Histologia básica: texto e atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

KLAASSEN, C. D. **Casarett and Doull's Toxicology : The Basic Science of Poisons**. 9. ed. New York: McGraw-Hill Education, 2019.

KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Piracicaba: CENA/USP, 2008.

LIMA, L. F. DE S. et al. Multivariate modeling of Paraopeba River ecotoxicity after the Brumadinho dam collapse. **Water Biology and Security**, p. 100669, jun. 2026.

MACHADO, Angelo Barbosa Monteiro; DRUMMOND, Gláucia Moreira; PAGLIA, Adriano Pereira. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. 1. ed. Brasília: Fundação Biodiversitas, 2008. 1420 p. v. 1.

MARKERT, Bernd A.; BREURE, Anton M.; ZECHMEISTER, Harald G. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. **Trace metals and other contaminants in the environment**. Elsevier, 2003. p. 3–39.

MAGARINI, Riccardo. **Determination of Arsenic and Selenium in Drinking Water by ICP-OES with Continuous Flow Hydride Generation using a Single Pre-Reduction Procedure**. 2021.

- MENDES, Rafaella Gouveia et al. Scenarios of environmental deterioration in the Paraopeba River, in the three years after the breach of B1 tailings dam in Brumadinho (Minas Gerais, Brazil). **Science of The Total Environment**, v. 891, p. 164426, 2023.
- MONTASER, Akbar; GOLIGHTLY, Donald W. (Ed.). **Inductively coupled plasmas in analytical atomic spectrometry**. John Wiley & Sons, 1996.
- MOREIRA, José Roberto et al. Taxonomy, natural history and distribution of the capybara. **Capybara: Biology, use and conservation of an exceptional neotropical species**. New York, NY: Springer New York, 2012. p. 3-37.
- MONES, Alvaro; OJASTI, Juhani. *Hydrochoerus hydrochaeris*. **Mammalian Species**, n. 264, p. 1–7, 1986.
- NAKAGE, Ana Paula Massae et al. Metodologia e aplicação da citometria de fluxo na hematologia veterinária. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 966–973, 2005.
- PARENTE, Cláudio et al. First year after the Brumadinho tailings' dam collapse: Spatial and seasonal variation of trace elements in sediments, fishes and macrophytes from the Paraopeba River, Brazil. **Environmental Research**, v. 193, p. 110526, 2021.
- POWOLNY, Thibaut et al. Is blood a reliable indicator of trace metal concentrations in organs of small mammals? **Chemosphere**, v. 217, p. 320–328, 2019.
- REHMAN, Ata Ur et al. Toxicity of heavy metals in plants and animals and their uptake by magnetic iron oxide nanoparticles. **Journal of Molecular Liquids**, v. 321, p. 114455, 2021.
- RODUSHKIN, Ilia; ÖDMAN, Fredrik; BRANTH, Stefan. Multielement analysis of whole blood by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 364, n. 4, p. 338–346, 1999.
- ROWE, Diane L.; HONEYCUTT, Rodney L. Phylogenetic relationships, ecological correlates, and molecular evolution within the Caviioidea (Mammalia, Rodentia). **Molecular Biology and Evolution**, v. 19, n. 3, p. 263–277, 2002.
- SEGURA, Fabiana Roberta et al. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, v. 218, p. 813–825, 2016.
- SILVA, Teresa Lopes da et al. Citometria de fluxo: funcionalidade celular on-line em bioprocessos. **Boletim de Biotecnologia**, p. 32–40, 2004.
- ŠUMBERA, Radim; CHITAUKALI, Wilbert N.; BURDA, Hynek. Biology of the silvery mole-rat (*Heliophobius argenteocinereus*). Why study a neglected subterranean rodent species?. In: **Subterranean rodents: news from underground**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007. p. 221-236.
- TALMAGE, Sylvia S.; WALTON, Barbara T. Small mammals as monitors of environmental contaminants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews**, p. 47–145, 1991.

TATARUCH, Frieda; KIERDORF, Horst. Mammals as biomonitors. **Trace metals and other contaminants in the environment**. Elsevier, 2003. p. 737–772.

THOMPSON, Fabiano et al. Severe impacts of the Brumadinho dam failure (Minas Gerais, Brazil) on the water quality of the Paraopeba River. **Science of the Total Environment**, v. 705, p. 135914, 2020.

VERDADE, Luciano Martins; FERRAZ, K. M. P. M. B. Capybaras in an anthropogenic habitat in southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, p. 371–378, 2006.

WILBUR, S. et al. **Toxicological Profile for Chromium**. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), 2012.