

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Análise de microvestígios em sedimentos e solos às margens do rio  
Piracicaba e avaliação do seu potencial forense**

**Dayana Rodrigues da Silva**

Monografia apresentada para obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

**Piracicaba  
2022**



**Dayana Rodrigues da Silva**

**Análise de microvestígios em sedimentos e solos às margens do rio Piracicaba e  
avaliação do seu potencial forense**

Orientador:  
Prof. Dr. **LUIZ CARLOS RUIZ PESSEDA**

Monografia apresentada para obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

**Piracicaba  
2022**

*À minha mãe, pelo seu amor, incentivo e apoio  
incondicionais. Devo tudo a você.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por tudo que tenho, por tudo que sou e pela oportunidade de estar aqui.

À minha mãe, Ivonete, por sempre ter acreditado em mim e estar ao meu lado em todos os sorrisos, lágrimas, erros e acertos.

Aos meus pais, Luiz Antônio e Wagner, pela preocupação ao longo da minha jornada.

Aos meus irmãos, Andrew e Thiago, por todas as risadas e carinhos proporcionados.

À toda minha família, que sempre se orgulhou da minha trajetória e aliviou os momentos de tensão com muita festa, amor e união.

Ao meu namorado, Leandro Leal, por ter sido meu ponto de apoio e fortalecimento ao longo dos anos, e nunca ter me deixado desistir.

À minha amiga de anos, Nathalia Formagio, que ouviu todos os meus desabafos durante o desenvolvimento e escrita deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Carlos Ruiz Pessenda, que não mediu esforços para me auxiliar com correções, sugestões e discussões sobre a pesquisa. Todo o aprendizado recebido enriqueceu minha formação e serei sempre muito grata por tudo.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Paulo Eduardo de Oliveira, por ter instigado meu interesse pela palinologia forense, pelo auxílio nas identificações polínicas e por todas as conversas inspiradoras. Espelho-me na sua animação pela pesquisa.

À pós-doutoranda do Laboratório C-14 e minha amiga, Giliane Rasbold, que me guiou com paciência e leveza nos caminhos da pesquisa e da vida.

Ao Laboratório C-14 e ao técnico Thiago Campos, pela infraestrutura oferecida e apoio nos tratamentos químicos e nas análises microscópicas.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) e à Universidade de São Paulo (USP) pela oportunidade de aprender com os melhores professores e por toda sua infraestrutura, que permitiu o pleno desenvolvimento do projeto.

Ao IGc/USP e aos alunos do Laboratório de Micropaleontologia e de Paleobotânica, que foram muito receptivos na semana em que estive lá e me auxiliaram nas identificações polínicas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de iniciação científica (Processo nº 2021/01162-0) e apoio financeiro para o desenvolvimento das atividades de pesquisa.

*“Todo contato deixa uma marca”*

**Edmond Locard**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>7</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>8</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>9</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>15</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
<b>4. ÁREA DE ESTUDO .....</b>	<b>17</b>
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
<b>5.1. AMOSTRAGEM .....</b>	<b>23</b>
5.1.1. ÁREAS SELECIONADAS .....	23
5.1.2. TRANSECTOS.....	25
5.1.3. CAMINHADA SIMULADA (SIMULAÇÃO DE CRIME).....	26
<b>5.2. ETAPA DE LABORATÓRIO .....</b>	<b>26</b>
5.2.1. PREPARO DAS AMOSTRAS CONTROLE .....	26
5.2.2. EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DOS CALÇADOS.....	27
5.2.3. ANÁLISE DE COR E GRANULOMETRIA DOS SUBSTRATOS .....	28
5.2.4. ANÁLISE PALINOLÓGICA .....	28
5.2.5. ANÁLISE DE SÍLICA.....	30
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>32</b>
<b>6.1. ÁREA DO TANQUÃ .....</b>	<b>32</b>
6.1.1. CARACTERIZAÇÃO DA VEGETAÇÃO.....	32
6.1.2. CARACTERIZAÇÃO DO SOLO E GRANULOMETRIA.....	32
6.1.3. PALINOLOGIA.....	33
6.1.4. FITÓLITOS .....	35
6.1.5. ESPÍCULAS DE ESPONJAS .....	36
6.1.6. DIATOMÁCEAS .....	38
<b>6.2. ÁREA DA RUA DO PORTO.....</b>	<b>40</b>
6.2.1. CARACTERIZAÇÃO DA VEGETAÇÃO.....	40
6.2.2. CARACTERIZAÇÃO DO SOLO E GRANULOMETRIA.....	41
6.2.3. PALINOLOGIA.....	41
6.2.4. FITÓLITOS .....	43
6.2.5. ESPÍCULAS DE ESPONJAS .....	44
6.2.6. DIATOMÁCEAS .....	44
<b>6.3. ÁREA DO MONTE ALEGRE.....</b>	<b>46</b>
6.3.1. CARACTERIZAÇÃO DA VEGETAÇÃO.....	46
6.3.2. CARACTERIZAÇÃO DO SOLO E GRANULOMETRIA.....	46
6.3.3. PALINOLOGIA.....	46
6.3.4. FITÓLITOS .....	49
6.3.5. ESPÍCULAS DE ESPONJAS .....	50
6.3.6. DIATOMÁCEAS .....	50
<b>7. DISCUSSÃO.....</b>	<b>52</b>
7.1. VEGETAÇÃO E O RIO PIRACICABA .....	52
7.2. GRANULOMETRIA DOS SUBSTRATOS .....	52
7.3. ASSEMBLEIA POLÍNICA.....	53
7.4. ASSEMBLEIA FITOLÍTICA .....	56
7.5. ASSEMBLEIA DE ESPONJAS .....	57
7.6. ASSEMBLEIA DE DIATOMÁCEAS .....	59
7.7. INTERPRETAÇÃO CONJUNTA DOS MICROVESTÍGIOS .....	61
7.8. ESTUDOS FUTUROS.....	62
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>63</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>64</b>

## RESUMO

### **Análise de microvestígios em sedimentos e solos às margens do rio Piracicaba e avaliação do seu potencial forense**

A palinologia forense realiza o estudo para fins judiciais de microvestígios (palinomorfos e outros organismos ou partes de sua estrutura que resistem a processamentos químicos), sendo uma ferramenta amplamente utilizada em países como Austrália, Nova Zelândia, Reino Unido, Irlanda e Estados Unidos. No Brasil, no entanto, essa técnica ainda requer o estabelecimento de protocolos consolidados e adaptados à realidade ambiental e criminal brasileira. Neste contexto, foi conduzido um estudo no município de Piracicaba/SP, às margens do principal rio da cidade, nas quais foram selecionadas três áreas para a coleta de amostras de substrato superficial e também em calçados utilizados para uma caminhada simulada, com o intuito de verificar a correlação entre microvestígios retidos nos calçados com as assembleias encontradas nos substratos e avaliar seu uso sob o contexto forense. Foi realizada a caracterização da cor e granulometria, bem como as análises polínicas, fitolíticas, de frústulas de diatomáceas e de espículas de esponjas. As amostras polínicas foram tratadas utilizando acetólise por anidrido acético e ácido sulfúrico, enquanto as demais foram submetidas a tratamento com peróxido de hidrogênio para a oxidação da matéria orgânica. Os resultados polínicos indicaram menores valores de concentração em áreas antropizadas e em substratos arenosos, e registraram maior diversidade de elementos arbóreos na área de floresta ripária. A proporção de fitólitos BILOBATE e SADDLE refinou os dados polínicos, evidenciando a predominância das subfamílias de gramíneas Panicoideae e Chloridoideae nos diferentes locais. Em apenas uma das áreas, foram identificadas espículas de esponjas de *Tubella paulula*, *T. variabilis*, *T. lanzamirandai* e *Radiospongilla amazonensis*, que caracterizaram o ambiente como lêntico. As diatomáceas apresentaram ocorrência pontual de alguns gêneros, que conferiram distinta caracterização às localidades. A concentração de todos os microvestígios foi menor em texturas arenosas e em áreas antropizadas, e a retenção deles nos calçados corresponderam às assembleias registradas nos substratos. O uso simultâneo dos quatro tipos de microvestígios favoreceu a caracterização das áreas e demonstrou potencial em garantir maior robustez às interpretações judiciais, bem como possibilitou verificar a viabilidade e potencialidade em se desenvolver a palinologia forense no Brasil, no intuito de auxiliar na consolidação dessa ferramenta para uso rotineiro da perícia criminal.

**Palavras-chave:** Palinologia Forense; Perícia Criminal; Retenção em Calçados.



## ABSTRACT

### **Analysis of trace evidence in sediment and soil on the margins of Piracicaba River and assessment of their forensic potential**

Forensic palynology is the study of trace evidence (palynomorphs and other organisms or parts of their structure that resist chemical processing) for legal purposes, being a tool widely used in countries such as Australia, New Zealand, the United Kingdom, Ireland and the United States. However, in Brazil this technique still requires the establishment of consolidated protocols adapted to the Brazilian environmental and criminal reality. In this context, a study was carried out in the city of Piracicaba/SP, on the margins of the main river, in which three areas were selected for the collection of surface substrate samples and also in footwear used for a simulated walk, in order to verify the correlation between trace evidence retained in the shoes with the assemblages found in the substrates and to evaluate their use under the forensic context. The characterization of color and granulometry was carried out, as well as pollen, phytolitic, diatom frustules and sponge spicules analyses. Pollen samples were treated using acetolysis by acetic anhydride and sulfuric acid, while the others were submitted to treatment with hydrogen peroxide for the oxidation of organic matter. The pollen results indicated lower concentration values in anthropized areas and in sandy substrates, and registered greater diversity of arboreal elements in the riparian forest area. The proportion of BILOBATE and SADDLE phytoliths refined the pollen data, evidencing the predominance of the Panicoideae and Chloridoideae grass subfamilies in the different locations. In only one of the areas, sponge spicules of *Tubella paulula*, *T. variabilis*, *T. lanzamirandai* and *Radiospongilla amazonensis* were identified, which characterized the environment as lentic. Diatoms showed punctual occurrence of some genera, which conferred distinct characterization to the localities. The concentration of trace evidence was lower in sandy textures and anthropized areas, and their retention in the footwear corresponded to the assemblages recorded on the substrates. The simultaneous use of the four types of trace evidence supported the characterization of the areas and demonstrated the potential to guarantee greater robustness to judicial interpretations, as well as made it possible to verify the feasibility and potential of developing forensic palynology in Brazil, in order to assist in the consolidation of this tool for the routine use of Brazilian criminal expertise.

**Keywords:** Forensic Palynology; Criminal Expertise; Retention in Footwear.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01.</b> Localização do município de Piracicaba .....	17
<b>Figura 02.</b> Modelo de elevação digital do município de Piracicaba.....	18
<b>Figura 03.</b> Bacias hidrográficas do município de Piracicaba .....	19
<b>Figura 04.</b> Uso da terra no município de Piracicaba .....	20
<b>Figura 05.</b> Solos do município de Piracicaba.....	22
<b>Figura 06.</b> Localização das três áreas de coleta ao longo do rio Piracicaba .....	24
<b>Figura 07.</b> Localização e caracterização das áreas de coleta .....	24
<b>Figura 08.</b> Esquema de pontos 1, 2 e 3 nas áreas Tanquã, Rua do Porto e Monte Alegre.....	25
<b>Figura 09.</b> Bandeja de alumínio utilizada para a retirada de fragmentos e secagem.....	27
<b>Figura 10.</b> Extração de resíduos aderidos aos calçados em uma bandeja de alumínio .....	27
<b>Figura 11.</b> Grãos de pólen observados nas amostras do Tanquã.....	34
<b>Figura 12.</b> Fitólitos do tipo BILOBATE, SADDLE, RONDEL, ELONGATE ENTIRE, SPHEROID ECHINATE e BLOCKY .....	36
<b>Figura 13.</b> Espículas de esponjas observadas nas amostras do Tanquã .....	38
<b>Figura 14.</b> Frústulas de diatomáceas nas amostras do Tanquã .....	39
<b>Figura 15.</b> Diatomáceas dos gêneros <i>Eunotia</i> sp., <i>Pinnularia</i> sp. e <i>Gomphonema</i> sp. ....	40
<b>Figura 16.</b> Grãos de pólen observados nas amostras da Rua do Porto .....	42
<b>Figura 17.</b> Frústulas de <i>Adlafia</i> sp., <i>Pleurosira</i> sp., <i>Terpsinoë</i> sp. e <i>Geissleria</i> sp. detectadas exclusivamente na área da Rua do Porto .....	45
<b>Figura 18.</b> Grãos de pólen e esporos observados nas amostras do Monte Alegre.....	48
<b>Figura 19.</b> Frústulas de <i>Amphipleura</i> sp., <i>Rhopalodia</i> sp., <i>Caloneis</i> sp. e <i>Cocconeis</i> sp. detectadas exclusivamente na área do Monte Alegre.....	51
<b>Figura 20.</b> Granulometria dos substratos das três áreas de estudo.....	52
<b>Figura 21.</b> Diagrama palinológico de porcentagem das três áreas estudadas (parte 1) .....	53
<b>Figura 22.</b> Diagrama palinológico de porcentagem das três áreas estudadas (parte 2) .....	54
<b>Figura 23.</b> Diagrama fitolítico de porcentagem das três áreas estudadas .....	56
<b>Figura 24.</b> Diagrama de porcentagem de espículas nas três áreas estudadas.....	58
<b>Figura 25.</b> Diagrama de presença e ausência dos gêneros de diatomáceas nas três áreas estudadas .....	59
<b>Figura 26.</b> Diagrama de Venn mostrando a distribuição de gêneros de diatomáceas entre as áreas de estudo.....	60

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01.</b> Classificação do uso da terra de Piracicaba.....	19
<b>Tabela 02.</b> Tipos de solos ocorrentes no município de Piracicaba .....	21
<b>Tabela 03.</b> Granulometrias obtidas nas amostras dos pontos 1, 2, 3 e CS do Tanquã .....	32
<b>Tabela 04.</b> Grãos de pólen e esporos nas amostras do Tanquã .....	33
<b>Tabela 05.</b> Fitólitos nas amostras do Tanquã .....	35
<b>Tabela 06.</b> Espículas de esponjas nas amostras do Tanquã.....	37
<b>Tabela 07.</b> Gêneros de diatomáceas observados nas amostras do Tanquã .....	38
<b>Tabela 08.</b> Granulometrias obtidas nas amostras dos pontos 1, 2, 3 e CS da Rua do Porto.....	41
<b>Tabela 09.</b> Grãos de pólen e esporos nas amostras da Rua do Porto.....	42
<b>Tabela 10.</b> Fitólitos nas amostras da Rua do Porto.....	43
<b>Tabela 11.</b> Gêneros de diatomáceas observados nas amostras da Rua do Porto.....	44
<b>Tabela 12.</b> Granulometrias obtidas nas amostras dos pontos 1, 2, 3 e CS do Monte Alegre ...	46
<b>Tabela 13.</b> Grãos de pólen e esporos nas amostras do Monte Alegre .....	47
<b>Tabela 14.</b> Fitólitos nas amostras do Monte Alegre .....	49
<b>Tabela 15.</b> Gêneros de diatomáceas observados nas amostras do Monte Alegre .....	50



## 1. INTRODUÇÃO

A palinologia forense é o estudo para fins judiciais dos grãos de pólen de angiospermas e gimnospermas, dos esporos de briófitas, pteridófitas, algas e fungos, além de outros organismos ou partes de sua estrutura que resistem ao processamento químico, tais como as frústulas de diatomáceas, as espículas de esponjas e os fitólitos (AMARAL, 2016). Trata-se de uma ferramenta que fornece informações importantes para a investigação criminal, uma vez que quando coletados de uma amostra forense e identificados em laboratório, esses microvestígios podem fazer a ligação entre suspeitos, evidências criminais, locais de crime e vítimas (MILDENHALL; WILTSHIRE; BRYANT, 2006).

Isso ocorre porque essas estruturas biológicas, assim como diversos outros elementos materiais, seguem o Princípio de Troca de Locard. Este princípio, postulado pelo famoso cientista forense Edmond Locard, consiste na ideia de que todo contato deixa uma marca, ou seja, sempre que duas ou mais superfícies entram em contato, há transferência de material entre elas (HORSWELL; FOWLER, 2004; AMARAL, 2016). Sendo assim, se uma pessoa esteve em um local no qual uma planta específica ocorre, é muito provável que o pólen ou espora dessa planta esteja presente nesta pessoa ou em algum item que a mesma estava utilizando no momento. Por consequência, ao analisar e interpretar o conjunto de grãos de pólen e de esporos, bem como de frústulas de diatomáceas, espículas de esponjas e fitólitos encontrados em amostras forenses, é possível inferir sobre os acontecimentos de um crime e a participação dos envolvidos. Diversos históricos de casos publicados e citados por Mildenhall, Wiltshire e Bryant (2006) demonstram o uso da palinologia forense para a investigação e resolução de casos de estupro, homicídio, terrorismo, tráfico, assaltos, importação ilegal, dentre outros.

Mesmo com tal potencialidade, a palinologia forense ainda não é uma ferramenta universalmente utilizada. Embora países como Austrália, Nova Zelândia, Reino Unido, Irlanda e Estados Unidos possuam metodologias consolidadas para a aplicação desta técnica (MILDENHALL, 1990; MILNE, 2000; WILTSHIRE, 2009; WILTSHIRE, 2016), o Brasil faz parte do conjunto de países que não adotou amplamente a palinologia forense como parte de sua rotina pericial, principalmente devido ao fato de que ainda não existem protocolos palinológicos adaptados à realidade ambiental brasileira (RAMOS, 2019). Um levantamento realizado por Manvailer, Leandro e Scremin-Dias (2018) demonstrou que apenas 20% dos peritos criminais brasileiros que atuam em locais de crime afirmaram possuir conhecimento sobre os métodos apropriados de coleta e preservação de vestígios botânicos, sendo que a resposta sobre o melhor

método variou entre os especialistas. Sendo assim, destaca-se uma outra dificuldade da implementação da palinologia forense como ferramenta corriqueira da perícia: o treinamento de profissionais capazes de identificar os vestígios palinológicos relevantes e conduzir uma apropriada coleta, preservação, documentação e interpretação dos mesmos (AMARAL, 2016).

Portanto, verifica-se que estudos brasileiros voltados à palinologia forense são importantes para dinamizar essa área de pesquisa no país, auxiliando na criação de protocolos consolidados que guiem a atuação das equipes de perícia para fazer dos vestígios palinológicos provas periciais válidas. Essas pesquisas também contribuem para ampliar os conhecimentos acerca da grande heterogeneidade da vegetação brasileira, impulsionar as ciências forenses no Brasil e aumentar o uso desta técnica no país. Alguns autores como Amaral (2016) e Ramos (2019) destacam a importância do convênio entre os institutos de criminalística e entidades de pesquisas, tais como as universidades, para o desenvolvimento desses estudos e a elaboração de protocolos.

Na última década, um número crescente de artigos sobre a palinologia forense vem sendo observado em todo o mundo em razão da popularização dos conhecimentos científicos acerca dos vestígios vegetais, que deixaram de ser vistos como auxiliares para se tornarem provas cruciais para a convicção do juiz e dos jurados no tribunal (MILDENHALL; WILTSHIRE; BRYANT, 2006; AMARAL, 2016). Isso porque esses microvestígios possuem diversas características que tornam vantajoso o seu uso em investigações criminais, tais como seu tamanho microscópico, sua resistência à degradação, sua abundante distribuição em diferentes ambientes e suas distintas morfologias que servem como diagnóstico para identificação taxonômica (WILTSHIRE, 2009). Essas características fazem com que os vestígios palinológicos passem despercebidos pelos autores de um delito, agindo como “provas silenciosas” que podem ser utilizadas para confrontar amostras de crimes contra a pessoa ou mesmo determinar rotas de tráfico de entorpecentes, por exemplo (DE FOREST; GAENSSLEN; LEE, 1983; COYLE, 2004; AMARAL, 2016).

Os grãos de pólen (estruturas fecundantes masculinas de plantas superiores) e os esporos (células assexuadas das pteridófitas e briófitas) possuem morfologias distintas no que diz respeito ao tamanho, forma, número de aberturas e ornamentação, o que possibilita a determinação da planta mãe que os originaram e, conseqüentemente, a sua classificação taxonômica (BARTH-SCHATZMAYR; BARROS, 2011). Tais características também estão envolvidas no tipo de dispersão desses palinomorfos, pois dependendo da estrutura do grão de pólen ou do esporo, ele pode ser disperso por fatores abióticos, tal como o vento, ou fatores bióticos, como insetos e vertebrados (RECH; BERGAMO; FIGUEIREDO, 2014).

Já os fitólitos consistem em estruturas de sílica que se acumulam entre ou dentro das células dos tecidos vegetais (MULHLLONAD, 1989). A quantidade produzida, a variedade e o grau de

desenvolvimento desses fitólitos dependem de fatores genéticos e ambientais (e.g. clima, disponibilidade de água no solo, idade do vegetal produtor, entre outros), que gera variações em sua morfologia e dimensão, características que são consideradas diagnósticas para a identificação dos táxons (PIPERNO, 2006). Por se tratarem de estruturas de sílica, os fitólitos são resistentes à degradação (PIPERNO, 1991; 2006) e compõem outro tipo de microvestígio que pode ser detectado em amostras forenses.

As diatomáceas são algas unicelulares e cosmopolitas, de elevada biodiversidade e um curto ciclo de vida, o que permite que as mesmas respondam rapidamente às alterações ambientais (LEANDRINI; CAVALCANTI; RODRIGUES, 2010). Elas estão presentes em quase todos os ambientes aquáticos (e.g. marinhos e de água doce) e, portanto, podem ser facilmente coletadas em amostras de água ou em substratos próximos a corpos d'água (SILVA et al., 2010). As frústulas de diatomáceas são resistentes à degradação devido à presença de sílica em sua parede celular, que permite sua prolongada conservação e confere a essas algas diferentes ornamentações que podem ser utilizadas para a identificação de seus táxons (ROUND; CRAWFORD; MANN, 1990).

Por fim, as espículas consistem em elementos silicosos duros e mineralizados que formam o esqueleto das esponjas (VOLKMER-RIBEIRO, 1981). Assim como os demais microvestígios, as espículas são resistentes à degradação e sua morfologia é utilizada para a identificação dos diferentes táxons, o que faz delas outro importante bioindicador aquático (VOLKMER-RIBEIRO; PAROLIN, 2010). Existem três tipos de espículas: as microscleras (geralmente pequenas, que revestem a superfície externa das esponjas), as megascleras (de tamanho grande, para sustentar o esqueleto interno) e as gemoscleras (revestem as gêmulas, que por sua vez são as estruturas de dispersão e reprodução assexuada das esponjas). Das três, as gemoscleras são as melhores diagnósticas para a identificação dos táxons (VOLKMER-RIBEIRO; PAROLIN, 2010).

Se o estudo individual dos vestígios palinológicos pode gerar informações importantes para uma investigação criminal, o seu exame em conjunto pode ser ainda mais informativo. De fato, já existem pesquisas publicadas que demonstram o potencial forense do uso de dois ou mais desses microvestígios. Um exemplo é o trabalho de De Oliveira e Suguio (2005), que realizou o estudo da areia colocada em contêineres no porto de Santos em substituição à carga de eletrônicos que fora furtada dos mesmos. Além de análises granulométricas, foram realizadas análises palinológicas e diatomológicas que revelaram que o furto e a troca dos materiais ocorreu na Baixada Santista e não no porto de origem estrangeira, como também fora suspeitado. Outro exemplo de estudo multidisciplinar é de Ramos (2019), que utilizou grãos de pólen e esporos, diatomáceas e foraminíferos para entender a dinâmica da transferência do sinal de três diferentes

ecossistemas (mangue, restinga e floresta) em roupas e sapatos, também com o intuito de demonstrar o potencial forense desta técnica e auxiliar na criação de protocolos de coleta, preservação e análise. Diante deste cenário, o presente trabalho buscou colaborar com os estudos palinológicos forenses propondo a análise conjunta de grãos de pólen e esporos, de frústulas de diatomáceas, de espículas de esponjas e de fitólitos em sedimentos e solos (que neste trabalho serão chamados de substratos) de potenciais locais de crime. Esta pesquisa, somada a outras sobre o tema, poderá fornecer subsídios para o desenvolvimento da palinologia forense no Brasil.



## 2. JUSTIFICATIVA

A palinologia forense ainda é uma ferramenta recente e escassamente utilizada no Brasil, com poucos estudos de casos publicados e sem protocolos consolidados para o seu uso (AMARAL, 2016). Esta situação, unida ao fato de que a identificação desses microvestígios demanda tempo e uma certa experiência do profissional, faz com que esta ferramenta ainda não seja adotada corriqueiramente pelas polícias científicas durante as investigações. Para que a palinologia forense se torne reconhecida como uma das ferramentas utilizadas pela perícia criminal brasileira, é necessário que mais estudos nesta área sejam realizados, a fim de ampliar os conhecimentos acerca da realidade ambiental do país e estabelecer protocolos que garantam o cumprimento da cadeia de custódia das amostras forenses que contenham grãos de pólen e esporos, frústulas de diatomáceas, espículas de esponjas e fitólitos.

Esses microvestígios possuem o potencial de contribuir para a inferência sobre os acontecimentos de um crime, uma vez que podem fazer a conexão entre suspeitos, vítimas, evidências criminais e a cena do crime. Além disso, por se tratarem de estruturas resistentes e microscópicas, é provável que esses microvestígios permaneçam imperceptíveis em objetos ao longo do tempo, o que é ainda mais vantajoso para a investigação criminal.

Dentre as publicações brasileiras sobre palinologia forense, encontradas durante as revisões bibliográficas, nenhuma apresentou um estudo unindo a análise dos quatro tipos de microvestígios abordados neste trabalho. No entanto, a investigação conjunta dessas estruturas pode ser importante em casos relacionados ao abandono de cadáveres em rios, cuja ocorrência foi relatada e noticiada diversas vezes no Brasil. Um caso de destaque na mídia ocorreu no ano de 2010, com o assassinato da advogada Mércia Nakashima em uma represa localizada no município de Nazaré Paulista. O crime foi solucionado após a perícia detectar no sapato de um dos suspeitos os fragmentos de uma alga endêmica da represa que o corpo de Mércia foi encontrado, ligando assim o principal suspeito à cena do crime (BICUDO, 2019).

Assim como a alga foi uma importante evidência para a resolução do caso, os perfis polínicos, diatomológicos, fitolíticos e de espículas também podem ser significantes vestígios em casos como o de Mércia, uma vez que, possivelmente, todas essas estruturas podem ser encontradas em um trajeto traçado por um criminoso até a margem de um rio, represa ou lago.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

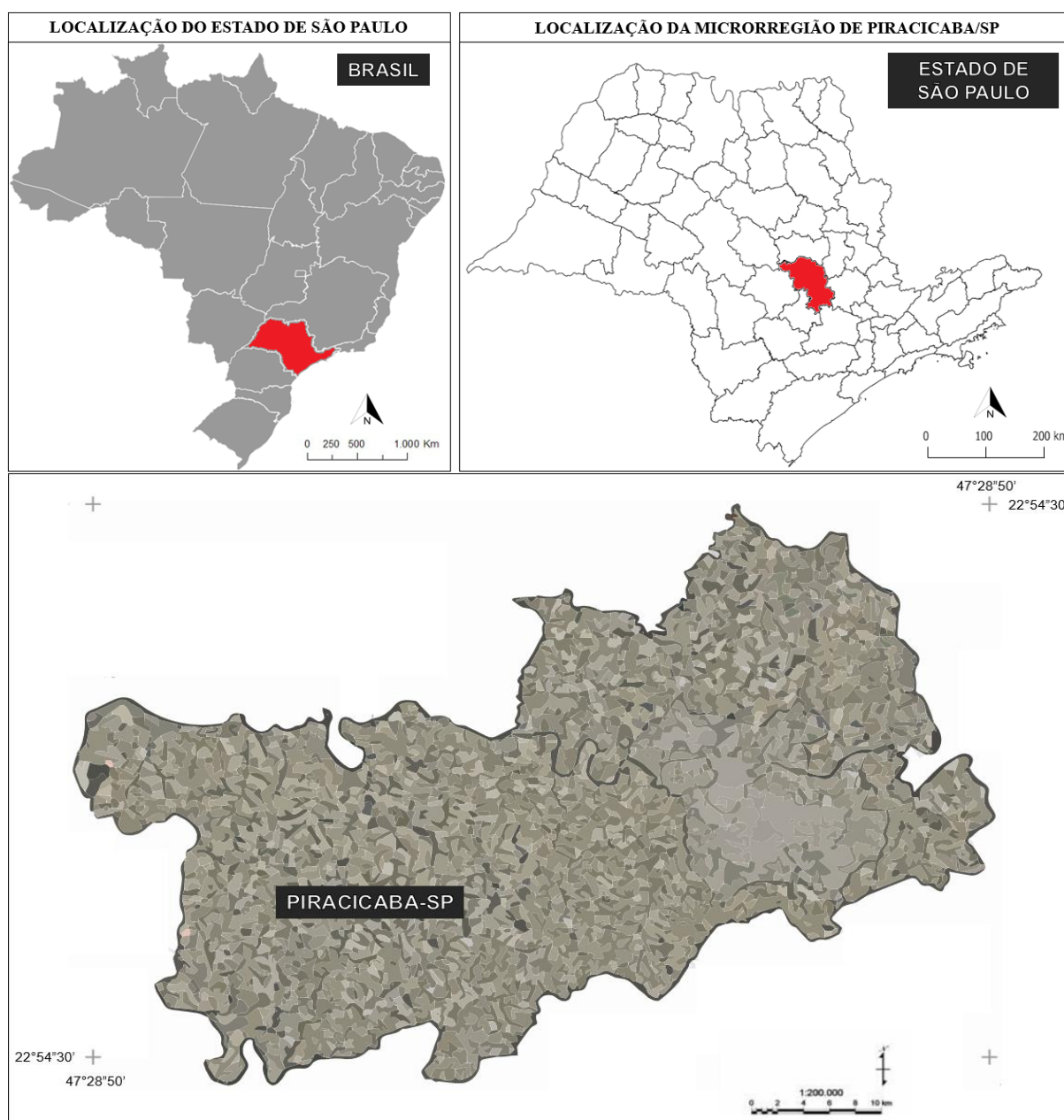
Caracterizar e identificar taxonomicamente os grãos de pólen e esporos, as frústulas de diatomáceas, as espículas de esponjas e os fitólitos encontrados em amostras de substrato superficial coletadas em diferentes transectos localizados às margens do rio Piracicaba e correlacioná-los com amostras de substrato remanescente em sapatos utilizados em uma caminhada simulada em tais pontos, a fim de avaliar o uso desse material no contexto forense.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- I. Identificar taxonomicamente os grãos de pólen e esporos, as frústulas de diatomáceas, as espículas de esponjas e os fitólitos;
- II. Verificar a variabilidade destes microvestígios em amostras de um mesmo transecto;
- III. Determinar a cor e a granulometria das amostras de substratos;
- IV. Verificar como as amostras se diferenciam em diferentes pontos de coleta;
- V. Correlacionar os microvestígios encontrados nos transectos a aqueles encontrados nos calçados utilizados nas caminhadas;
- VI. Avaliar os resultados encontrados sob o contexto forense no Brasil.

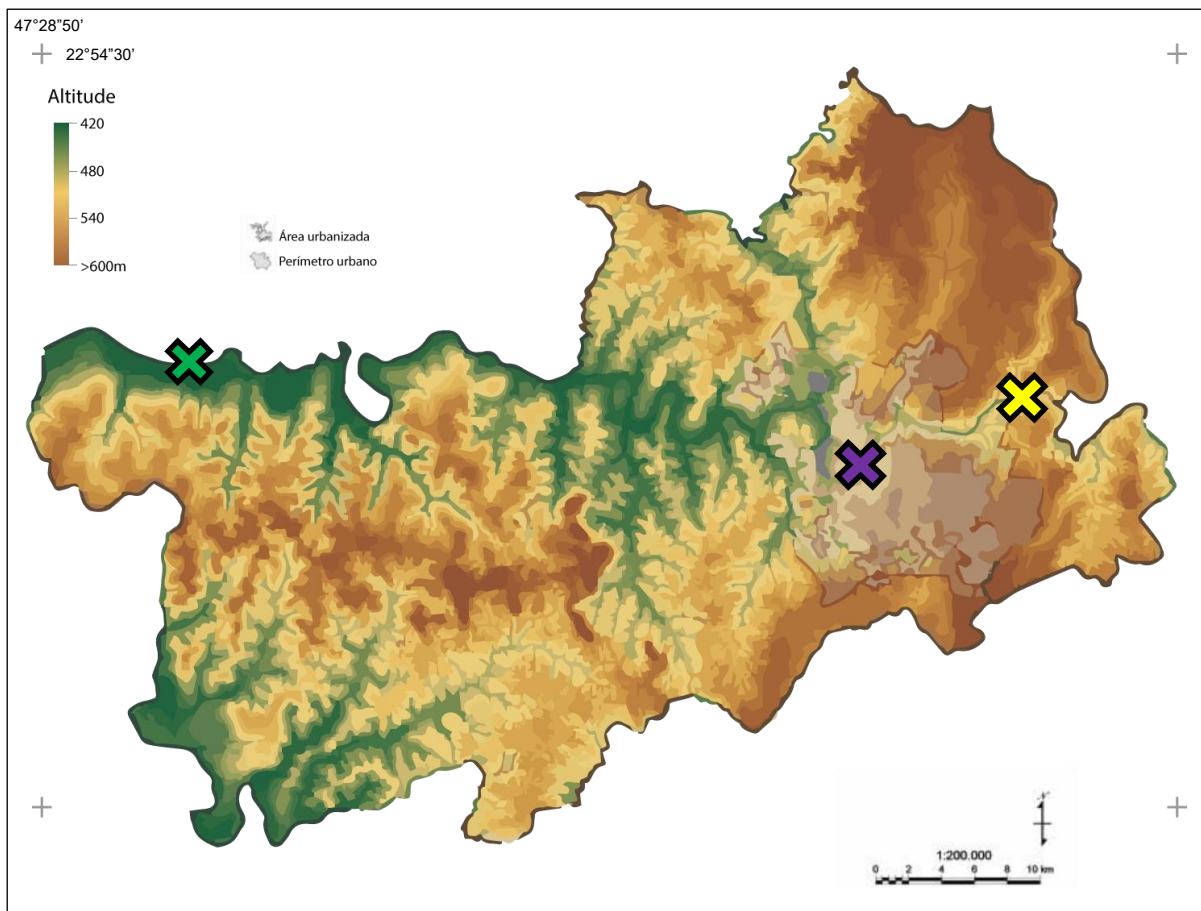
#### 4. ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi conduzido no município de Piracicaba/SP, localizado no sudeste do Brasil (**Figura 01**) e com clima do tipo subtropical úmido, de acordo com a classificação climática de Köppen (DIAS; ALCARDE ALVARES; SENTELHAS, 2017). O clima da região possui dois períodos distintos e bem definidos: um mais quente e chuvoso (dezembro-fevereiro) e outro mais frio e seco (junho-agosto). A média anual de temperatura é de 21,1 °C e a umidade relativa do ar varia em torno de 74% (DIAS; ALCARDE ALVARES; SENTELHAS, 2017).



**Figura 01** – Localização do município de Piracicaba. Fonte: adaptado de Barretto, Sparovek e Giannotti (2006) e Pimenta, Ruffino-Neto e Júnior (2016).

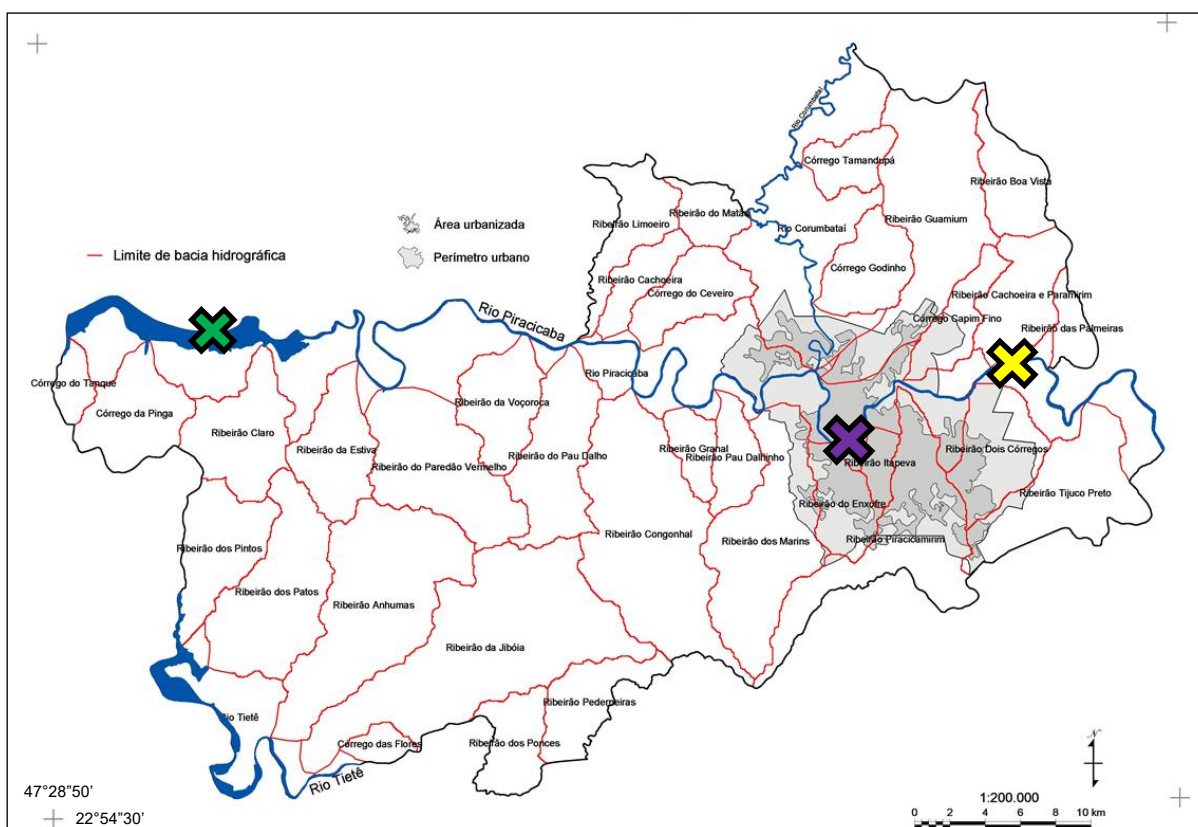
O município também apresenta um relevo composto por depressões – a maior delas seguindo o curso do rio Piracicaba – e elevações que podem chegar a 780 m de altura, como demonstrado na **Figura 02** (BARRETTO; SPAROVEK; GIANNOTTI, 2006).



**Figura 02** - Modelo de elevação digital do município de Piracicaba. Fonte: adaptado de Barretto, Sparovek e Giannotti (2006). O “X” em verde representa a área de estudo Tanquã, em roxo a área Rua do Porto e em amarelo a área Monte Alegre.

A floresta estacional semidecidual é a formação vegetal predominante no município de Piracicaba, com manchas de cerrado, florestas ripárias, florestas paludosas e floresta estacional decidual (RODRIGUES, 1999). Devido às intervenções antrópicas e degradação das formações naturais em todo o Estado de São Paulo, os tipos vegetacionais foram reduzidos a pequenos fragmentos remanescentes, principalmente encravados em áreas de difícil acesso que são inaptas para as práticas agrícolas (RODRIGUES, 1999).

O rio Piracicaba é o principal rio do município, cortando a cidade de leste a oeste (**Figura 03**), e também um dos mais importantes rios paulistas, uma vez que sua bacia possui notoriedade econômica, tanto agrícola como industrial, em cidades como Piracicaba, Campinas, Americana e Rio Claro. As águas da bacia do rio Piracicaba são destinadas ao abastecimento potável da região metropolitana de São Paulo (PELLEGRINO, 1995).



**Figura 03** - Bacias hidrográficas do município de Piracicaba. Fonte: adaptado de IPPLAP (2017). O “X” em verde representa a área de estudo Tanquã, em roxo a área Rua do Porto e em amarelo a área Monte Alegre.

O município possui uma população estimada de 410 mil habitantes (IBGE, 2022), porém apenas uma pequena parte de suas terras está ocupada por área urbana. A maior parte do solo do município está sendo utilizado para plantações de cana-de-açúcar e pastagens, deixando espaço para não mais que poucos milhares de hectares de floresta remanescente e outros tipos de ocupações (BARRETTO; SPAROVEK; GIANNOTTI, 2006). O perfil de ocupação das terras de Piracicaba, com destaque às principais classes de uso da terra, pode ser visualizado na **Tabela 01** e na **Figura 04**.

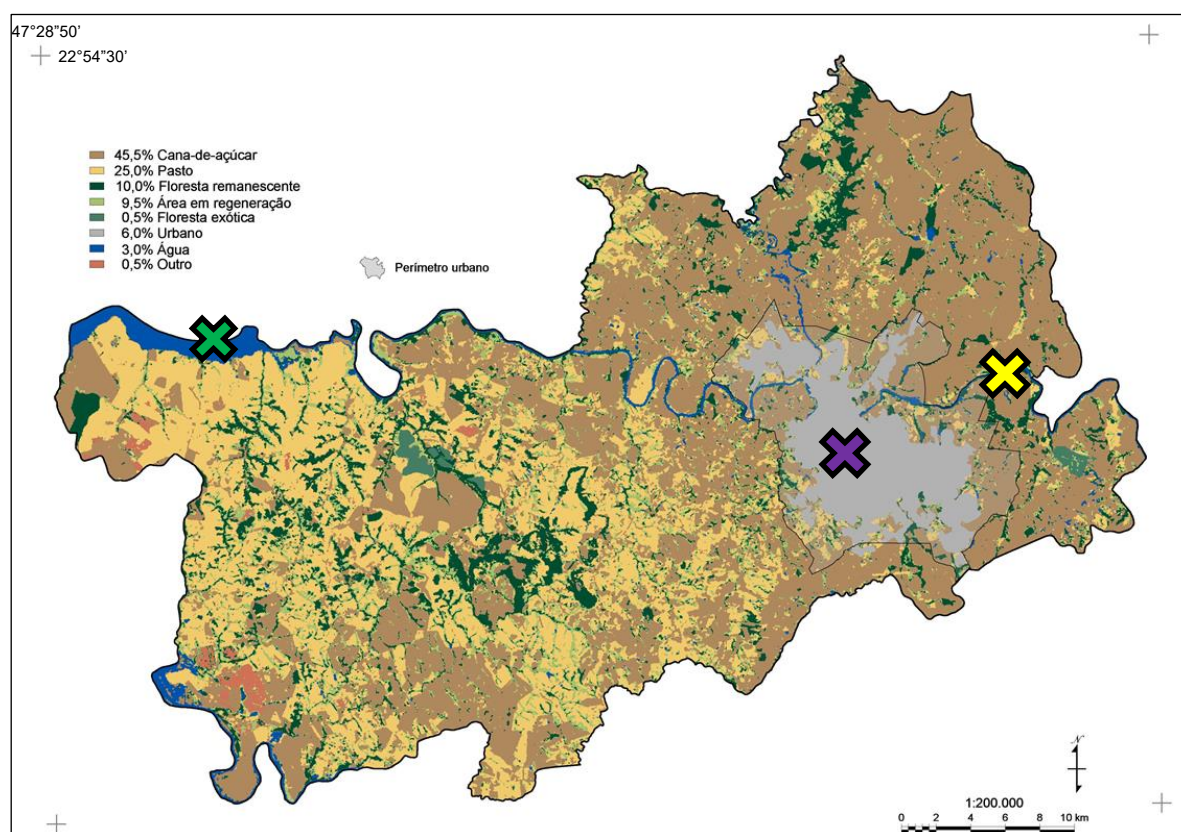
**Tabela 01** – Classificação do uso da terra de Piracicaba.

Classes de uso da terra	Total (ha)	Total (%)
Piracicaba	138.538	100,00
Cana-de-açúcar	62.978	45,46
Pasto	34.965	25,24
Floresta Remanescente	13.725	9,91



Áreas em Regeneração Natural	13.323	9,62
Floresta Exótica	627	0,45
Urbano	7.851	5,67
Água	4.140	2,99
Outros	930	0,67
APP (Área de Preservação Permanente)	11.566	8,35

Fonte: adaptado de Barretto, Sparovek e Giannotti (2006).



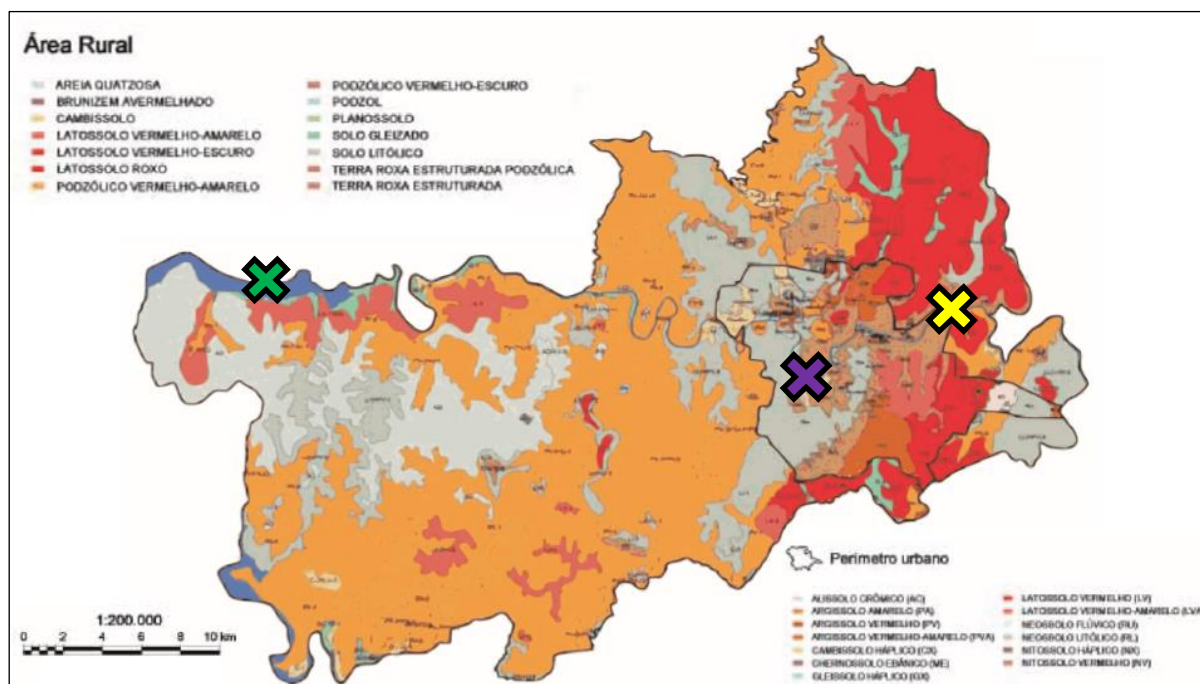
**Figura 04** – Uso da terra no município de Piracicaba. Fonte: adaptado de IPPLAP (2017). O “X” em verde representa a área de estudo Tanquã, em roxo a área Rua do Porto e em amarelo a área Monte Alegre.

Piracicaba possui tipos muito distintos de solos, sendo que na porção nordeste são encontrados latossolos com textura argilosa e grande capacidade de retenção de água, na região oeste estão presentes solos arenosos que retêm pouca água e sofrem com maiores níveis de erosão, e na região norte se encontram associações entre podzólicos, brunizens, neossolos litólicos e cambissolos (BARRETTO; SPAROVEK; GIANNOTTI, 2006). A **Tabela 02** descreve os tipos de solos, bem como sua área em hectares e porcentagem no município de Piracicaba, enquanto a **Figura 05** permite a visualização desses tipos no mapa da região.

**Tabela 02** – Tipos de solos ocorrentes no município de Piracicaba.

<b>Tipo de solo</b>	<b>Área (ha)</b>	<b>Área (%)</b>
Areia quartzosa	15.118	10,9
Brunizens avermelhados	200	0,1
Cambissolos	1.219	0,9
Latossolos roxos	3.531	2,5
Latossolos vermelho-amarelos	6.827	4,9
Latossolos vermelho-escuros	9.561	6,9
Perímetro urbano	18.140	13,1
Planossolos	268	2,99
Podzol	38	0,0
Podzólicos vermelho-amarelos	57.900	41,8
Podzólicos vermelho-escuros	1.687	1,2
Rios	3.081	2,2
Solos gleizados	2.325	1,7
Solos litólicos	17.819	12,9
Terra roxa estruturada	549	0,4
Terra roxa estruturada podzólica	286	0,2
<b>Total</b>	<b>138.548</b>	<b>100,0</b>

Fonte: adaptado de Barretto, Sparovek e Giannotti (2006).



**Figura 05** - Solos do município de Piracicaba. Fonte: adaptado de Barretto, Sparovek e Giannotti (2006). O “X” em verde representa a área de estudo Tanquã, em roxo a área Rua do Porto e em amarelo a área Monte Alegre.

Ao longo das margens do rio Piracicaba, existem diferentes tipos de áreas ao entorno com padrões próprios (eg. cana-de-açúcar, pastagem, floresta ripária, arborização urbana, etc.), que ocorrem porque a maior parte da bacia do rio Piracicaba se encontra urbanizada, gerando tais distinções (BARRETTO; SPAROVEK; GIANNOTTI, 2006). A urbanização da bacia afeta também a qualidade da água do rio, que por sua vez interfere na diversidade de diatomáceas e esponjas que podem ser encontradas nesses habitats, já que são organismos muito sensíveis às mudanças químicas, físicas e biológicas dos ambientes aquáticos (LEANDRINI; CAVALCANTI; RODRIGUES, 2010; VOLKMER-RIBEIRO; PAROLIN, 2010).

Portanto, estabelecer distintos pontos de amostragem ao longo do rio é fundamental para verificar as diferenças entre os grãos de pólen e esporos, fitólitos, espículas de esponjas e frústulas de diatomáceas presentes nos ambientes. Essa análise também permite realizar uma descrição dos microvestígios que podem ser encontrados nessas regiões, ampliando os conhecimentos acerca da diversidade no município.



## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Amostragem

#### 5.1.1. Áreas selecionadas

Foram selecionadas três áreas em diferentes pontos do rio Piracicaba. A primeira (sigla TAN, **Figura 07**) está localizada no bairro Tanquã ( $22^{\circ}40'13.4''\text{S}/48^{\circ}00'38.7''\text{W}$ ), zona rural de Piracicaba. Este bairro encontra-se em uma região alagada do rio, decorrente da construção da barragem da Usina Hidrelétrica de Barra Bonita, obra que teve início no ano de 1957 e foi concluída em 1963 (SAFFI et al., 1999). Esta barragem provocou o alagamento do Tanquã e o surgimento de um novo ecossistema, que tornou propício o crescimento de gramíneas, macrófitas aquáticas e arbustos no local (DE SOUZA LIMA et al., 2016). De acordo com o relatório técnico publicado pelo Sistema Ambiental Paulista (2018), os tipos de solo predominantes no Tanquã são os latossolos vermelhos-amarelos, com presença também de podzólicos vermelhos-amarelos e gleissolos. Os pontos de coleta foram estabelecidos próximos a um lago formado pela planície de inundação do rio Piracicaba, caracterizando o ambiente como lântico. A ação antrópica nesta área é reduzida, restringida principalmente à pesca e a passeios de barco oferecidos aos turistas (DE SOUZA LIMA et al., 2016).

A segunda área selecionada (sigla RDP, **Figura 07**) está localizada dentro do perímetro urbano de Piracicaba ( $22^{\circ}43'06.9''\text{S}/47^{\circ}39'15.3''\text{W}$ ). Esta região se caracteriza por possuir, ao entorno do rio, uma mata ciliar escassa e intensa ocupação por edificações sobre o que é caracterizado como “solo urbano” (PEDRON et al., 2004). Também por esse motivo, a ação antrópica é constante e irrestrita, de forma que seja possível encontrar muito descarte de resíduos sólidos nas águas do rio. Constantemente, esses resíduos ficam retidos entre as pedras próximas às margens, uma vez que a correnteza é mais fraca nesses pontos. No entanto, mais ao centro do canal, há fluxo hídrico constante, caracterizando o ambiente como lótico.

A terceira área selecionada (sigla MA, **Figura 07**) está localizada no extremo leste do município, no bairro Monte Alegre ( $22^{\circ}41'19''\text{S}/47^{\circ}34'59''\text{W}$ ). Trata-se de um bairro histórico piracicabano, fundado no século XX para a moradia de funcionários de uma antiga usina de cana-de-açúcar da região (BRAGA, 2013). De acordo com o que pode ser observado no mapa de solos do Atlas Rural de Piracicaba (BARRETTO; SPAROVEK; GIANNOTTI, 2006), o bairro Monte Alegre possui predominância de nitossolos. O rio Piracicaba, nesta área, está protegido por uma densa floresta ripária, que reduz a ação antrópica devido à inacessibilidade.

As **Figuras 06 e 07** mostram as três áreas selecionadas ao longo do rio Piracicaba, com destaque a sua localização em relação ao município e o percurso do rio.



**Figura 06** – Localização das três áreas de coleta ao longo do rio Piracicaba. A linha vermelha indica o limite do município e a linha azul representa o percurso do rio ao longo da região. O “X” em verde representa a área de estudo Tanquã, em roxo a área Rua do Porto e em amarelo a área Monte Alegre. Fonte: Google Earth (2022).

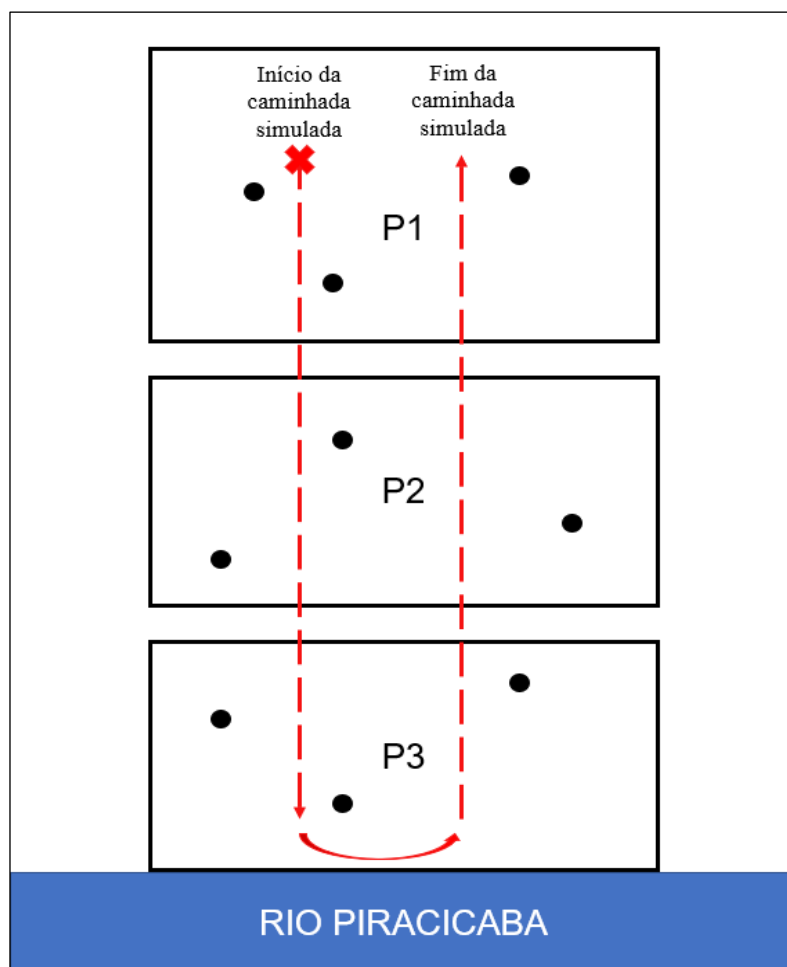


**Figura 07** – Localização e caracterização das áreas de coleta. **1A-B:** área Tanquã; **2A-B:** área Rua do Porto; **3A-B:** área Monte Alegre. As setas azuis indicam o fluxo do rio Piracicaba. Fonte (1A, 2A, 3A): Google Earth (2022).

A coleta nas áreas selecionadas foram executadas na data de 21 de maio de 2021. Em cada um dos locais (TAN, RDP e MA), foi realizado um reconhecimento da região através de fotografias do espaço, avaliação visual do tipo de solo, anotações das coordenadas e identificação das espécies vegetais predominantes na paisagem, com o auxílio de um especialista em botânica e de bibliografia especializada. Esses dados foram, posteriormente, confrontados com os resultados das análises dos substratos e dos microvestígios estudados.

### 5.1.2. Transectos

Para cada área selecionada (TAN, RDP e MA), definiram-se transectos dos quais foram retiradas as amostras controles (pontos 1, 2 e 3). Os transectos se iniciavam na área vegetada e seguiam em direção à margem do rio Piracicaba, sendo o P1 na área vegetada, o P2 na transição vegetação-rio e o P3 na margem do rio em contato mais próximo com a água (**Figura 08**).



**Figura 08** – Esquema de pontos 1, 2 e 3 nas áreas Tanquã, Rua do Porto e Monte Alegre. Os círculos pretos ilustram os locais de onde os substratos foram retirados (com distância aproximada de 1 metro entre eles) e a linha tracejada vermelha representa o trajeto da caminhada simulada, com início e finalização no P1.

A distância entre os pontos variou de acordo com os transectos, pois cada uma das áreas possuía distâncias distintas entre a região vegetada, a região de transição e a margem do rio. Na área TAN, foram 34 metros de distância do ponto 1 ao ponto 2, e 40 metros entre o ponto 2 e o ponto 3. Já na RDP, foram 18 metros do ponto 1 ao ponto 2, e 15 metros do ponto 2 ao ponto 3. Por fim, na área MA foram 20 metros de distância entre o ponto 1 e o ponto 2, e 4 metros entre o ponto 2 e o ponto 3.

A amostra retirada de cada ponto de coleta consistiu na mistura de três diferentes espaços próximos ainda no mesmo ponto (com distância aproximada de 1 metro entre eles), a fim de garantir maior amplitude e representatividade amostral (**Figura 08**). Foi coletada uma camada de 0-5 cm de substrato em cada ponto, que foi transferida para sacos plásticos identificados, lacrados e armazenados em geladeira até o processamento no laboratório.

### **5.1.3. Caminhada simulada (simulação de crime)**

Após a coleta das amostras controle, foi realizada uma caminhada simulada com o objetivo de simular um crime, no qual um criminoso caminha da área vegetada até a beira do rio para abandonar um cadáver ou uma evidência. Essa simulação foi realizada utilizando pares de botas do tipo galocha, previamente limpas de outros possíveis vestígios, sendo que um par diferente foi utilizado para a caminhada em cada um dos locais e a mesma pessoa realizou a simulação. Os calçados foram colocados nos pés no ponto 1 e a caminhada seguiu dentro do transecto estabelecido até o ponto 3, do qual retornou para o ponto 1. Novamente neste ponto, as botas foram retiradas dos pés e também armazenadas em sacos plásticos identificados, que foram lacrados e armazenados em geladeira até o processamento no laboratório (**Figura 08**).

## **5.2. Etapa de Laboratório**

### **5.2.1. Preparo das amostras controle**

Os sacos plásticos contendo as amostras foram abertos e seu conteúdo misturado, para se garantir uma adequada homogeneização da amostra. Metade desse conteúdo foi despejado em uma bandeja de alumínio e os fragmentos maiores de minerais, vegetais e animais, como insetos e moluscos, que estavam aderidos ao material foram retirados. A bandeja foi levada à estufa a uma temperatura de 60 °C até a secagem total do substrato. Do material seco, foram separadas duas subamostras, sendo 1 cm<sup>3</sup> para o processamento dos microvestígios de sílica (frústulas, espículas e fitólitos) e 1 cm<sup>3</sup> para os grãos de pólen e esporos. Para as análises de



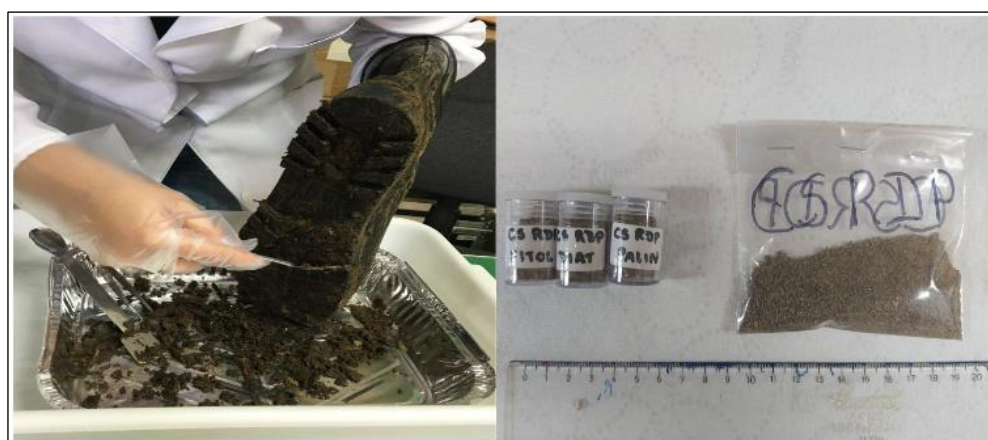
granulometria, foram retiradas frações de cada amostra, com a anotação das respectivas massas. O restante do conteúdo foi armazenado em novo saco plástico identificado e mantido em geladeira para ser utilizado futuramente se necessário (**Figura 09**).



**Figura 09** – Bandeja de alumínio utilizada para retirada dos fragmentos. As amostragens de 1 cm<sup>3</sup> foram armazenadas em pequenos tubos de plástico.

### 5.2.2. Extração de resíduos dos calçados

Os calçados foram retirados do saco plástico e colocados sobre uma bandeja de alumínio, na qual foram extraídos os substratos aderidos à superfície e nas reentrâncias do solado. O máximo de conteúdo foi removido, incluindo os fragmentos de vegetais e animais. As bandejas foram levadas à estufa na temperatura de 60 °C para a secagem total do substrato. Duas subamostras de 1 cm<sup>3</sup> foram separadas para o processamento de palinomorfos e microvestígios de sílica, e frações de substrato com massas registradas foram amostradas para a granulometria. O restante do conteúdo foi armazenado em um novo saco plástico identificado e guardado em geladeira para ser utilizado futuramente se necessário (**Figura 10**).



**Figura 10** – Extração dos resíduos aderidos aos calçados em uma bandeja de alumínio. As amostragens de 1 cm<sup>3</sup> foram armazenadas em pequenos tubos de plástico.

### 5.2.3. Análise de cor e granulometria dos substratos

Para a caracterização da cor dos substratos, foi realizada uma comparação visual com a Carta de Cores Munsell para Solos (2009). A análise granulométrica ocorreu por meio do granulometro a laser SALD-2201 SHIMADZU. O pré-tratamento das amostras seguiu protocolo adaptado de Borotti Filho (2013), que utiliza de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para eliminação da matéria orgânica e HCl 4% para eliminação de carbonatos. O processamento ocorreu nestas etapas:

1. A fração de amostra com massa registrada foi colocada em béquer de 250 mL;
2. Digestão com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% a quente (80°C) até que houvesse ausência de reação;
3. Béquer foi completado com água desionizada e deixado para decantação;
4. Retirada do sobrenadante;
5. Adicionado HCl 4% até completar o béquer e deixado a frio até decantar;
6. Retirada do sobrenadante;
7. Realizadas 3 lavagens com água desionizada, por meio de decantação;
8. Amostras foram submetidas ao aparelho de ultrassom para desagregação das partículas;
9. Peneiramento das amostras em malha de 1 mm.

O material retido na peneira foi seco em estufa, pesado, armazenado e caracterizado como cascalho, enquanto o restante seguiu para a análise granulométrica. Os resultados obtidos foram classificados de acordo com a escala de Wentworth (1922) e os gráficos foram produzidos no Excel.

### 5.2.4. Análise palinológica

O processamento químico para a extração dos grãos de pólen e esporos, utilizando acetólise com anidrido acético e ácido sulfúrico para a eliminar o conteúdo celular e facilitar a visualização e o reconhecimento dos caracteres morfológicos, seguiu o protocolo palinológico descrito em Faegri e Iversen (1989) e Colinvaux, De Oliveira e Patinõ (1999). O processamento ocorreu nas seguintes etapas:

1. 1 cm<sup>3</sup> de amostra foi colocado em um tubo falcon de 15 mL;
2. Adicionada uma pastilha de *Lycopodium clavatum* (~20.848 grãos/tablete);
3. Adicionado 10 mL de HCl 10% até a dissolução da pastilha;

4. Realizadas duas lavagens com água desionizada para a retirada do excesso de ácido (centrifugação a 2500 rpm durante 5 minutos);
5. Adicionado HF no banho-maria por 30 minutos para dissolução da sílica;
6. Centrifugação e descarte do sobrenadante;
7. Adicionado 10 mL de HCl 10% para eliminação de possíveis carbonatos;
8. Lavagem com H<sub>2</sub>O desionizada;
9. Adicionado KOH 5% no banho-maria por 3 min para a oxidação da matéria orgânica;
10. Duas lavagens com H<sub>2</sub>O desionizada;
11. Adicionado Ácido Acético Glacial para preparar a amostra para receber a acetólise;
12. Centrifugação e descarte do sobrenadante;
13. Adicionado Ácido Acético Glacial novamente;
14. Centrifugação e descarte do sobrenadante;
15. Acetólise (9:1 - anidrido acético:ácido sulfúrico) durante 15 minutos em banho-maria a 100 °C para eliminação do conteúdo celular;
16. Completado com Ácido Acético Glacial até 15 mL;
17. Duas lavagens com água desionizada;
18. Adicionado Álcool Absoluto para facilitar a eliminação de água da amostra;
19. Centrifugação e descarte;
20. Adicionadas algumas gotas de glicerina bidestilada;
21. Secagem em estufa a 50 °C até evaporação do álcool.

Para caracterizar a assembleia polínica, foi quantificado um mínimo de 300 grãos de pólen e esporos em cada amostra. Os marcadores externos de *Lycopodium clavatum* foram contabilizados paralelamente, a fim de permitir o posterior cálculo de concentrações (**Equação I**). Em casos nos quais a contagem mínima de palinomorfos não foi viável devido a sua escassez na amostra, optou-se por realizar a quantificação mínima de 200 grãos de esporos exóticos. Foram preparadas, para cada amostra, quatro lâminas semi-permanentes (seladas com parafina e esmalte) que foram lidas integralmente, e novas lâminas foram produzidas quando necessário para se concluir a contagem.

$$\text{Grãos/cm}^3 = \frac{(\text{número de marcadores externos adicionados}) \times (\text{grãos contados})}{(\text{número de marcadores externos contados}) \times (\text{volume do sedimento})} \quad (\text{Equação I})$$

Os grãos de pólen e esporos foram identificados com base em livros e manuais especializados (ROUBIK; MORENO, 1991; COLINVAUX; DE OLIVEIRA; PATINÕ, 1999; BUSH; WENG, 2007; HESSE et al., 2008; LORENTE et al., 2017), além da coleção de referência, ou seja, a palinoteca do Laboratório C-14 do CENA/USP e do Laboratório de Micropaleontologia e de Paleobotânica do IGc/USP. Os diagramas polínicos foram confeccionados utilizando os softwares Tilia e Tilia Graph.

### 5.2.5. Análise de sílica

A extração dos microvestígios de sílica (frústulas de diatomáceas, espículas de esponjas e fitólitos) foi realizada segundo Batarbee (1986), com utilização de  $H_2O_2$  para a oxidação da matéria orgânica e HCl para a eliminação de carbonatos. Pastilhas de *Lycopodium clavatum* foram adicionadas com o objetivo de possibilitar o cálculo de concentrações, conforme descrito por Batarbee (1986) e Harrison (1988). O processamento ocorreu nas seguintes etapas:

1. 1 cm<sup>3</sup> de amostra foi colocado em um béquer de 200 mL;
2. Adicionados 50 mL de  $H_2O_2$  35% para oxidação da matéria orgânica;
3. Aquecimento em chapa aquecedora a 70 °C. A oxidação foi realizada até que houvesse ausência de reação (formação de bolhas);
4. Conteúdo foi transferido para um tubo falcon de 50 mL;
5. Lavagem com água desionizada até obtenção do pH neutro (centrifugação a 1000 rpm durante 5 minutos);
6. Adicionada uma pastilha de *Lycopodium clavatum* (~20.848 grãos/tablete);
7. Tubo completado à 50 mL com HCl 10% para eliminação de carbonatos;
8. Banho-maria na temperatura de 80 °C por cerca de 3 horas;
9. Nova lavagem com água desionizada até se atingir o pH neutro;
10. Amostra transferida para um tubo de vidro identificado e armazenado em geladeira.

Para a quantificação de fitólitos e espículas de esponja, foi estabelecida a contagem mínima de 300 morfotipos de cada um, número que permite a caracterização da assembleia desses microvestígios nos locais de coleta. A contagem foi realizada a partir da seleção randômica de três transectos em uma lâmina, sendo que três lâminas permanentes com entellan (índice de refração = 1,5) foram preparadas para cada amostra. Também foram paralelamente contabilizados os grãos de *Lycopodium clavatum* (HARRISON, 1988) e realizados os cálculos



de concentração (**Equação II e III**). No caso de amostras em que o valor mínimo de 300 morfotipos não pôde ser atingido, optou-se por contar o máximo de lâminas inteiras possível. Os softwares Tilia e Tilia Graph foram utilizados para a plotagem de diagramas fitolíticos e de espículas de esponjas.

$$\text{Fitólitos/cm}^3 = \frac{(\text{número de marcadores externos adicionados}) \times (\text{fitólitos contados})}{(\text{número de marcadores externos contados}) \times (\text{volume do sedimento})} \text{ (Equação II)}$$

$$\text{Espículas/cm}^3 = \frac{(\text{número de marcadores externos adicionados}) \times (\text{espículas contadas})}{(\text{número de marcadores externos contados}) \times (\text{volume do sedimento})} \text{ (Equação III)}$$

Todos os morfotipos encontrados foram fotografados e, posteriormente, comparados com a literatura para a sua identificação. Para os fitólitos, foi utilizado o Código Internacional de Nomenclatura de Fitólitos 2.0 (ICPT, 2019), além de bibliografia especializada (TWISS; SUESS; SMITH, 1969; PIPERNO, 1988; RAPP JR.; MULHOLLAND, 1992; FREDLUND; TIESZEN, 1994; ALEXANDRE et al., 1997). Já para a identificação de espículas de esponjas, foram utilizados como consulta os trabalhos de Volkmer-Ribeiro e De Rosa-Barbosa (1985), Manconi e Pronzato (2002), Cândido, Volkmer-Ribeiro e Fürstenau-Oliveira (2010), Volkmer-Ribeiro e Parolin (2010) e Pinheiro e Calheira (2020).

A observação das diatomáceas, por sua vez, seguiu um método diferente de análise, uma vez que se optou por realizar apenas a verificação de presença e ausência de táxons nas amostras. Portanto, foram produzidas duas lâminas permanentes com resina Naphrax (índice de refração = 1,7) para a melhor visualização das características morfológicas das diatomáceas. Essas lâminas foram lidas inteiramente e todas as diferentes frústulas foram fotografadas e registradas em uma tabela de presença e ausência.

Para a identificação, também foi utilizada bibliografia especializada (MOREIRA-FILHO, 1960; BICUDO; BICUDO, 1970; MOREIRA-FILHO; VALENTE-MOREIRA; CECY, 1975; ROUND; CRAWFORD; MANN, 1990; SILVA-CUNHA; ESKINAZI-LEÇA, 1990; DE OLIVEIRA; STEINITZ-KANNAN, 1992; MORO; FÜRSTERNBERGER, 1997; WITKOWSKI; LANGE-BERTALOT; METZELTIN, 2000; FÜRSTERNBERGER, 2001; HOUK, 2003; ZORZAL-ALMEIDA, 2016; SPAULDING et al., 2021). Dada a complexidade das características morfológicas e taxonômicas das diatomáceas, optou-se por realizar a identificação dos táxons apenas a nível de gênero. Os softwares Tilia e Tilia Graph foram utilizados para a plotagem de diagramas de presença e ausência de diatomáceas nas amostras.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Área do Tanquã

#### 6.1.1. Caracterização da vegetação

Os três pontos de coleta possuem assembleias florísticas diferentes entre si. No P1, há predomínio de pasto, provavelmente exótico e plantado pela comunidade ribeirinha. No P2, a vegetação ao entorno do ponto de coleta é constituída por uma mistura entre pastagem, gramínea rasteira e a abundante presença de outra herbácea chamada erva-de-bicho (*Polygonum hydropiper*), uma espécie da família Polygonaceae. O P3 é caracterizado como um local de brejo, no qual se observa a predominância de macrófitas aquáticas, com destaque para as salvinias. Mais distante aos três pontos, se verifica a presença de plantas características, tais como as palmeiras da família Arecaceae e alguns vegetais da família Pinaceae.

#### 6.1.2. Caracterização do solo e granulometria

A análise granulométrica demonstrou que o substrato no P1 e P2 é argilo-siltoso (cor 2.5 Y 5/2 - grayish brown e 2.5 Y 4/2 - dark grayish brown, respectivamente). O P3, mais próximo ao rio, é caracterizado como areia franca (cor 2.5 Y 4/2 - dark grayish brown). O substrato retirado das botas utilizadas na caminhada simulada (CS) segue o mesmo padrão da amostra P3 (areia franca, cor 2.5 Y 4/2 - dark grayish brown). A **Tabela 03** apresenta as porcentagens de granulometria.

**Tabela 03** – Granulometrias obtidas nas amostras dos pontos 1, 2, 3 e CS do Tanquã

Partículas	P1-TAN	P2-TAN	P3-TAN	CS-TAN
Cascalho (> 1 mm)	0	0	0	0
Areia grossa (1 mm - 500 µm)	0	0	0	0,06%
Areia média (500 µm - 250 µm)	0	0	7,23%	11,90%
Areia fina (250 µm - 125 µm)	0	0	51,48%	52,06%
Areia muito fina (125 µm - 63 µm)	0	0,01%	24,53%	20,76%
Silte (63 µm - 4 µm)	46,30%	51,54%	14,01%	11,79%
Argila (< 4 µm)	53,70%	48,45%	2,75%	3,43%

### 6.1.3. Palinologia

Foi possível chegar à contagem de 300 grãos de pólen e esporos apenas nas amostras P1 e P2, para as quais foram contados 314 e 357 grãos, respectivamente. A amostra P3 apresentou 69 grãos identificáveis e a amostra CS registrou 105 grãos. Quanto às concentrações, calculou-se a quantidade de 61.757 grãos/cm<sup>3</sup> para P1, 38.764 grãos/cm<sup>3</sup> para P2, 7.157 grãos/cm<sup>3</sup> para P3 e 10.945 grãos/cm<sup>3</sup> para CS.

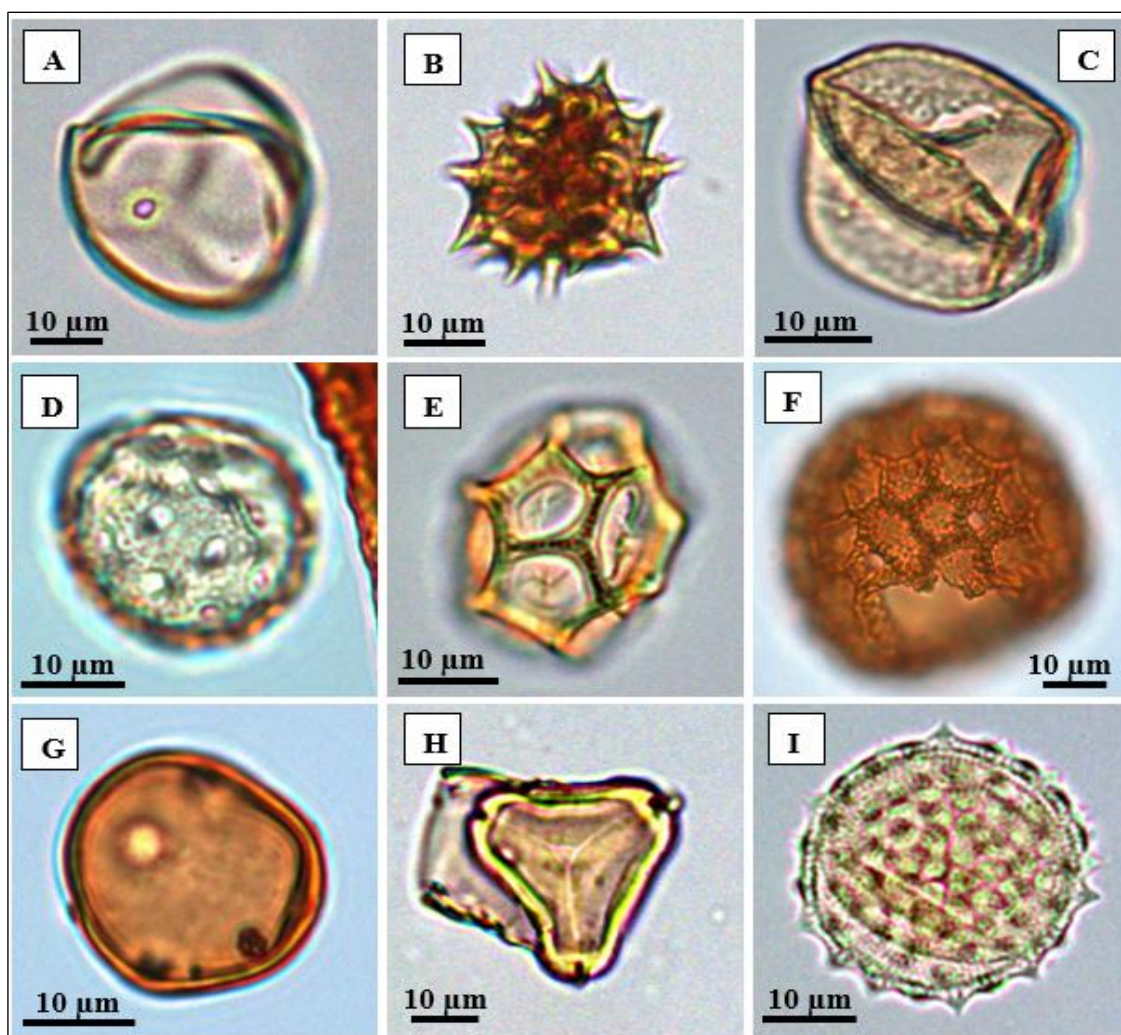
As contagens registraram um predomínio de elementos herbáceos, dentre os quais destacam-se as famílias Poaceae (táxon predominante com média de 56% entre os pontos), Asteraceae ( $\pm 21\%$ ), Cyperaceae ( $\pm 9\%$ ) e Polygonaceae ( $\pm 4\%$ ). Também foram registrados grãos de pólen de *Althernanthera* sp. e *Amaranthus* sp., ambos gêneros da família Amaranthaceae. Esses táxons, no entanto, tiveram baixa representatividade, apresentando valores percentuais menores que 4%.

Os elementos arbóreos, as plantas aquáticas e os esporos de pteridófitas também apareceram com porcentagens menores que 4%, com exceção da família Pinaceae na amostra P3, que foi contada em 4,35%. Os grãos registraram a presença das famílias Apocynaceae, Arecaceae, Betulaceae, Euphorbiaceae, Malpighiaceae, Malvaceae sensu stricto, Myrsinaceae, Myrtaceae, Rutaceae, Alismataceae, Typhaceae, Anemiaceae, Lycopodiaceae e Polypodiaceae. A **Tabela 04** informa os valores percentuais de grãos em cada uma das amostras, enquanto a **Figura 11** apresenta alguns dos grãos encontrados.

**Tabela 04** – Grãos de pólen e esporos nas amostras do Tanquã. A abreviação “V. absoluto” significa “valor absoluto”.

Famílias	P1-TAN	P2-TAN	P3-TAN	CS-TAN
	(%)			
Apocynaceae ( <i>Forsteronia</i> sp.)	0,96	0,28	1,45	0,00
Arecaceae	0,00	0,28	0,00	0,00
Betulaceae	0,00	0,28	0,00	0,00
Euphorbiaceae ( <i>Croton</i> sp.)	0,32	0,00	0,00	0,00
Euphorbiaceae ( <i>Maprounea</i> sp.)	0,00	0,00	1,45	1,90
Euphorbiaceae ( <i>Ricinus</i> sp.)	0,00	0,28	1,45	0,00
Malpighiaceae ( <i>Banisteriopsis</i> sp.)	0,32	0,28	0,00	0,00
Malvaceae sensu stricto	0,32	0,28	1,45	0,00
Myrsinaceae ( <i>Myrsine</i> sp.)	0,00	0,28	0,00	0,00
Myrtaceae	0,32	0,00	1,45	0,00
Pinaceae	0,00	0,28	4,35	0,00
Rutaceae ( <i>Zanthoxylum</i> sp.1)	0,00	0,00	1,45	0,00
Amaranthaceae ( <i>Alternanthera</i> sp.)	0,00	0,84	1,45	0,00
Amaranthaceae ( <i>Amaranthus</i> sp.)	0,32	0,28	1,45	0,95

Asteraceae	2,87	56,58	10,14	17,14
Cyperaceae	4,46	11,20	14,49	5,71
Poaceae	85,35	22,69	53,62	65,71
Polygonaceae ( <i>Polygonum</i> sp.)	3,50	6,16	1,45	6,67
Alismataceae ( <i>Echinodorus</i> sp.)	0,32	0,00	0,00	0,00
Typhaceae ( <i>Typha</i> sp.)	0,00	0,00	2,90	0,95
Anemiaceae	0,32	0,00	0,00	0,00
Lycopodiaceae ( <i>Lycopodiella</i> sp.)	0,32	0,00	0,00	0,00
Monolete psilado	0,32	0,00	0,00	0,95
Polypodiaceae ( <i>Polypodium</i> sp.)	0,00	0,00	1,45	0,00
Concentração total (grãos/cm <sup>3</sup> )	61.757	38.0764	7.157	10.945
Grãos contados (v. absoluto)	314	357	69	105
<i>Lycopodium</i> contados (v. absoluto)	106	192	201	200



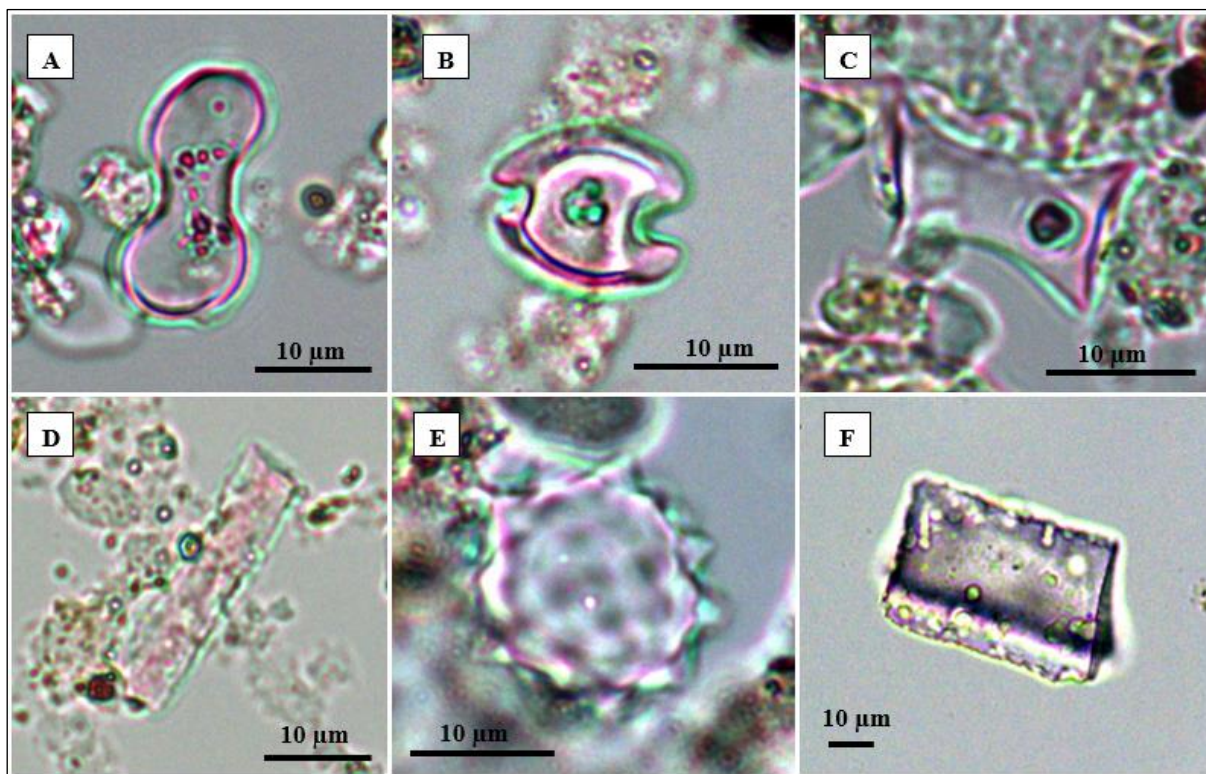
**Figura 11** – Grãos de pólen observados nas amostras do Tanquã. **A:** Poaceae. **B:** Asteraceae. **C:** Cyperaceae. **D:** *Amaranthus* sp. (Amaranthaceae). **E:** *Alternanthera* sp. (Amaranthaceae). **F:** *Polygonum* sp. (Polygonaceae). **G:** Apocynaceae. **H:** Myrtaceae. **I:** Malvaceae *sensu stricto*.

### 6.1.4. Fitólitos

As concentrações de fitólitos no Tanquã foram de 1.094.520 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P1, 501.841 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P2, 506.767 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P3 e 731.996 fitólitos/cm<sup>3</sup> para CS. Uma média de 16 tipos de fitólitos foi identificada em cada amostra e os valores percentuais desses morfotipos podem ser visualizados na **Tabela 05**. Em todos os pontos, houve predominância dos tipos característicos de gramíneas, denominados Grass Sílica Short-Cell Phytoliths (GSSCP): BILOBATE, SADDLE e RONDEL, sendo o primeiro o mais abundante entre eles. Também foram representativos os fitólitos ELONGATE ETIRE e BLOCKY, que são produzidos por subfamílias de gramíneas (TWISS; SUESS; SMITH, 1969). Outro fitólito que se destacou nas contagens foi o chamado SPHEROID ECHINATE, característico das famílias Arecaceae e Bromeliaceae. A **Figura 12** apresenta os principais morfotipos de fitólitos identificados.

**Tabela 05** – Fitólitos nas amostras do Tanquã. A abreviação “V. absoluto” significa “valor absoluto”.

Morfotipos	P1-TAN	P2-TAN	P3-TAN	CS-TAN
	(%)			
BULLIFORM FLABELLATE	1,59	2,08	2,53	0,95
BLOCKY	2,86	4,45	13,92	8,86
TRACHEARY	0,00	0,30	0,63	0,00
ELONGATE DENTATE	0,32	3,56	0,00	0,95
ELONGATE ENTIRE	7,30	5,34	12,03	15,51
ACUTE BULBOSUS	0,32	0,00	0,63	0,00
SPHEROID ECHINATE	5,08	23,15	26,27	24,68
SPHEROID ORNATE	1,90	0,59	1,90	0,95
SPHEROID PSILATE	0,63	0,89	0,32	1,58
PAPILLATE	0,32	0,30	0,00	0,00
BILOBATE	38,73	23,44	12,66	13,61
SADDLE	7,94	10,09	11,71	8,86
RONDEL	10,16	9,50	6,65	10,44
POLYLOBATE	3,49	1,78	0,95	0,32
CROSS	11,11	2,37	0,95	5,06
CRENATE	0,00	0,00	0,95	0,32
TRAPEZOID	3,49	0,89	2,53	2,85
ELONGATE CLAVATE	0,32	0,00	0,00	0,00
OBLONG ORNATE	0,32	0,30	0,00	0,00
OBLONG ECHINATE	0,32	0,00	0,00	0,00
CONICAL ECHINATE	0,32	0,00	0,00	0,00
RECTANGULAR COLUMNAR PSILATE	0,00	0,00	0,32	0,00
SPHEROID VERRUCATE	3,49	10,98	5,06	5,06
Concentração total (fitólitos/cm <sup>3</sup> )	1.094.520	501.841	506.767	731.996
Fitólitos contados (v. absoluto)	304	300	300	300
<i>Lycopodium</i> contados (v. absoluto)	6	14	13	9



**Figura 12** – Fitólitos do tipo BILOBATE (A), SADDLE (B), RONDEL (C), ELONGATE ENTIRE (D), SPHEROID ECHINATE (E) e BLOCKY (F).

Dois outros fitólitos que tiveram destaque nas contagens foram os chamados CROSS, também considerado um GSSCP, e um SPHEROID VERRUCATE bastante distinto, que não foi associado a nenhum grupo específico de plantas. Os demais tipos identificados tiveram baixa representatividade e apresentaram valores percentuais menores que 4%.

#### 6.1.5. Espículas de esponjas

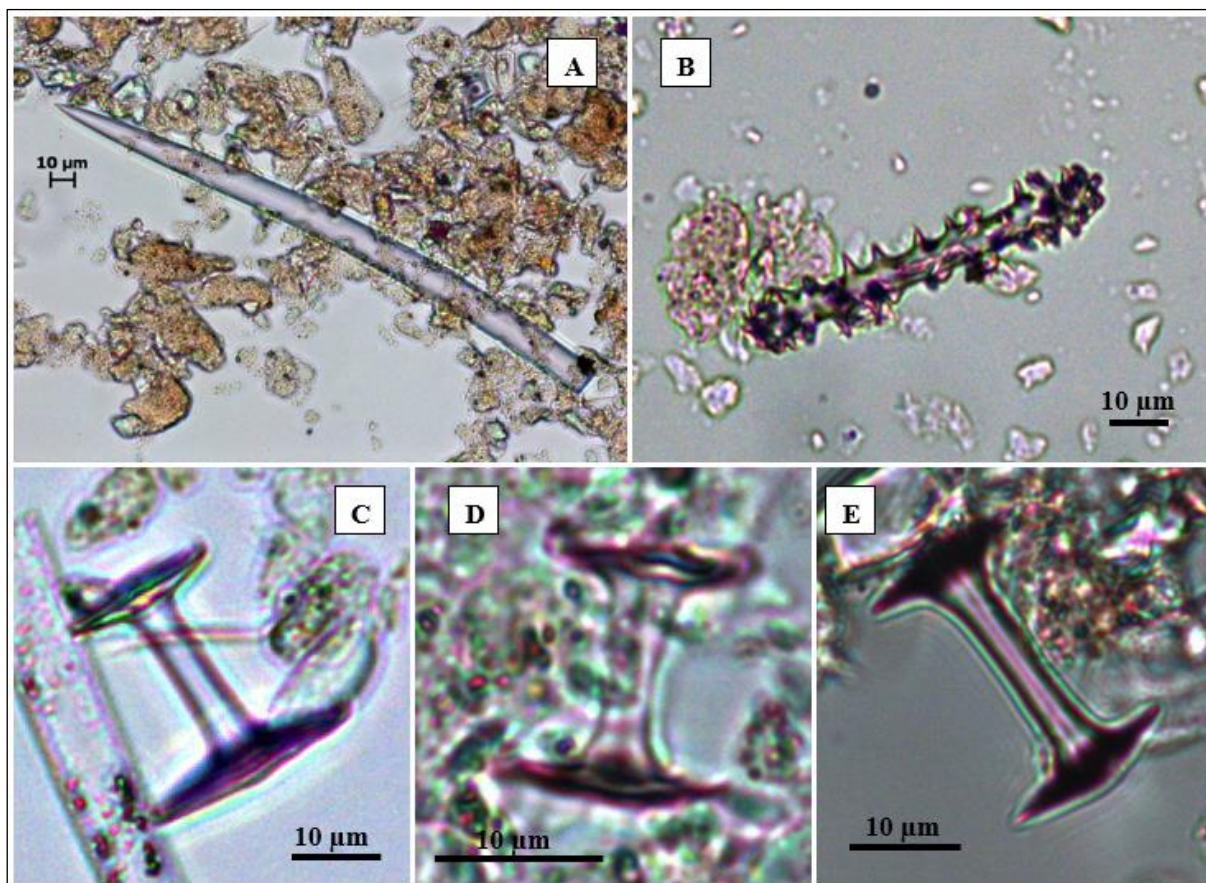
Foi possível a contagem de 300 espículas apenas nas amostras P1 e P2. As amostras P3 e CS apresentaram, respectivamente, 36 e 32 espículas identificáveis. Quanto às concentrações, calculou-se a quantidade de 107.834 espículas/cm<sup>3</sup> para P1, 201.754 espículas/cm<sup>3</sup> para P2, 20.848 espículas/cm<sup>3</sup> para P3 e 17.556 espículas/cm<sup>3</sup> para CS. A porcentagem de espículas do tipo gemosclera foi maior em quase todas as amostras, com exceção da P3, que apresentou 3% a mais de megascleras (**Tabela 06**). As amostras P3 e CS foram as únicas que registraram também a presença de microscleras acantóxeas, mas que estavam, em sua maioria, fragmentadas. Em relação às megascleras, as maiores porcentagens correspondem às óxeas, mas também foram contabilizados tipos como estrôngilo, acantóxea e acantoestrôngilo. Por fim, a maioria das gemoscleras identificadas são do tipo birrótulas, características do gênero



*Tubella* Carter, 1881. Foram identificadas três espécies pertencentes a este gênero nas amostras do Tanquã: *T. paulula* (Bowerbank, 1863); *T. variabilis* (Bonetto & Ezcurra de Drago, 1973); e *T. lanzamirandai* (Bonetto & Ezcurra de Drago, 1964). Também foram contabilizadas, em menor quantidade, gemoscleras do tipo acantoestrôngilo, que caracterizam a espécie *Radiospongilla amazonensis* Volkmer-Ribeiro & Maciel, 1983. A **Figura 13** apresenta as principais espículas identificadas nas amostras do Tanquã.

**Tabela 06** – Espículas de esponjas nas amostras do Tanquã. A abreviação “V. absoluto” significa “valor absoluto”.

Espículas	P1-TAN	P2-TAN	P3-TAN	CS-TAN
	(% )			
Megasclera óxea	24,67	19,33	2,78	12,50
Megasclera estrôngilo	0,67	0,00	2,78	0,00
Megasclera acantóxea	0,00	2,00	2,78	0,00
Megasclera acantoestrôngilo	0,67	1,00	0,00	0,00
Megasclera fragmentada	12,33	4,00	36,11	6,25
Megasclera acanto fragmentada	1,00	0,00	2,78	3,13
Gemosclera acantoestrôngilo	1,33	0,00	13,89	15,63
Gemosclera birrótula	59,33	73,67	30,56	46,88
Gemosclera acantóxea	0,00	0,00	0,00	3,13
Microsclera acantóxea	0,00	0,00	0,00	3,13
Microsclera estrôngilo	0,00	0,00	0,00	0,00
Microsclera acanto fragmentada	0,00	0,00	8,33	6,25
Microsclera acantóxea fragmentada	0,00	0,00	0,00	3,13
Concentração total (espículas/cm <sup>3</sup> )	107.834	201.755	20.848	17.556
Espículas contadas (v. absoluto)	300	300	36	32
<i>Lycopodium</i> contados (v. absoluto)	58	31	36	38



**Figura 13** – Espículas de esponjas observadas nas amostras do Tanquã. **A:** Megasclera óxea. **B:** Gemosclera de *Radiospongilla amazonensis*. **C:** Gemosclera de *Tubella paulula*. **D:** Gemosclera de *T. variabilis*. **E:** Gemosclera de *T. lanzamirandai*.

#### 6.1.6. Diatomáceas

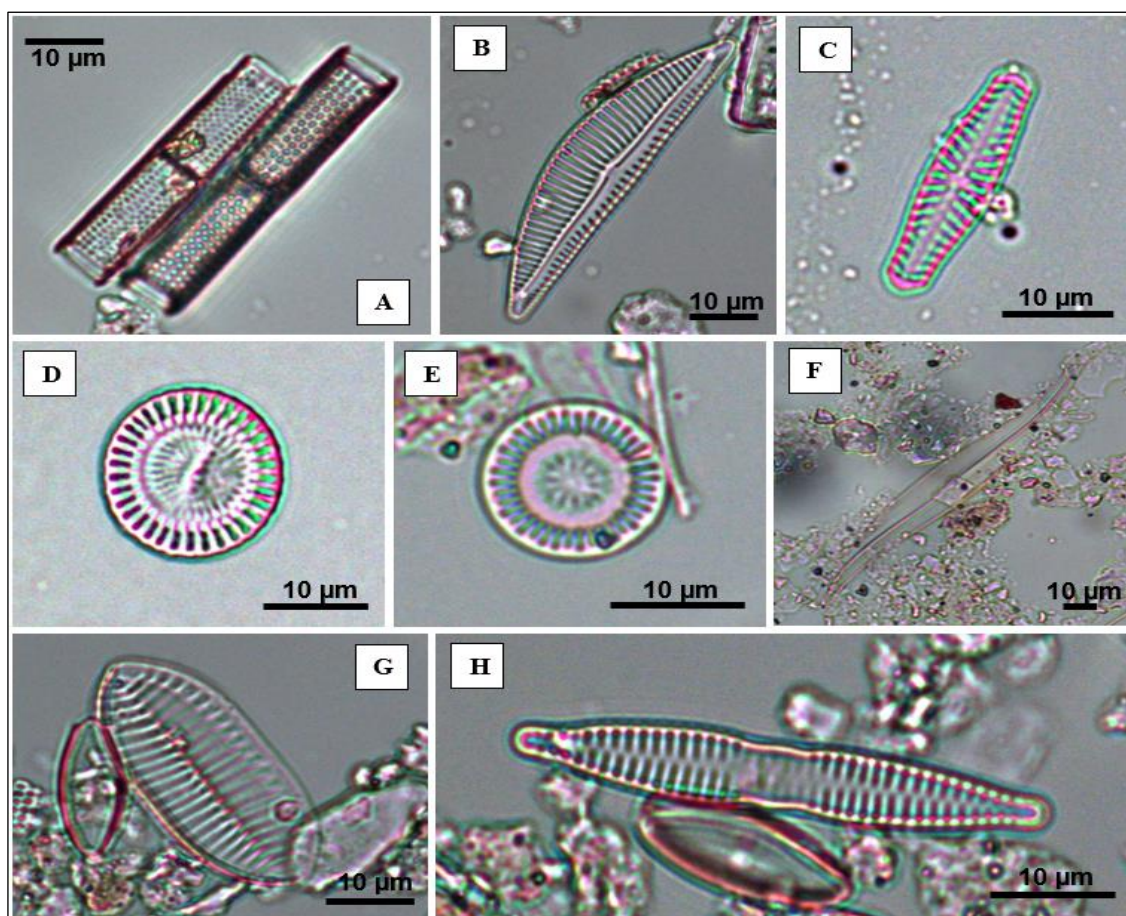
O levantamento de presença e ausência de frústulas apontou a existência de 25 gêneros de diatomáceas nas amostras do Tanquã. O nome dos gêneros, sua morfologia e a descrição das amostras em que apareceram podem ser encontradas na **Tabela 07**. As fotos de algumas das principais frústulas observadas estão apresentadas na **Figura 14**.

**Tabela 07** – Gêneros de diatomáceas observados nas amostras do Tanquã. X corresponde à presença e 0 à ausência de frústulas na amostra. A abreviação “Birraf. sim.” remete à morfologia “birrafídea simétrica” das diatomáceas.

Morfologias	Gêneros	P1-TAN	P2-TAN	P3-TAN	CS-TAN
		(% )			
Arrafídeas	<i>Fragilaria</i> sp.	X	X	X	X
Arrafídeas	<i>Synedra</i> sp.	0	X	0	0
Arrafídeas	<i>Ulnaria</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Encyonema</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Gomphonema</i> sp.	X	X	X	X

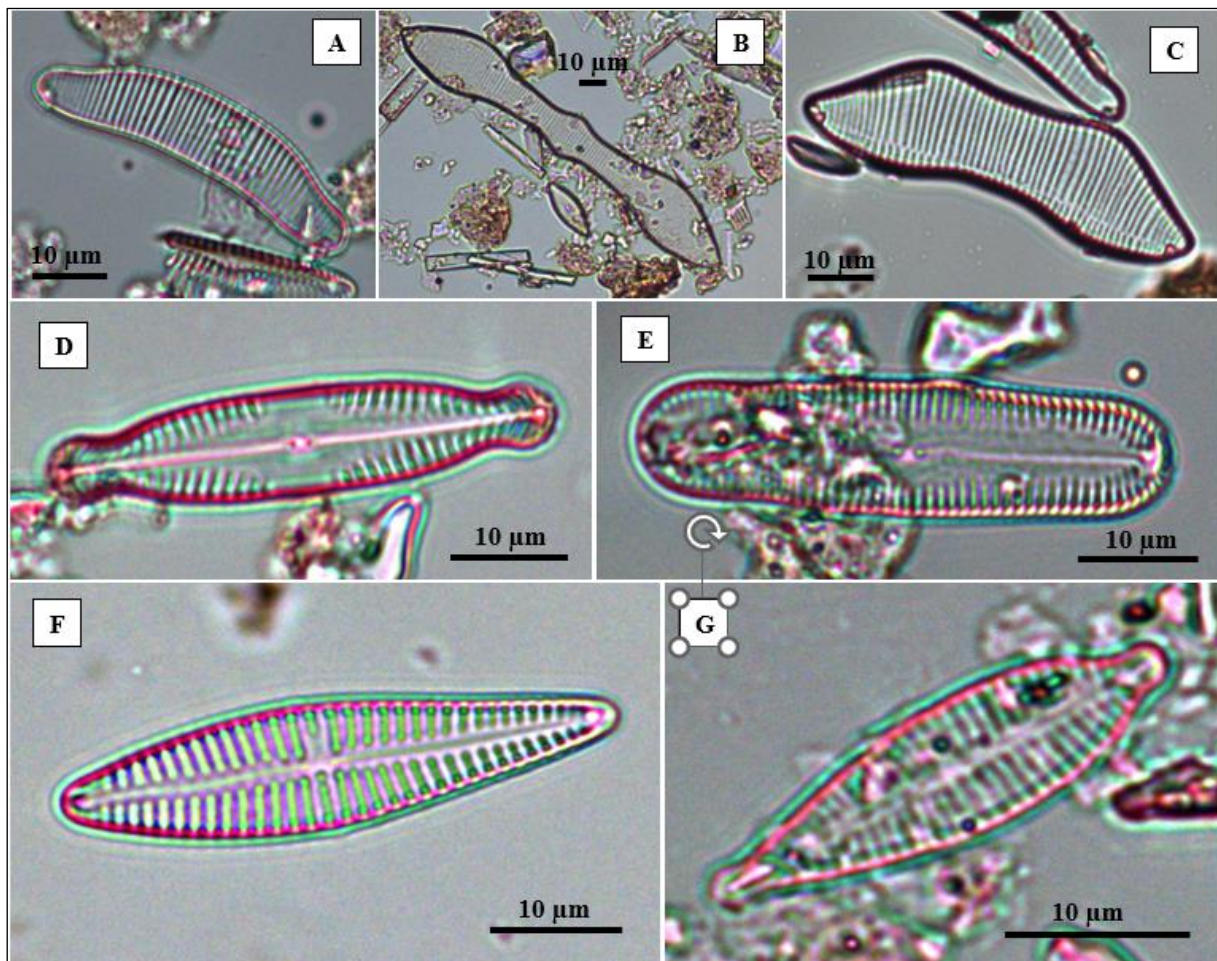


Birraf. sim.	<i>Capartograma</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Craticula</i> sp.	0	0	0	X
Birraf. sim.	<i>Diadesmis</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Frustulia</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Gyrosigma</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Hippodonta</i> sp.	X	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Luticola</i> sp.	0	0	X	0
Birraf. sim.	<i>Navicula</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Pinnularia</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Placoneis</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Sellaphora</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Stauroneis</i> sp.	0	X	0	X
Cêntricas	<i>Aulacoseira</i> sp.	X	X	X	X
Cêntricas	<i>Cyclostephanos</i> sp.	X	0	0	X
Cêntricas	<i>Cyclotella</i> sp.	X	X	X	X
Cêntricas	<i>Discostella</i> sp.	X	X	0	X
Eunotiídes	<i>Eunotia</i> sp.	X	X	X	X
Nitzschóides	<i>Nitzschia</i> sp.	X	X	X	X
Nitzschóides	<i>Tryblionella</i> sp.	X	X	X	X
Surirelóides	<i>Iconella</i> sp.	0	0	X	X



**Figura 14** – Frústulas de diatomáceas nas amostras do Tanquã. **A:** *Aulacoseira* sp. **B:** *Encyonema* sp. **C:** *Hippodonta* sp. **D:** *Cyclostephanos* sp. **E:** *Discostella* sp. **F:** *Gyrosigma* sp. **G:** *Tryblionella* sp. **H:** *Fragilaria* sp.

Na observação das lâminas, ficou evidente a existência de diferentes espécies de um mesmo gênero, caracterizando, assim, uma diversidade de diatomáceas ainda maior do que a que foi registrada. Essa condição ocorreu em diversos gêneros como *Eunotia* sp., *Gomphonema* sp., *Pinnularia* sp., entre outros. Esses exemplos podem ser visualizados na **Figura 15**.



**Figura 15** – Diatomáceas dos gêneros *Eunotia* sp. (A-C), *Pinnularia* sp. (D-E) e *Gomphonema* sp. (F-G).

## 6.2. Área da Rua do Porto

### 6.2.1. Caracterização da vegetação

A vegetação da Rua do Porto é fragmentada e escassa devido a acentuada urbanização da área. No entanto, ao longo dos pontos 1 e 2 é possível observar a presença de árvores e arbustos característicos como figueiras (Moraceae), jambolão (Myrtaceae), leucenas (Fabaceae), bambus (Poaceae), ingás (Fabaceae), hibiscos (Malvaceae) e tipuanas (Fabaceae). Também se verificam algumas cactáceas e epífitas, tais como orquídeas, bromélias e

samambaias. No ponto 3, está presente apenas gramínea rasteira, que se estende do P1 ao P3, onde se encerra nas pedras próximas à margem do rio.

### 6.2.2. Caracterização do solo e granulometria

As análises granulométricas caracterizaram um substrato franco-argiloso (cor 5 YR 4/4 – reddish brown) para P1, arenoso (cor 10 YR 4/4 – dark yellowish brown) para P2 e arenoso (cor 10 YR 5/3 – brown) para P3 e CS. A amostra P3 apresentou composição majoritária por cascalho (**Tabela 08**).

**Tabela 08** – Granulometrias obtidas das amostras dos pontos 1, 2, 3 e CS da Rua do Porto

Partículas	P1-RDP	P2-RDP	P3-RDP	CS-RDP
Cascalho (> 1 mm)	0,79%	0	51,55%	2,51%
Areia grossa (1 mm - 500 µm)	0	0	11,41%	17,24%
Areia média (500 µm - 250 µm)	0	33,53%	16,84%	46,95%
Areia fina (250 µm - 125 µm)	20,70%	65,90%	18,46%	32,11%
Areia muito fina (125 µm - 63 µm)	9,26%	0,58%	1,46%	1,14%
Silte (63 µm - 4 µm)	41,60%	0	0,28%	0,06%
Argila (< 4 µm)	27,65%	0	0	0

### 6.2.3. Palinologia

Devido à escassez, a contagem de 300 grãos de pólen e esporos não foi possível em nenhuma das amostras da Rua do Porto. No P1 foram contados 49 grãos identificáveis e uma concentração de 5.108 grãos/cm<sup>3</sup> foi calculada, no P2 foram registrados 6 grãos e concentração de 625 grãos/cm<sup>3</sup>, no P3 apenas 2 grãos e concentração de 208 grãos/cm<sup>3</sup>, e por fim na CS foram contabilizados 10 grãos e uma concentração de 1.042 grãos/cm<sup>3</sup>.

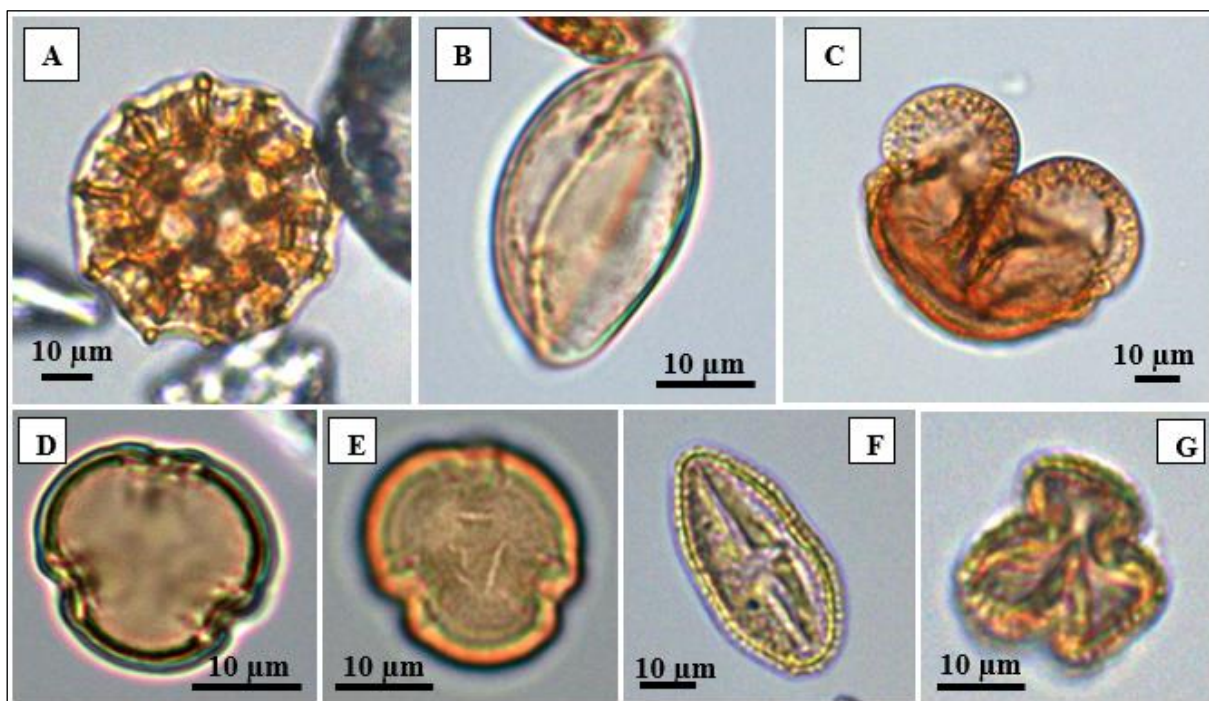
Em relação ao predomínio de táxons, os elementos herbáceos foram os mais prevalentes, destacando-se as famílias Poaceae (com médias de  $\pm 65\%$  entre os pontos) e Asteraceae ( $\pm 6\%$ ). Também foram verificadas com baixa representatividade (< 4%) as famílias Cyperaceae e Amaranthaceae, com o registro dos gêneros *Amaranthus* sp. e *Gomphrena* sp. Dentre os elementos arbóreos e arbustivos, foram encontradas as famílias Arecaceae, Euphorbiaceae (*Alchornea* sp.), Fabaceae (*Copaifera* sp.), Pinaceae e Rutaceae (*Zanthoxylum* sp.2) (**Tabela 09**). Também foram contabilizados grãos de esporos das famílias Dennstaedtiaceae e



Polypodiaceae e nenhum esporo de plantas aquáticas foi registrado. A **Figura 16** apresenta alguns dos grãos encontrados nas amostras da Rua do Porto.

**Tabela 09** – Grãos de pólen e esporos nas amostras da Rua do Porto. A abreviação “V. absoluto” significa “valor absoluto”. A sigla “N/ID” significa “grão não identificado”.

Famílias	P1-RDP	P2-RDP	P3-RDP	CS-RDP
	(%)			
Arecaceae	6,12	0,00	0,00	0,00
Euphorbiaceae ( <i>Alchornea</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	20,00
Fabaceae ( <i>Copaifera</i> sp.)	2,04	0,00	0,00	0,00
Pinaceae	16,33	0,00	0,00	20,00
Rutaceae ( <i>Zanthoxylum</i> sp.2)	0,00	16,67	0,00	0,00
Amaranthaceae ( <i>Amaranthus</i> sp.)	2,04	0,00	0,00	0,00
Amaranthaceae ( <i>Gomphrena</i> sp.)	10,20	0,00	0,00	0,00
Asteraceae	16,33	0,00	0,00	10,00
Cyperaceae	2,04	0,00	0,00	0,00
Poaceae	38,78	83,33	100,00	40,00
Dennstaedtiaceae ( <i>Paesia</i> sp.)	2,04	0,00	0,00	0,00
Polypodiaceae ( <i>Polypodium</i> sp.)	4,08	0,00	0,00	0,00
N/ID tipo 1	0,00	0,00	0,00	10,00
Concentração total (grãos/cm <sup>3</sup> )	5.108	625	208	1.042
Grãos contados (v. absoluto)	49	6	2	10
<i>Lycopodium</i> contados (v. absoluto)	200	200	200	200



**Figura 16** – Grãos de pólen observados nas amostras da Rua do Porto. **A:** *Gomphrena* sp. (Amaranthaceae). **B:** Arecaceae. **C:** Pinaceae. **D-E:** *Alchornea* sp. (Euphorbiaceae). **F-G:** *Zanthoxylum* sp.2 (Rutaceae).

### 6.2.4. Fitólitos

A contagem mínima de 300 morfotipos foi possível em todas as amostras da Rua do Porto e os valores de concentração de fitólitos foi de 1.568.812 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P1, 272.837 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P2, 106.291 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P3 e 89.104 fitólitos/cm<sup>3</sup> para CS. Registrou-se a presença de, em média, 15 morfotipos por amostra, dentre os quais se destacaram os fitólitos BILOBATE, SADDLE, RONDEL, ELONGATE ETIRE, BLOCKY e SPHEROID ECHINATE. Desses morfotipos, o tipo SADDLE foi o mais abundante, tal como pode ser observado na **Tabela 10**.

**Tabela 10** – Fitólitos nas amostras da Rua do Porto. A abreviação “V. absoluto” significa “valor absoluto”.

Morfotipos	P1-RDP	P2-RDP	P3-RDP	CS-RDP
	(%)			
BULLIFORM FLABELLATE	0,66	0,33	0,00	0,32
BLOCKY	10,63	2,99	9,97	8,33
TRACHEARY	1,00	0,00	0,00	0,00
ELONGATE DENTATE	2,33	1,33	1,61	2,24
ELONGATE ENTIRE	7,64	8,64	19,29	10,58
ELONGATE DENDRITIC	0,00	0,33	0,00	0,00
ACUTE BULBOSUS	0,00	0,33	0,64	0,00
SPHEROID ECHINATE	12,29	9,30	10,29	13,78
SPHEROID ORNATE	0,66	0,00	0,64	0,00
SPHEROID PSILATE	6,31	1,66	6,11	5,13
PAPILLATE	0,33	0,33	0,00	0,00
BILOBATE	9,97	8,31	11,25	10,90
SADDLE	31,56	59,80	20,26	24,36
RONDEL	12,29	5,32	5,47	8,33
POLYLOBATE	0,33	0,00	0,32	0,64
CROSS	1,00	1,33	2,25	1,28
CRENATE	0,00	0,00	0,64	0,00
TRAPEZOID	2,99	0,00	0,32	2,56
OBLONG ECHINATE	0,00	0,00	0,96	0,00
BLOCKY FACETATE	0,00	0,00	6,11	7,69
BRACHIFORME	0,00	0,00	0,32	0,00
SPHEROID VERRUCATE	0,00	0,00	1,61	0,00
SPHEROID NODULAR	0,00	0,00	0,32	0,00
Unclassified	0,00	0,00	1,61	3,85
Concentração total (fitólitos/cm <sup>3</sup> )	1.568.812	272.837	106.291	89.104
Fitólitos contados (v. absoluto)	300	300	300	300
<i>Lycopodium</i> contados (v. absoluto)	4	23	61	73

Outros dois fitólitos que tiveram destaque nas contagens foram os chamados BLOCKY FACETATE, também relacionado às células buliformes de gramíneas, e o SPHEROID PSILATE, que

não foi associado a nenhum grupo específico de plantas. Os demais tipos identificados tiveram baixa representatividade e apresentaram valores percentuais menores que 4%.

### 6.2.5. Espículas de esponjas

As espículas de esponjas nas amostras da Rua do Porto foram escassas, tendo sido encontradas, ao todo, apenas duas: uma microsclera acantóxea fragmentada no P1 e uma megasclera óxea inteira na amostra CS. Portanto, a concentração de espículas nesses pontos foi de 5.212 espículas/cm<sup>3</sup> e 286 espículas/cm<sup>3</sup>, respectivamente, enquanto nos demais pontos foi igual a zero. Por não ter sido encontrada nenhuma gemosclera, não foi possível identificar táxons de esponjas para as amostras dessa área.

### 6.2.6. Diatomáceas

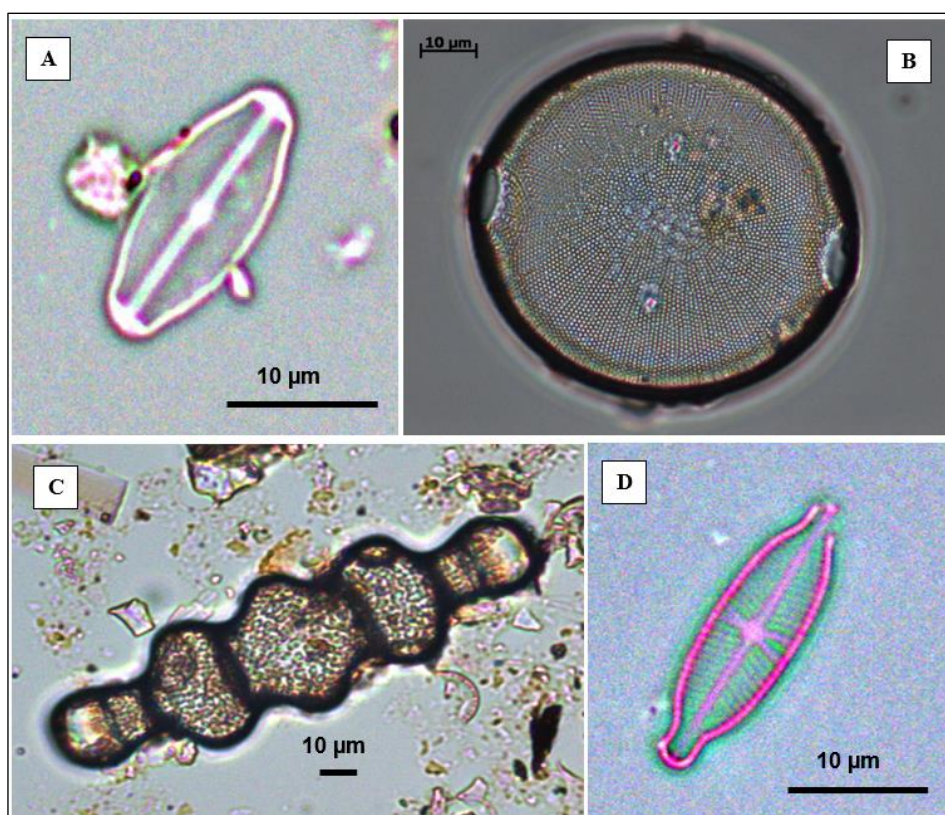
O levantamento de presença e ausência de frústulas apontou a existência de 31 gêneros de diatomáceas nas amostras da Rua do Porto (**Tabela 11**).

**Tabela 11** – Gêneros de diatomáceas observados nas amostras da Rua do Porto. X corresponde à presença e 0 à ausência de frústulas na amostra. Já a abreviação “Birraf. sim.” remete à morfologia “birrafídea simétrica” das diatomáceas.

Morfologias	Gêneros	P1-RDP	P2-RDP	P3-RDP	CS-RDP
		(% )			
Arrafídeas	<i>Synedra</i> sp.	0	0	X	X
Arrafídeas	<i>Ulnaria</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Halamphora</i> sp.	0	X	0	X
Birraf. sim.	<i>Cymbella</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Encyonema</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Gomphonema</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Adlafia</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Craticula</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Diadesmis</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Geissleria</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Gyrosigma</i> sp.	0	0	X	0
Birraf. sim.	<i>Hippodonta</i> sp.	0	0	X	0
Birraf. sim.	<i>Humidophila</i> sp.	0	X	X	0
Birraf. sim.	<i>Luticola</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Mayamaea</i> sp.	0	X	0	X
Birraf. sim.	<i>Navicula</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Pinnularia</i> sp.	0	0	X	X
Birraf. sim.	<i>Placoneis</i> sp.	0	X	X	X

Birraf. sim.	<i>Sellaphora</i> sp.	0	X	X	X
Cêntricas	<i>Aulacoseira</i> sp.	X	X	X	X
Cêntricas	<i>Cyclostephanos</i> sp.	0	0	X	X
Cêntricas	<i>Cyclotella</i> sp.	0	0	X	X
Cêntricas	<i>Discostella</i> sp.	0	0	X	0
Cêntricas	<i>Pleurosira</i> sp.	0	0	X	X
Cêntricas	<i>Terpsinoë</i> sp.	0	0	X	X
Eunotiídes	<i>Eunotia</i> sp.	0	0	X	0
Monorrafídeas	<i>Achnantheidium</i> sp.	0	0	X	X
Nitzschóides	<i>Hantzschia</i> sp.	X	X	X	0
Nitzschóides	<i>Nitzschia</i> sp.	0	0	X	X
Nitzschóides	<i>Tryblionella</i> sp.	0	0	X	0
Surirelóides	<i>Iconella</i> sp.	0	0	X	0

A observação das lâminas também evidenciou a presença de diferentes espécies pertencentes a um mesmo gênero, mas que não foram diferenciadas neste trabalho devido ao método de pesquisa escolhido. Podem-se citar alguns exemplos nos quais houve essa ocorrência, como *Sellaphora* sp., *Navicula* sp. e *Luticola* sp. Dos 31 gêneros identificados nas amostras da Rua do Porto, 4 deles apareceram exclusivamente nessa área, nas amostras P3 e CS: (1) *Adlafia* sp.; (2) *Geissleria* sp.; (3) *Pleurosira* sp.; e (4) *Terpsinoë* sp. (**Figura 17**).



**Figura 17** – Frústulas de *Adlafia* sp. (A), *Pleurosira* sp. (B), *Terpsinoë* sp. (C) e *Geissleria* sp. (D) detectadas exclusivamente na área da Rua do Porto.

### 6.3. Área do Monte Alegre

#### 6.3.1. Caracterização da vegetação

Os pontos de coleta da área do Monte Alegre se encontram sob uma floresta ripária. A vegetação no local é composta por árvores de pequeno, médio e grande porte, além de arbustos, gramíneas rasteiras, plantas epífitas e diversos outros vegetais. Algumas famílias foram observadas, como Piperaceae, Myrtaceae, Lauraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Boraginaceae e Solanaceae. Entre os pontos 1 e 2, há uma pequena área com concentração de bambus (família Poaceae, subfamília Bambusoideae). No P3 também é possível observar algumas plantas aquáticas que se localizam próximas à margem do rio Piracicaba e flutuando em suas águas.

#### 6.3.2. Caracterização do solo e granulometria

A análise granulométrica caracterizou um substrato franco-argiloso-siltoso (cor 10 YR 4/3 – brown) para P1, areia franca (cor 10 YR 5/4 – yellowish brown) para P2 e franca (cor YR 5/4 – yellowish brown) para P3 e CS. A **Tabela 12** apresenta as porcentagens de granulometria.

**Tabela 12** – Granulometrias obtidas nas amostras do ponto 1, 2, 3 e CS do Monte Alegre

Partículas	P1-MA	P2-MA	P3-MA	CS-MA
Cascalho	0,09%	0	0,04%	0
Areia grossa (1 mm - 500 µm)	0	0	0	0
Areia média (500 µm - 250 µm)	0	1,17%	1,41%	0,14%
Areia fina (250 µm - 125 µm)	0	32%	21,12%	14,68%
Areia muito fina (125 µm - 63 µm)	3,85%	43,19%	27,31%	27,22%
Silte (63 µm - 4 µm)	59,87%	21,82%	37%	41,47%
Argila (< 4 µm)	36,19%	1,81%	13,12%	16,50%

#### 6.3.3. Palinologia

Para o Monte Alegre, foram registrados 60 grãos e uma concentração de 6.223 grãos/cm<sup>3</sup> no P1, 16 grãos e 1.573 grãos/cm<sup>3</sup> no P2, 84 grãos e 7.960 grãos/cm<sup>3</sup> no P3 e, por fim, 156 grãos e 11.957 grãos/cm<sup>3</sup> na CS. Houve predomínio de elementos herbáceos, com destaque às famílias Poaceae (táxon dominante com média de 39% entre os pontos), Asteraceae ( $\pm 9\%$ ) e Cyperaceae ( $\pm 8\%$ ). Dentre os elementos subordinados, encontram-se os grãos de pólen de *Solanum* sp. (família Solanaceae), *Amaranthus* sp. e *Gomphrena* sp. (família Amaranthaceae).



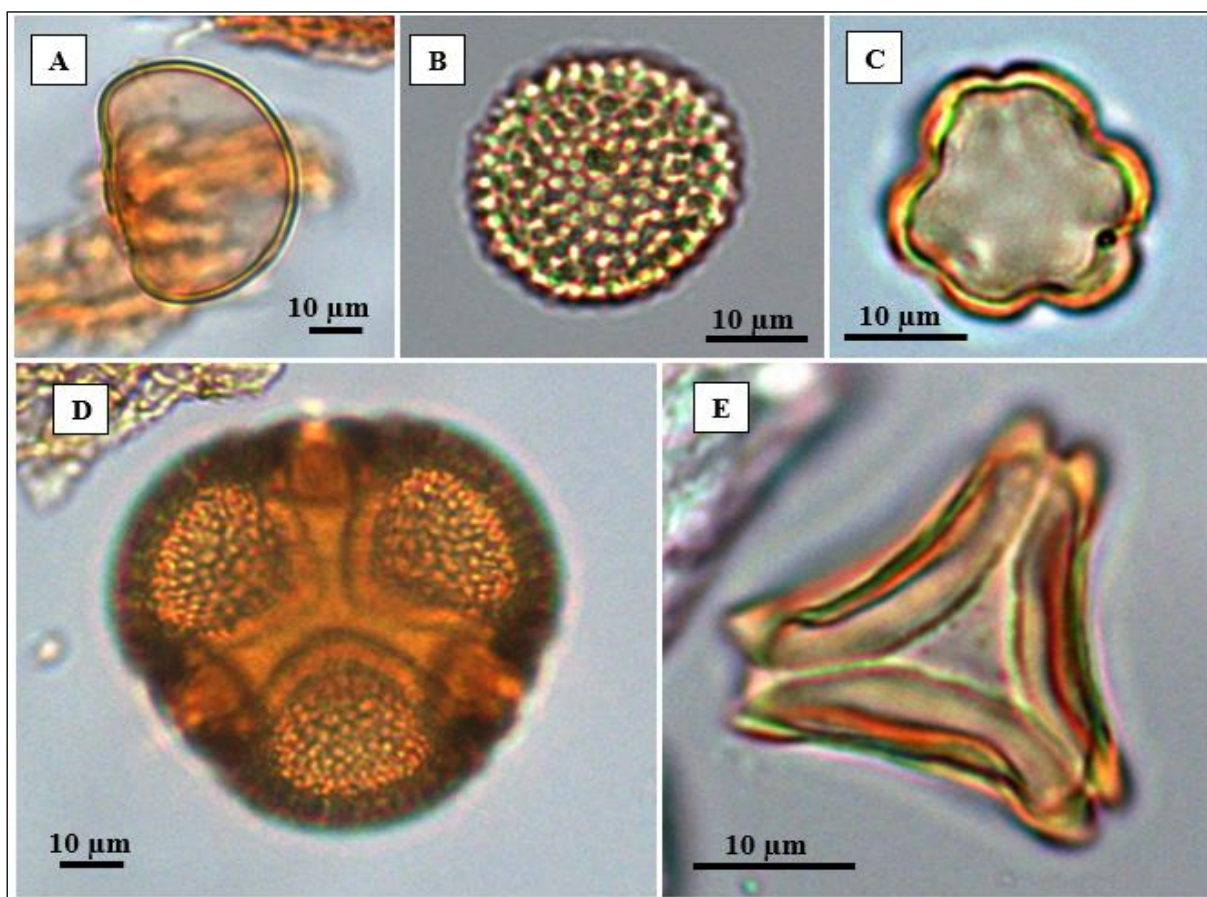
Esta área foi a que apresentou maior diversidade de elementos arbóreos e arbustivos, com 19 gêneros identificados em 17 famílias (**Tabela 13**). A maioria dos grãos apareceram em valores menores que 4%, com exceção dos grãos de *Croton* sp. da família Euphorbiaceae, de Mimosoidea e *Peltophorum* sp. da família Fabaceae, e os grãos de Myrtaceae e Pinaceae.

**Tabela 13** – Grãos de pólen e esporos nas amostras do Monte Alegre. A abreviação “V. absoluto” significa “valor absoluto”. A sigla “N/ID” significa “grão não identificado”.

Famílias	P1-MA	P2-MA	P3-MA	CS-MA
	(% )			
Anacardiaceae ( <i>Schinus</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	0,64
Anacardiaceae ( <i>Spondias</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	1,28
Apocynaceae ( <i>Forsteronia</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	0,64
Arecaceae	1,67	0,00	1,19	1,92
Berberidaceae	0,00	0,00	1,19	0,00
Euphorbiaceae ( <i>Alchornea</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	2,56
Euphorbiaceae ( <i>Croton</i> sp.)	0,00	18,75	8,33	3,21
Euphorbiaceae ( <i>Maprounea</i> sp.)	0,00	0,00	1,19	0,64
Euphorbiaceae ( <i>Ricinus</i> sp.)	0,00	0,00	1,19	0,64
Euphorbiaceae ( <i>Sebastiania</i> sp.)	0,00	0,00	1,19	0,00
Fabaceae ( <i>Caesalpinia</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	0,64
Fabaceae ( <i>Cassia</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	0,64
Fabaceae (Mimosoideae)	8,33	0,00	0,00	0,00
Fabaceae ( <i>Peltophorum</i> sp.)	0,00	6,25	2,38	2,56
Humiriaceae ( <i>Vantanea</i> sp.)	0,00	0,00	1,19	0,00
Loranthaceae	0,00	6,25	0,00	0,00
Malpighiaceae ( <i>Banisteriopsis</i> sp.)	1,67	0,00	0,00	0,00
Malpighiaceae ( <i>Malpighia</i> sp.)	1,67	0,00	0,00	0,64
Malvaceae ( <i>Luehea</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	0,64
Melastomataceae	0,00	0,00	0,00	0,64
Myrsinaceae ( <i>Rapanea</i> sp.)	0,00	6,25	0,00	0,64
Myrtaceae	1,67	0,00	5,95	1,92
Pinaceae	8,33	0,00	2,38	3,85
Proteaceae ( <i>Roupala</i> sp.)	0,00	0,00	1,19	0,00
Rutaceae ( <i>Zanthoxylum</i> sp.1)	0,00	0,00	0,00	0,64
Sapindaceae ( <i>Urvillea</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	0,64
Amaranthaceae ( <i>Amaranthus</i> sp.)	5,00	0,00	3,57	4,49
Amaranthaceae ( <i>Gomphrena</i> sp.)	0,00	6,25	1,19	0,64
Asteraceae	5,00	0,00	15,48	17,95
Cyperaceae	6,67	6,25	8,33	14,10
Poaceae	45,00	43,75	36,90	32,05
Solanaceae ( <i>Solanum</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	0,64
Typhaceae ( <i>Typha</i> sp.)	0,00	6,25	2,38	0,00
Cyatheaceae ( <i>Cyathea</i> sp.)	5,00	0,00	0,00	0,64
Dennstaedtiaceae ( <i>Paesia</i> sp.)	1,67	0,00	1,19	0,00

Monolete psilado	6,67	0,00	1,19	1,28
Polypodiaceae ( <i>Polypodium</i> sp.)	1,67	0,00	0,00	0,64
Lamiaceae	0,00	0,00	1,19	0,00
Malvaceae ( <i>Guazuma</i> sp.)	0,00	0,00	0,00	1,28
Rubiaceae	0,00	0,00	0,00	0,64
N/ID tipo 2	0,00	0,00	0,00	0,64
N/ID tipo 3	0,00	0,00	1,19	0,00
Concentração total (grãos/cm <sup>3</sup> )	6.223	1.573	7.960	11.957
Grãos contados (v. absoluto)	60	16	84	156
<i>Lycopodium</i> contados (v. absoluto)	201	212	220	272

O gênero *Typha* sp. da família Typhaceae foi o representante das plantas aquáticas que ocorrem no Monte Alegre. As famílias Cyatheaceae, Dennstaedtiaceae e Polypodiaceae são as pteridófitas ocorrentes no local. Também foram identificados grãos das famílias Lamiaceae, Malvaceae (*Guazuma* sp.) e Rubiaceae, que ocorreram com baixa representatividade. Outros dois grãos não identificados foram contabilizados nas amostras P3 e CS, respectivamente. A **Figura 18** apresenta alguns dos grãos encontrados nas amostras do Monte Alegre.



**Figura 18** – Grãos de pólen e esporos observados nas amostras do Monte Alegre. **A:** Monolete psilado. **B:** *Croton* sp. (Euphorbiaceae). **C:** Melastomataceae. **D:** *Caesalpinia* sp. (Fabaceae). **E:** Loranthaceae.

### 6.3.4. Fitólitos

As concentrações de fitólitos no Monte Alegre foram de 1.662.628 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P1, 498.863 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P2, 935.182 fitólitos/cm<sup>3</sup> para P3 e 828.708 fitólitos/cm<sup>3</sup> para CS. As contagens evidenciaram uma variedade de, em média, 17 morfotipos em cada amostra (**Tabela 14**). Na amostra P1, houve prevalência dos GSSCP BILOBATE, SADDLE e RONDEL, sendo o primeiro o mais abundante entre eles. Os fitólitos SPHEROID ECHINATE, ELONGATE ETIRE e BLOCKY, nessa ordem, foram os seguintes em questão de dominância. Já nos pontos 2, 3 e CS, a ordem de prevalência foi invertida, de modo que foram contabilizados mais morfotipos BLOCKY, ELONGATE ETIRE e SPHEROID ECHINATE do que os GSSCP.

**Tabela 14** – Fitólitos nas amostras do Monte Alegre. A abreviação “V. absoluto” significa “valor absoluto”.

Morfotipos	P1-MA	P2-MA	P3-MA	CS-MA
	(% )			
BULLIFORM FLABELLATE	0,31	0,60	0,96	1,89
BLOCKY	7,52	16,72	17,52	22,33
TRACHEARY	0,31	0,30	0,00	0,63
ELONGATE DENTATE	1,25	2,69	1,27	1,26
ELONGATE ENTIRE	11,29	10,15	15,92	18,24
ELONGATE DENDRITIC	0,31	0,00	0,00	0,00
ACUTE BULBOSUS	0,00	0,00	0,32	0,00
SPHEROID ECHINATE	15,05	17,01	21,02	20,44
SPHEROID ORNATE	0,63	2,09	0,64	0,31
SPHEROID PSILATE	1,88	1,49	2,23	1,26
BILOBATE	30,41	11,04	13,38	8,81
SADDLE	8,46	14,03	6,69	7,23
RONDEL	9,72	8,36	11,15	8,18
POLYLOBATE	2,82	0,00	0,00	0,63
CROSS	4,08	2,39	0,96	0,63
CRENATE	0,00	0,60	0,64	0,00
TRAPEZOID	0,94	0,00	0,00	0,00
BLOCKY FACETATE	0,63	2,09	1,27	2,20
BRACHIFORME	0,00	0,00	0,32	0,31
ELONGATE VELLOATE	0,31	0,00	0,96	0,00
PUZZLE	0,00	0,00	0,32	0,00
SPHEROID VERRUCATE	1,88	6,57	4,14	3,14
SPHEROID BACULATE	0,63	0,00	0,00	0,00
FUSIFORM ENTIRE PSILATE	0,63	0,00	0,00	0,00
Unclassified	0,94	3,88	0,32	2,52
Concentração total (fitólitos/cm <sup>3</sup> )	1.662.628	498.863	935.182	828.708
Fitólitos contados (v. absoluto)	306	300	300	300
<i>Lycopodium</i> contados (v. absoluto)	4	14	7	8

Três outros fitólitos também tiveram destaque nas contagens, sendo eles o SPHEROID VERRUCATE, não associado a nenhum grupo específico de plantas, o morfotipo CROSS, que também é considerado um GSSCP, e outro que se optou por chamar de *Unclassified*, já que não pôde ser identificado de acordo com a bibliografia especializada, mas foi contabilizado vezes o bastante para ser mencionado. Os demais morfotipos identificados tiveram baixa representatividade e apresentaram valores percentuais menores que 4%.

### 6.3.5. Espículas de esponjas

A contagem mínima de 300 espículas de esponjas não foi possível devido à escassez. Na amostra P1, foram registradas apenas 14 megascleras e 1 microsclera estrôngilo fragmentadas, resultando em uma concentração de 62.544 espículas/cm<sup>3</sup>. A amostra CS teve apenas 2 megascleras fragmentadas observadas, com concentração de 5.212 espículas/cm<sup>3</sup>. Os pontos 2 e 3 não apresentaram nenhuma espícula. Nenhuma gemosclera foi encontrada, portanto não foi possível identificar táxons de esponjas para as amostras dessa área.

### 6.3.6. Diatomáceas

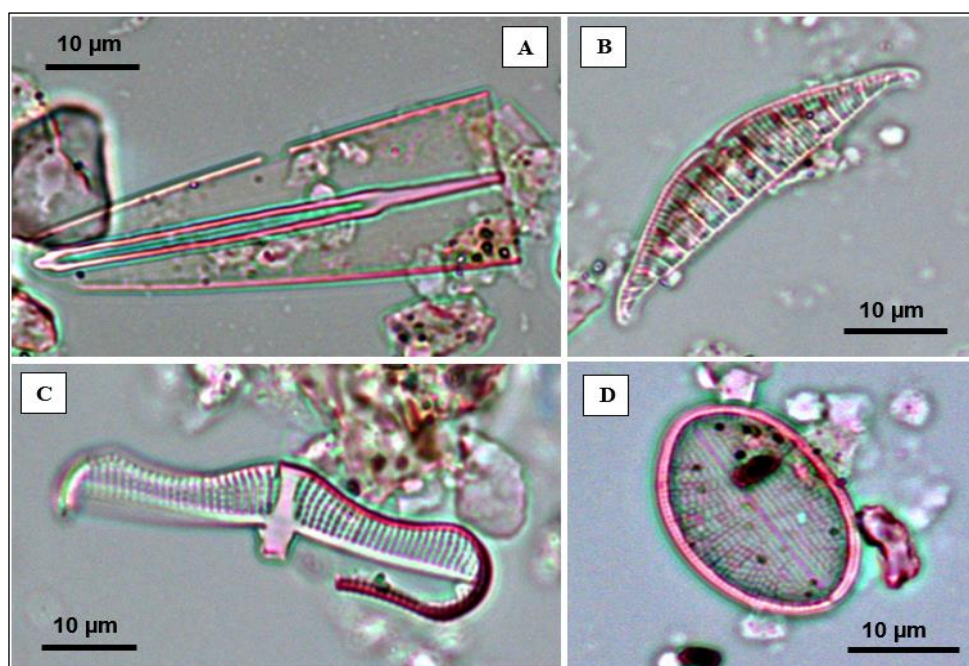
O levantamento de presença e ausência de frústulas apontou a existência de 31 gêneros de diatomáceas nas amostras do Monte Alegre. O nome de cada gênero, sua morfologia e a descrição das amostras em que apareceram são encontrados na **Tabela 15**.

**Tabela 15** – Gêneros de diatomáceas observados nas amostras do Monte Alegre. X corresponde à presença e 0 à ausência de frústulas na amostra. Já a abreviação “Birraf. sim.” remete à morfologia “birrafídea simétrica” das diatomáceas.

Morfologias	Gêneros	P1-MA	P2-MA	P3-MA	CS-MA
		(%)			
Arrafídeas	<i>Fragilaria</i> sp.	0	0	X	X
Arrafídeas	<i>Ulnaria</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Halamphora</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Cymbella</i> sp.	0	0	X	0
Birraf. sim.	<i>Encyonema</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Gomphonema</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Amphipleura</i> sp.	0	X	0	0
Birraf. sim.	<i>Caloneis</i> sp.	X	0	0	0
Birraf. sim.	<i>Capartograma</i> sp.	0	0	0	X
Birraf. sim.	<i>Diadesmis</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Frustulia</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Gyrosigma</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Hippodonta</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Humidophila</i> sp.	X	X	X	X

Birraf. sim.	<i>Luticola</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Mayamaea</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Navicula</i> sp.	0	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Pinnularia</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Placoneis</i> sp.	0	X	X	0
Birraf. sim.	<i>Sellaphora</i> sp.	X	X	X	X
Birraf. sim.	<i>Stauroneis</i> sp.	0	X	X	X
Cêntricas	<i>Aulacoseira</i> sp.	X	X	X	X
Cêntricas	<i>Cyclostephanos</i> sp.	0	X	0	X
Cêntricas	<i>Cyclotella</i> sp.	0	X	X	X
Cêntricas	<i>Discostella</i> sp.	0	0	X	X
Epithemóides	<i>Rhopalodia</i> sp.	0	0	0	X
Eunotióides	<i>Eunotia</i> sp.	0	X	X	X
Monorrafídeas	<i>Achnanthidium</i> sp.	0	X	0	X
Monorrafídeas	<i>Cocconeis</i> sp.	0	X	X	X
Nitzschóides	<i>Hantzschia</i> sp.	X	X	X	X
Nitzschóides	<i>Nitzschia</i> sp.	X	X	X	X

A observação das lâminas evidenciou uma diversidade ainda maior de frústulas além dos 31 táxons registrados, uma vez que a identificação neste trabalho não chegou ao nível específico e alguns dos gêneros apresentaram diferentes espécies, como foi o caso de *Luticola* sp., *Frustulia* sp. e *Sellaphora* sp. Dos 31 gêneros identificados nas amostras, quatro deles apareceram exclusivamente nessa área, sendo eles (1) *Amphipleura* sp.; (2) *Caloneis* sp.; (3) *Cocconeis* sp.; e (4) *Rhopalodia* sp. (**Figura 19**).



**Figura 19** – Frústulas de *Amphipleura* sp. (A), *Rhopalodia* sp. (B), *Caloneis* sp. (C) e *Cocconeis* sp. (D) detectadas exclusivamente na área do Monte Alegre.

## 7. DISCUSSÃO

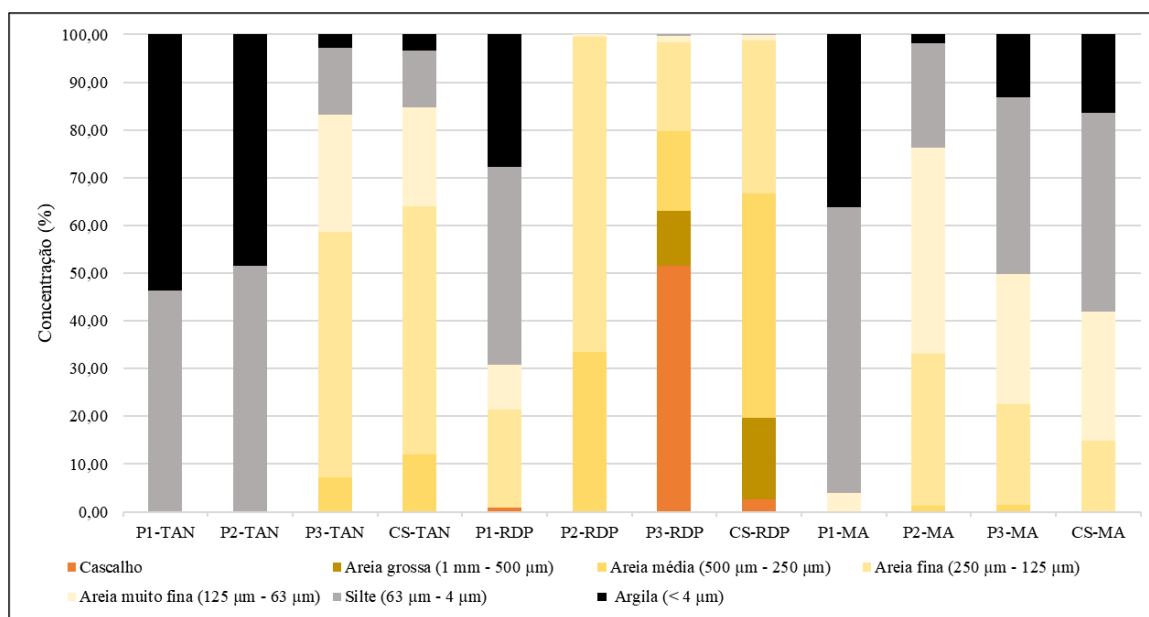
### 7.1. Vegetação e o rio Piracicaba

As três áreas de estudo foram selecionadas por apresentarem distintas características ambientais. O Tanquã tem predominância de vegetação nativa com algumas alterações devido à ação humana, enquanto a Rua do Porto é uma área urbanizada e impactada pelas ações antrópicas. Já no Monte Alegre, observa-se pouca alteração humana na vegetação das encostas do rio. A distinção entre as assembleias florísticas nas áreas possibilitou a obtenção de uma maior variedade de microvestígios, o que permitiu o estudo de diferentes morfologias e o entendimento sobre como elas estão relacionadas às paisagens.

Embora as três áreas estejam relacionadas ao rio Piracicaba, o fluxo hídrico é diferente nos locais. No Tanquã, os pontos de coleta se encontram próximos a um lago formado pela planície de inundação do rio Piracicaba, caracterizando o ambiente como lântico. Nas demais áreas, o ambiente é lótico. Essas características de fluxo hídrico são importantes no estudo das assembleias de frústulas de diatomáceas e espículas de esponjas, visto que estão relacionadas ao habitat desses organismos (LEANDRINI; CAVALCANTI; RODRIGUES, 2010; VOLKMER-RIBEIRO; PAROLIN, 2010).

### 7.2. Granulometria dos substratos

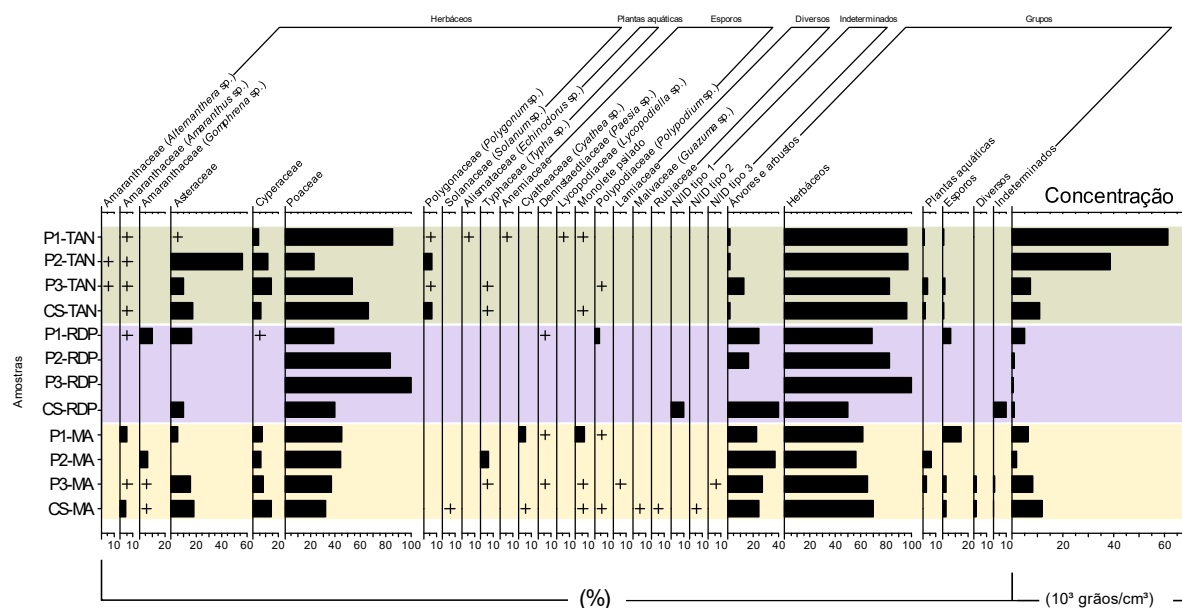
Os resultados de granulometria das áreas estão apresentados a seguir:



**Figura 20** – Granulometria dos substratos das três áreas de estudo.



**Figura 21** – Diagrama palinológico de porcentagem das três áreas estudadas (parte 1). O sinal “+” indica os valores percentuais menores que 4%.



**Figura 22** – Diagrama palinológico de porcentagem das três áreas estudadas (parte 2). O sinal “+” indica os valores percentuais menores que 4%.

Das três áreas estudadas, o Tanquã foi o que apresentou maior concentração de pólen e esporos, seguido do Monte Alegre e Rua do Porto (**Figura 22**). No entanto, há mais diversidade de grãos no Monte Alegre (**Tabela 13, Figuras 21 e 22**), o que provavelmente é um reflexo da floresta ripária dominante. Nos três locais, os resultados mostram predominância de elementos herbáceos, em especial de Poaceae, Cyperaceae e Asteraceae (**Figura 22**), que consistem em famílias grandes e bastante comuns.

Também pelas **Figuras 21 e 22**, observa-se que no P1 do Tanquã, cuja vegetação ao entorno é constituída inteiramente de pasto, os únicos grãos que tiveram porcentagem maior que 4% foram os de Poaceae e Cyperaceae. No P2, a porcentagem de grãos de Poaceae cai drasticamente e se eleva a concentração de grãos de Asteraceae e Polygonaceae, sendo que um dos principais representantes desta família é a erva-de-bicho (*Polygonum* sp.), que por sua vez apresentou dominância neste ponto de coleta de acordo com o levantamento florístico. O P3 apresenta o mesmo padrão do P2, com um aumento de 30% de grãos de Poaceae e também da representatividade da família Pinaceae. Este ponto, no entanto, é o que registra a menor concentração de pólen e esporos (7.157 grãos/cm³), fato que pode estar relacionado ao aspecto mais arenoso do substrato (**Figura 20**) e à sua proximidade das águas do rio.

Para a Rua do Porto, foram calculadas baixas concentrações de pólen e esporos (de 208 a 5.108 grãos/cm³), o que pode ser explicado pela urbanização da área, a exposição do substrato e a ausência de serrapilheira, que prejudicam a preservação desses palinomorfs. Além disso, o substrato é arenoso (**Figura 20**), outro fator que pode interferir na preservação dos



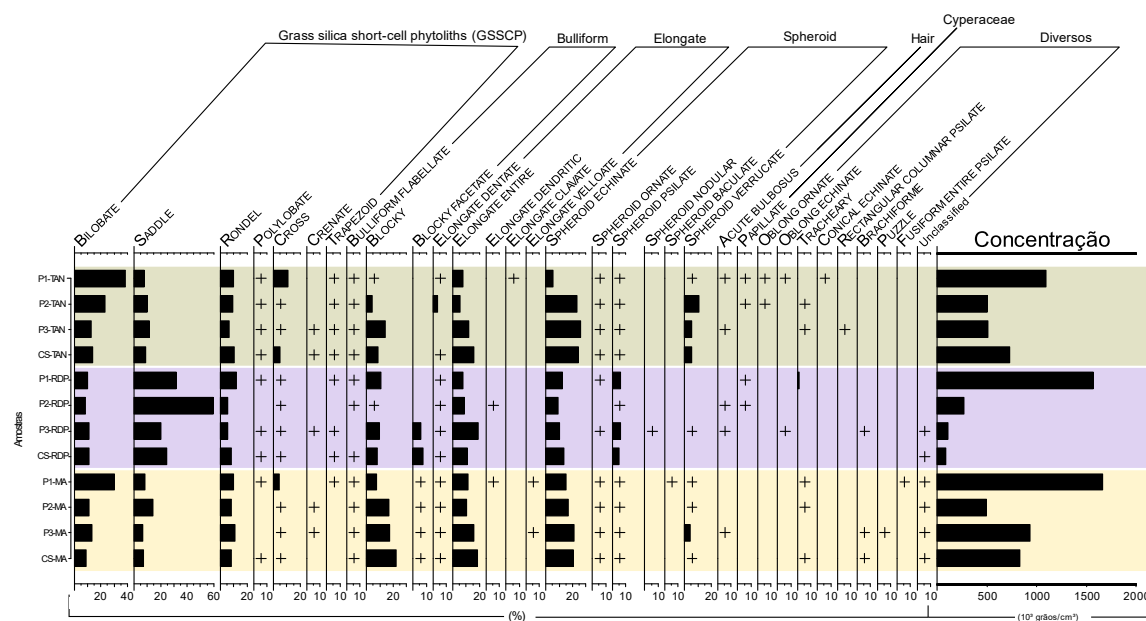
microvestígios, tal como discutido anteriormente. O Monte Alegre registrou a maior diversidade de famílias e gêneros e também foi o que mais apresentou elementos arbóreos e arbustivos em sua composição (**Tabela 13, Figuras 21 e 22**), provavelmente devido à floresta ripária do local. No entanto, as concentrações calculadas para essa área também foram baixas (de 1.573 a 11.957 grãos/cm<sup>3</sup>), o que pode estar relacionado ao aspecto arenoso do substrato (**Figura 20**). Muitos dos grãos registrados foram encontrados uma única vez nas amostras, o que provavelmente demonstre uma associação entre diversidade e má preservação dos palinomorfos nesta localidade.

As amostras das caminhadas simuladas (CS) apresentaram padrão similar aos observados nas amostras controle, mas também retiveram morfologias distintas. Isso pode ser verificado nos grãos de *Alchornea* sp. (Euphorbiaceae) na amostra CS-RDP e em outros 14 grãos da amostra CS-MA (**Figuras 21 e 22**). Provavelmente, isto ocorreu porque ao se realizar a caminhada simulada, aumentou-se a representatividade amostral. Na simulação, passou-se pelos locais de amostragem e também sobre regiões não amostradas entre P1 e P2, P2 e P3 e retorno. Esses aspectos provavelmente explicam a presença, nos calçados, de microvestígios não registrados nas amostras controle.

Em casos onde há baixa contagem de microvestígios, a presença de um único grão pode ser representativa para os estudos forenses. O trabalho de Ramos (2019), por exemplo, simulou um trajeto em uma área do litoral paulista e avaliou os microvestígios encontrados nas peças de roupas utilizadas durante a simulação, para qual encontrou um único grão de *Rhizophora mangle* na camiseta que indicou contato dessa peça com o ecossistema de manguezal. No entanto, é necessário cautela com o valor de grãos unitários, pois sua representatividade depende de questões como endemismo, época de floração do vegetal, mistura de assembleias botânicas nas peças do suspeito, entre outros (AMARAL, 2020). Por esta razão, é importante considerar os grãos que aparecem com baixa representatividade nas amostras e associá-los a outras informações sobre o contexto do crime para verificar sua verossimilhança.

#### 7.4. Assembleia fitolítica

De todos os indicadores quantificados, os fitólitos foram os únicos cuja contagem mínima de 300 morfotipos pôde ser atingida em todas as amostras. Isso pode estar relacionado ao fato de que a família que mais produz fitólitos é Poaceae (TWISS; SUESS; SMITH, 1969), que demonstrou ser a de ocorrência mais abundante em todas as áreas, através do levantamento florístico e microvestígios estudados. Para facilitar a discussão dos dados, uniu-se na **Figura 23** os valores de morfotipos observados em cada uma das áreas:



**Figura 23** – Diagrama fitolítico de porcentagem das três áreas estudadas. O sinal “+” indica os valores percentuais menores que 4%.

Dos morfotipos identificados, seis deles foram os mais recorrentes: BILOBATE, SADDLE, RONDEL, BLOCKY, ELONGATE ENTIRE e SPHEROID ECHINATE. Os cinco primeiros estão relacionados a subfamílias de gramíneas, enquanto o último é produzido principalmente pelas famílias Arecaeae e Bromeliaceae (TWISS; SUESS; SMITH, 1969; PIPERNO, 2006). Dentre as morfologias fitolíticas de gramíneas, são os GSSCP que ajudam a caracterizar o ambiente, uma vez que uma maior concentração de BILOBATE está relacionada a presença de Panicoideae, de SADDLE à Chloridoideae e de RONDEL à Pooideae (TWISS; SUESS; SMITH, 1969).

A interpretação da assembleia polínica permitiu inferir sobre a predominância de gramíneas nos três locais, já que apresentou altos valores de grãos de Poaceae (**Figura 22**). No entanto, ao observar as concentrações de fitólitos é que fica evidente que a subfamília predominante nas áreas Tanquã e Monte Alegre foi a Panicoideae, enquanto na Rua do Porto foi Chloridoideae (**Figura 23**). O mesmo padrão pode ser observado nas amostras dos calçados,

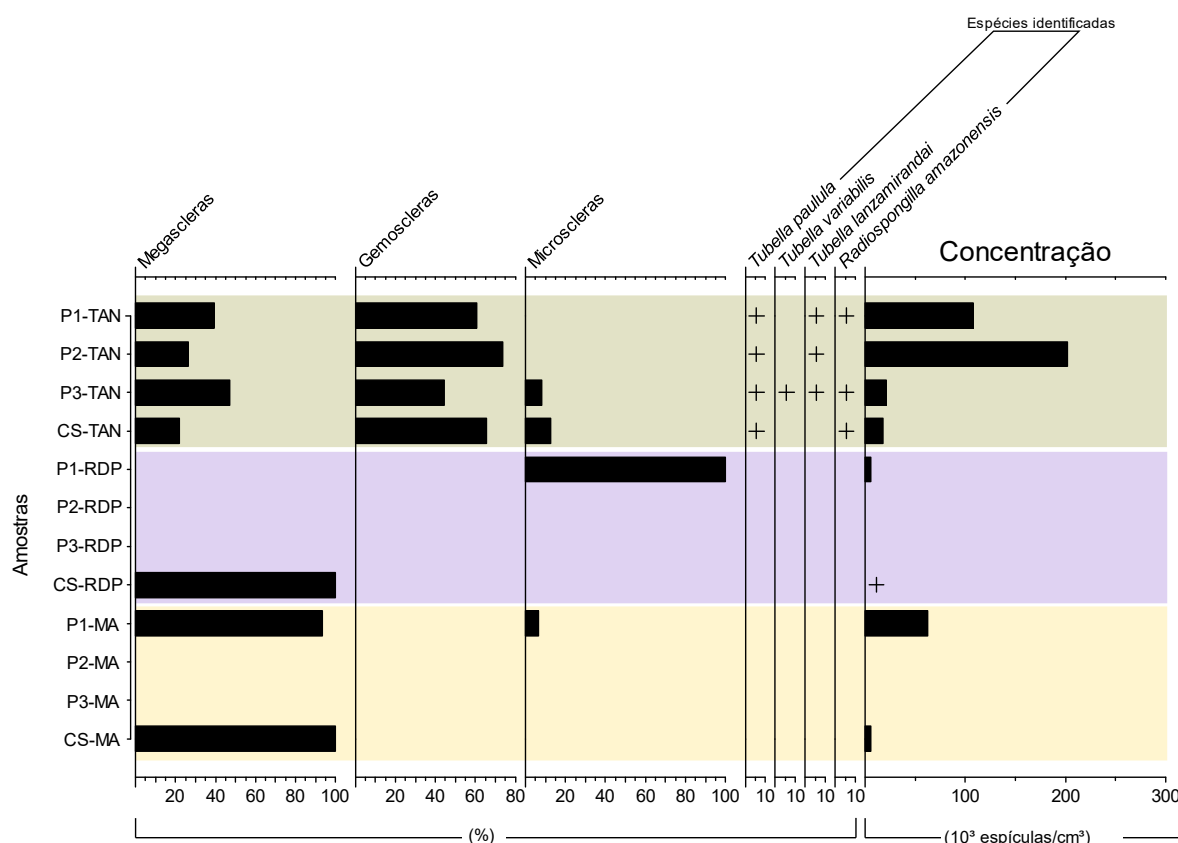
que registraram a predominância de fitólitos do tipo BILOBATE no Tanquã e Monte Alegre, e de SADDLE na Rua do Porto. Portanto, o uso simultâneo desses dois microvestígios apresenta muitas vantagens no momento de caracterizar o ambiente e realizar interpretações judiciais.

Marumo e Yanai (1986) apresentaram as potencialidades do uso de fitólitos nas ciências forenses, analisando a composição dos morfotipos para discriminar solos de distintas topografias e uso da terra. Os resultados mostraram diferenças significativas nas assembleias, que permitiram a diferenciação dos locais de coleta. O mesmo pode ser verificado no presente trabalho que, além das diferenças na composição, demonstrou que os calçados retêm o padrão fitolítico de cada local e apresenta resultados positivos para o contato com as áreas estudadas.

Outro fato importante é que, diferentemente do que acontece com os grãos de pólen, a ocorrência de uma única morfologia de fitólito não pode ser representativa em estudos forenses. Isso porque a produção desses morfotipos é dada sob condições de redundância e multiplicidade, ou seja, uma mesma planta pode produzir diferentes morfotipos, ao mesmo tempo em que um mesmo morfotipo pode ser produzido por diferentes plantas, que não necessariamente sejam taxonomicamente relacionadas (COE, 2009). Por essa razão, não se pode interpretar a presença de um único fitólito como determinante, e sim se deve considerar toda a assembleia observada.

### 7.5. Assembleia de esponjas

As espículas de esponjas foram microvestígios representativos apenas na área do Tanquã, onde sua quantificação e qualificação foi viável. As demais áreas apresentaram concentrações muito baixas ou nulas. O Tanquã registrou concentrações relativamente altas de espículas, especialmente nos pontos 1 e 2, que podem estar relacionadas à dinâmica de alagamentos e secas constantes que ocorrem na área, fazendo com que as gêmulas sejam transportadas até aqueles locais durante as cheias. Já no P3 onde há mais contato diário com as águas, a concentração de espículas é menor, aspecto que pode estar relacionado à lavagem desses microvestígios pela água. Todas essas informações podem ser verificadas na **Figura 24**.



**Figura 24** – Diagrama de porcentagem de espículas nas três áreas estudadas. O sinal “+” indica a presença das espécies nas amostras.

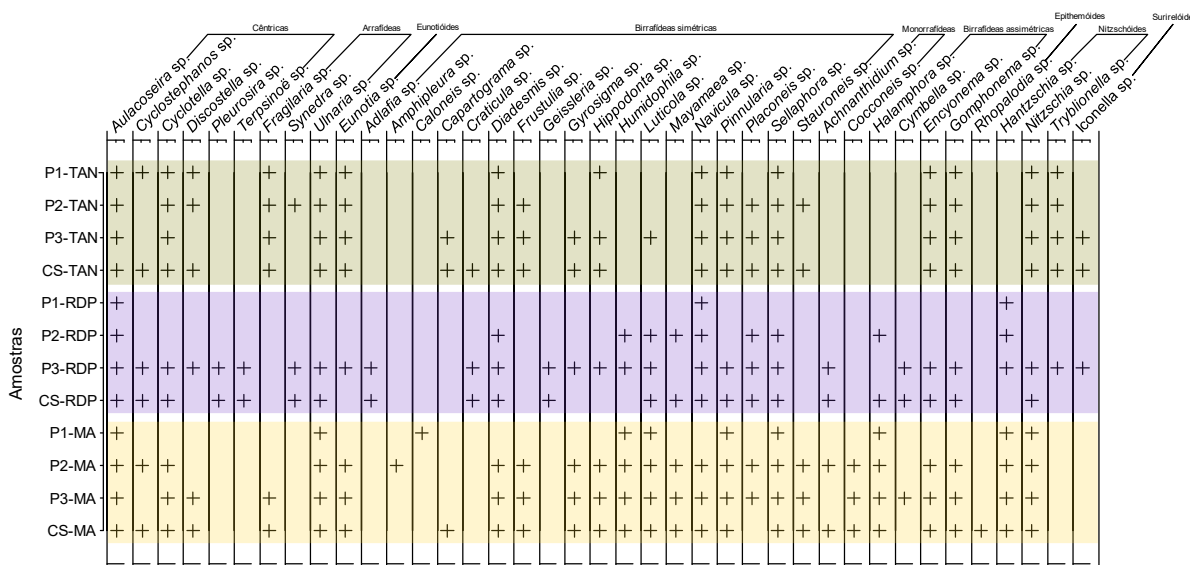
As quatro espécies de esponjas identificadas nas amostras do Tanquã vivem incrustadas em macrófitas de ambientes lânticos e enriquecidos em matéria orgânica (TAVARES; VOLKMER-RIBEIRO, DE ROSA-BARBOSA, 2003; VOLKMER-RIBEIRO; PAROLIN, 2010; MAROSTEGA et al., 2013; LAPORT; PINHEIRO; RACHID, 2019), o que explica sua presença no local. Nas demais áreas, a identificação específica não pôde ser realizada devido à fragmentação e ausência de espículas de caráter taxonômico na amostra. Entretanto, o padrão fragmentado de espículas associado à raríssimas ocorrências podem corresponder às espécies características de ambientes lóticos (RASBOLD, 2016), condição que foi verificada nas áreas Rua do Porto e Monte Alegre. Portanto, sob o aspecto forense, ainda que não haja a identificação de espécies, os microvestígios de esponjas podem fornecer informações sobre o ambiente que, em conjunto com os demais microvestígios, agregam mais robustez à interpretação judicial.

As amostras das caminhadas simuladas (CS) apresentaram padrão similar aos observados nas amostras controle e também registraram morfologias distintas, como no caso de algumas gemoscлерas e microscleras acantóxeas da amostra CS-TAN (**Tabela 06**). Este fato

provavelmente está relacionado ao aumento da representatividade amostral gerado pela caminhada, tal como discutido no item sobre a assembleia polínica.

## 7.6. Assembleia de diatomáceas

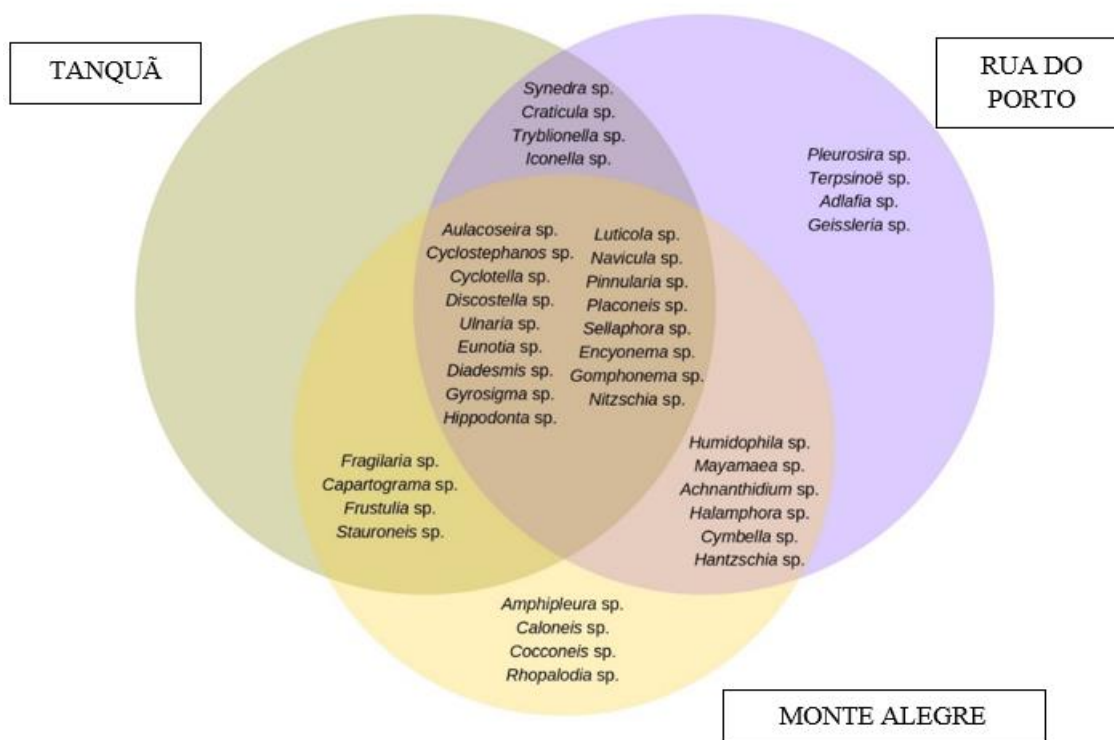
Os resultados mostraram uma assembleia de diatomáceas bastante diversa nos três pontos estudados, com a presença de 25 gêneros no Tanquã e de 31 na Rua do Porto e no Monte Alegre (**Figura 25**). Houve um aumento progressivo no número de frústulas encontradas conforme à proximidade dos pontos com o rio. Ainda que siga esse padrão em relação ao transecto, o P1-TAN é o que apresenta a maior quantidade de gêneros identificados entre os três pontos mais distantes do corpo d'água (16 gêneros para P1-TAN, 3 gêneros para P1-RDP e 10 gêneros para P1-MA), o que pode ser explicado pelos pulsos de inundação do rio que, sazonalmente, mantém essa área alagada. A **Figura 25** mostra a distribuição dos diferentes gêneros de diatomáceas nas áreas.



**Figura 25** – Diagrama de presença e ausência dos gêneros de diatomáceas nas três áreas estudadas. O sinal “+” indica a presença dos gêneros nas amostras.

O diagrama também permite observar que a maioria dos gêneros foram encontrados e identificados nas três áreas estudadas. Entretanto, alguns deles apareceram apenas em áreas específicas, como foi o caso dos táxons *Pleurosigma* sp., *Terpsinoë* sp., *Adelfia* sp. e *Geissleria* sp. para a Rua do Porto, e *Amphipleura* sp., *Caloneis* sp., *Cocconeis* sp. e *Rhopalodia* sp. para o Monte Alegre (**Figura 26**). A presença desses gêneros nesses locais e sua ausência nos demais indicam uma caracterização única de assembleia para essas duas áreas, aspecto que pode ser

determinante em estudos forenses. No caso de Mércia Nakashima, os fragmentos de uma alga endêmica da represa onde o corpo da vítima foi descoberto levaram à condenação do assassino porque, ainda que ocorresse em outras localidades, o fato da alga ser comum na represa em que a vítima foi encontrada e estar presente nos sapatos do principal suspeito, colocou-o no local do crime (BICUDO, 2019). Assim, as diatomáceas específicas dos locais amostrados podem exercer o mesmo papel, ganhando muita importância quando associada ao conjunto probatório.



**Figura 26** – Diagrama de Venn mostrando a distribuição de gêneros de diatomáceas entre as áreas de estudo.

Ainda que a identificação das frústulas a nível de gênero tenha sido significativa para este estudo, a presença de distintas espécies de um mesmo táxon nas amostras demonstra que seria interessante para o contexto forense uma classificação específica, para refinar a caracterização da assembleia. Assim, poderiam ser identificadas espécies que ocorrem em uma única área, sendo características do local e importantes microvestígios em estudos forenses.

A utilização de diatomáceas sob o contexto judicial está sendo bastante explorada no mundo, principalmente em casos de afogamento nos quais as assembleias de frústulas encontradas em tecidos humanos podem caracterizar o corpo d'água onde ocorreu a submersão (KRSTIC et al., 2002; VERMA, 2013). Outros estudos verificam a aderência desses microvestígios em roupas e calçados, como é o caso dos trabalhos de Levin et al. (2017) e Ramos (2019), cujos resultados foram positivos para retenção de frústulas nas peças analisadas.

Em calçados, a análise diatomológica pode ser viável mesmo após uma semana entre o contato e amostragem, e ainda que a duração do contato com a água tenha sido curta (LEVIN et al., 2017), o que representa uma grande potencialidade do uso desta técnica.

### 7.7. Interpretação conjunta dos microvestígios

Alguns microvestígios são mais indicativos que outros a depender da área de estudo. Em áreas de florestas, por exemplo, os grãos de pólen e esporos podem ser mais sugestivos devido à variedade de plantas. Já em áreas de monoculturas, os fitólitos são os melhores indicadores por caracterizarem com mais especificidade a vegetação do local, por meio da proporção dos GSSCP. As áreas de lagos e rios podem ser melhor representadas pelas diatomáceas e espículas de esponjas. Portanto, para estudos forenses efetivos, é importante considerar as características do local para, assim, definir os microvestígios a serem utilizados.

Ainda que certos microvestígios não tenham sido tão informativos em alguns contextos, o uso simultâneo dos dados favorece a caracterização da área. Na Rua do Porto, por exemplo, os grãos de pólen identificados nos calçados não caracterizaram com precisão o local, de modo a relacioná-lo com o ponto de coleta (**Tabela 09**). Entretanto, ao se considerar os dados de concentração de fitólitos do tipo SADDLE e a presença dos táxons de diatomáceas que ocorrem somente nesta área (**Figuras 23 e 26**), torna-se possível fazer a correlação entre o calçado e a localidade. O mesmo foi observado no Tanquã, considerando os dados de espículas (**Figura 24**), e no Monte Alegre em função das análises de diatomáceas e grãos de pólen (**Figuras 21, 22 e 26**). Assim, evidencia-se o potencial de empregar os microvestígios em estudos forenses e também a importância de os utilizar em conjunto, conclusão que também foi relatada nos trabalhos de Ramos (2019) e Amaral (2020).

O uso simultâneo de grãos de pólen e esporos, de frústulas de diatomáceas, de espículas de esponjas e/ou de fitólitos já é feito em estudos paleoambientais (TRAVERSE, 2007), arqueológicos (WATLING, 2015), de mudanças climáticas (BRADLEY, 1999), etc., principalmente devido a seu potencial de se manterem preservados por milhares de anos no sedimento. Nesse sentido, eles também podem estar preservados em roupas, calçados e outros itens envolvidos em uma ação criminal, apresentando vantagem para seu uso no contexto forense. No entanto, esta condição está sujeita a outros fatores que podem interferir na preservação, como a lavagem das peças, o contato com resíduos químicos que causem sua degradação, entre outros.

### **7.8. Estudos futuros**

Embora o presente trabalho tenha cumprido com o seu objetivo de caracterizar e identificar microvestígios (grãos de pólen e esporos, frústulas de diatomáceas, espículas de esponjas e fitólitos) encontrados em amostras de substrato e avaliar seu uso sob o contexto forense, alguns estudos futuros podem ser sugeridos para otimizar a metodologia e refinar os resultados. Um deles é utilizar ferramentas estatísticas para analisar os dados obtidos, realizando análises multivariadas, por exemplo, para apoiar a interpretação dos resultados. Esses instrumentos podem corroborar com as discussões, melhor correlacionar a retenção dos microvestígios nos calçados e nas amostras controle, e apresentar alguns padrões ou variâncias que podem não ter sido percebidos.

Outro estudo é a identificação de frústulas a nível específico, uma vez que essa classificação pode adicionar um novo dado à caracterização da assembleia de diatomáceas, de modo a gerar um maior número de evidências no contexto forense. Seria também relevante quantificar esses organismos nos locais, tal como foi feito para os demais microvestígios, a fim de se obterem dados quantitativos além dos qualitativos. Importante também efetuar-se uma avaliação físico-química das águas do rio (pH, nutrientes, assoreamento, etc.) para levantar aspectos importantes sobre as comunidades de diatomáceas e esponjas, que estão sujeitas às alterações no ambiente. Compreendendo melhor as condições do rio, também se interpreta melhor as assembleias de microvestígios e como elas podem se alterar.

Também se sugere coletas em um número maior de pontos nas áreas, em especial alguns que sigam a caminhada simulada, pois assim seria possível verificar se os microvestígios que apareceram somente nos calçados correspondem a esses locais não amostrados ou se são derivados de alguma outra condição da localidade.



## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho identificou e caracterizou as assembleias de microvestígios (grãos de pólen e esporos, frústulas de diatomáceas, espículas de esponjas e fitólitos), simulou rotas para a checagem da retenção de microvestígios em calçados, demonstrou a sua potencialidade no contexto forense e a importância de se trabalhar os dados em conjunto para garantir maior robustez às interpretações. Foi possível obter um panorama da diversidade de microvestígios em diferentes substratos que ocorrem às margens do rio Piracicaba, contribuindo para a verificação da viabilidade e do potencial em se desenvolver a palinologia forense no Brasil, no intuito de auxiliar na consolidação dessa ferramenta para uso rotineiro da perícia criminal.

Os resultados polínicos indicaram menores concentrações em áreas antropizadas e em substratos arenosos, e registraram maior diversidade de elementos arbóreos na área de floresta ripária. A proporção de fitólitos BILOBATE e SADDLE refinou os dados polínicos, evidenciando a predominância das subfamílias de gramíneas Panicoideae e Chloridoideae nos diferentes locais. Em apenas uma das áreas, foram identificadas espículas de esponjas de *Tubella paulula*, *T. variabilis*, *T. lanzamirandai* e *Radiospongilla amazonensis*, que caracterizaram o ambiente como lêntico. As diatomáceas apresentaram ocorrência pontual de alguns gêneros, que conferiram distinta caracterização às localidades. A concentração de todos os microvestígios foi menor em texturas arenosas e em áreas antropizadas, e a retenção deles nos calçados corresponderam às assembleias registradas nos substratos. O uso simultâneo dos quatro tipos de microvestígios favoreceu a caracterização das áreas e demonstrou potencial em garantir maior robustez às interpretações judiciais.

Ficou evidente a necessidade do desenvolvimento de estudos adicionais, que realizem análises estatísticas para refinar os dados e garantir melhor interpretação das correlações entre amostras. Individualmente, a presença de microvestígios nos calçados são consideradas provas frágeis, pois não necessariamente remetem a locais específicos. No entanto, quando associada ao conjunto probatório do crime, ela ganha importância e pode ser determinante para a resolução do caso criminal.

As investigações com microvestígios ainda requerem o auxílio de universidades, uma vez que a correta identificação das estruturas é crucial e necessita de especialistas. Ainda assim, trata-se de uma potente ferramenta que muito tem a acrescentar à perícia criminal, de modo que a atuação em parceria entre as duas instituições beneficie as rotinas periciais e contribua com o desenvolvimento da palinologia forense no Brasil.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDRE, A. et al. Phytoliths: indicators of grassland dynamics during the late Holocene in intertropical Africa. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 136, n. 1-4, p. 213-229, 1997.
- AMARAL, M. M. **Avaliação forense de vestígios botânicos em canaviais do estado de São Paulo**. 2020. 185 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.
- AMARAL, M. M. Botânica e Palinologia Forenses. In: DIAS FILHO, C. R.; FRANCEZ, P. A. C. (org.) **Introdução à Biologia Forense**. Campinas: Editora Millenium, 2016. p. 157-211.
- BARRETTO, A. G. O. P.; SPAROVEK, G.; GIANNOTTI, M. **Atlas Rural de Piracicaba**. Piracicaba: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2006. 76 p.
- BARTH-SCHATZMAYR, O. M.; BARROS, M. A. Palinologia. In: CARVALHO, I. S. (ed.) **Paleontologia: Microfósseis Paleoinvertebrados**. 3 ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2011. p. 181-207. v. 2
- BATARBEE, R. W. Diatoms analysis. In: BERGLUND, B. E. **Handbook of holocene palaeoecology and palaeohydrology**. Chichester: John Wiley, 1986. 869 p.
- BICUDO, C. E. M. O caso Mércia Nakashima. In: AMARAL, M. M. (org.) **A botânica vai ao tribunal**. São Carlos: RiMa, 2019. 72 p.
- BICUDO, C. E. M.; BICUDO, R. M. T. **Algas de águas Continentais Brasileiras: Chave Ilustrada para Identificação de Gêneros**. São Paulo: Fundação Brasileira para o Desenvolvimento do Ensino de Ciências, 1970. 228 p.
- BOROTTI FILHO, M. A. **Evolução dos manguezais do norte da Ilha do Cardoso (Cananéia-SP), desde o Pleistoceno tardio**. 2013. 137 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2013.
- BRADLEY, R. S. **Paleoclimatology: Reconstructing Climates of the Quaternary**. 2 ed. Massachusetts: Academic Press, 1999. 631 p. v. 68.
- BRAGA, R. Transferência de custos ambientais e urbanísticos na implantação de loteamentos fechados na cidade de Piracicaba-SP. **Caderno de Geografia**, v. 23, n. 39, p. 98-115, 2013.
- BUSH, M. B; WENG, C. Introducing a new (freeware) tool for palynology. **Journal of Biogeography**, v. 34, n. 3, p. 377-380, 2007.
- CÂNDIDO, J. L.; VOLKMER-RIBEIRO, C.; FÜRSTENAU-OLIVEIRA, K. *Dosilia* (Porifera, Demospongiae) redefined. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 100, n. 4, p. 425-448, 2010.
- COE, H. H. G. **Fitólitos como indicadores de mudanças na vegetação xeromórfica da região de Búzios/Cabo Frio, RJ, durante o Quaternário**. 2009. 256 p. Tese (Doutorado em Geologia e Geofísica Marinha) – Instituto de Geociências, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2009.

- COLINVAUX, P.; DE OLIVEIRA, P. E.; PATINÕ, J. E. M. **Amazon pollen manual and atlas**. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1999. 332 p.
- COYLE, H. M. **Forensic Botany: Principles and Applications to Criminal Casework**. Boca Raton: CRC Press, 2004. 336 p.
- DE FOREST, P. R.; GAENSSLEN, R. E.; LEE, H. C. **Forensic Science: An Introduction to Criminalistics**. Nova Iorque: McGraw-Hill, 1983. 463 p.
- DE OLIVEIRA, P. E.; STEINITZ-KANNAN, M. The diatom flora (Bacillariophyceae) of the Cuyabeno Faunistic Reserve, Ecuadorian Amazonia. **Nova Hedwigia**, v. 54, n. 3-4, p. 515-552, 1992.
- DE OLIVEIRA, P. E.; SUGUIO, K. Estudos quaternários e sua aplicação forense: caso estudo de containers furtados no estado de São Paulo. *In: X Congresso Brasileiro da ABEQUA*. Guarapari: Boletim de Resumos, 2005. p. 1-5.
- DE SOUZA LIMA, R. A. et al. Valoração do patrimônio socioambiental de Piracicaba, SP. O caso do Tanquã. *In: QUEIROZ, O. T. M. M. et al. (ed.) A natureza e o patrimônio na produção do lugar turístico*. Ituiutaba: Barlavento, 2016. p. 110-122.
- DIAS, H.; ALCARDE ALVARES, C.; SENTELHAS, P. Um século de dados meteorológicos em Piracicaba, SP: Mudanças do clima pela classificação de Köppen. *In: Simpósio de Mudanças Climáticas e Desertificação do Semiárido Brasileiro*. Juazeiro: XX Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, 2017.
- FAEGRI, K; IVERSEN, J. **Textbook of pollen analysis**. 4 ed. Nova Iorque: John Wiley, 1989. 340 p.
- FREDLUND, G. G.; TIESZEN, L. T. Modern phytolith assemblages from the North American great plains. **Journal of Biogeography**, v. 21, n. 3, p. 321-335, 1994.
- FÜRSTERNBERGER, C. B. **Interpretações paleolimnológicas do quaternário recente a partir da análise da comunidade de diatomáceas (Bacillariophyceae) no sedimento do Rio Icatu, Município de Xique-Xique, Estado da Bahia, Brasil**. 2001. 128 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2001.
- Google Earth** website. <http://earth.google.com/>, 2022.
- HARRISON, F. W. Utilization of freshwater sponges in paleolimnological studies. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 62, n. 1-4, p. 387-397, 1988.
- HESSE, M. et al. **Pollen Terminology: An illustrated handbook**. Nova Iorque: Springer, 2008. 266 p.
- HORSWELL, J.; FOWLER, C. Associative evidence - the Locard exchange principle. *In: HORSWELL, J. (ed.) The Practice of Crime Scene Investigation*. Estados Unidos: CRC Press, 2004. p. 45-55.

- HOUK, V. **Atlas of freshwater centric diatoms with a brief key and descriptions**. República Tcheca: Czech Phycological Society, 2003. 114 p. v. 1.
- ICPT. International Code for Phytolith Nomenclature (ICPN) 2.0, **Annals of Botany**, v. 124, n. 2, p. 189-199, 2019.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA [IBGE]. **IBGE**: Piracicaba. 2022. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/piracicaba/panorama>>. Acesso em: 01 jun. 2022.
- INSTITUTO DE PESQUISAS E PLANEJAMENTO DE PIRACICABA [IPPLAP]. **IPPLAP**: busca de documentos. 2017. Disponível em <<http://ipplap.com.br/site/busca-de-documentos/>>. Acesso em: 01 jun. 2022.
- KRSTIC, S. et al. Diatoms in forensic expertise of drowning – a Macedonian experience. **Forensic Science International**, v. 127, n. 3, p. 198-203, 2002.
- LAPORT, M. S.; PINHEIRO, U.; RACHID, C. T. C. D. C. Freshwater Sponge *Tubella variabilis* Presents Richer Microbiota Than Marine Sponge Species. **Front Microbiol**, v. 10, n. 2799, 2019.
- LEANDRINI, J. A.; CAVALCANTI, A. V.; RODRIGUES, L. Diatomáceas. In: PAROLIN, M.; VOLKMER-RIBEIRO, C.; LEANDRINI, J. A. (org.) **Abordagem ambiental interdisciplinar em bacias hidrográficas no Estado do Paraná**. Campo Mourão: Editora da Fecilcam, 2010. p. 131-155.
- LEVIN, E. A. et al. The transfer of diatoms from freshwater to footwear materials: An experimental study assessing transfer, persistence, and extraction methods for forensic reconstruction. **Science & Justice**, v. 57, n. 5, p. 349-360, 2017.
- LORENTE, F. L. et al. **Atlas palinológico - Laboratório C-14 - CENA/USP**. Piracicaba: FEALQ, 2017. 333 p.
- MANCONI, R.; PRONZATO, R. Suborder Spongillina subord. nov.: Freshwater Sponges. In: HOOPER, J. N. A.; VAN SOEST, R. W. M.; WILLENZ, P. (eds) **Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges**. Nova Iorque: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002. 99 p.
- MANVAILER, V.; LEANDRO, T. D.; SCREMIN-DIAS, E. Botanical knowledge in the law enforcement: a preliminary approach towards its potential use in brazilian criminal caseworks. **Braz. arch. biol. technol.**, v. 61, 2018.
- MAROSTEGA, T. N. et al. Ocorrência de esponjas de água doce (Porifera, Demospongiae) na Baía do Malheiros, Pantanal Mato-Grossense, **Perspectiva (Erechim)**, v.37, n.137, p.141-148, 2013.
- MARUMO, Y.; YANAI, H. Morphological analysis of opal phytoliths for soil discrimination in forensic science investigation. **Journal of Forensic Science**, v. 31, n. 3, p. 1039-1049, 1986.
- MILDENHALL, D. C. Forensic palynology in New Zealand. **Review of palaeobotany and palynology**, v. 64, n. 1-4, p. 227-234, 1990.

- MILDENHALL, D. C.; WILTSHIRE, P. E. J.; BRYANT, V. M. Forensic palynology: Why do it and how it works. **Forensic Science International**, v. 163, n. 3, p. 163-172, 2006.
- MILNE, L. A. Forensic palynology – cereal points to serial rapist. *In: Program. The Crim. Trac. 15<sup>th</sup> International Symposium on the Forensic Sciences*, the Australian and New Zealand Forensic Science Society, p. 5-10, 2000.
- MOREIRA-FILHO, H. Diatomáceas no trato digestivo da *Tegula viridula* Gmelin (Chrysophyta - Bacillariophyceae). **Boletim da Universidade do Paraná (Bot.)**, v. 1, p. 1-24, 1960.
- MOREIRA-FILHO, H.; VALENTE-MOREIRA, I. M.; CECY, I. I. T. Diatomáceas da Baía de Paranaguá. **Boletim do Museu Botânico Municipal**, v. 20, p. 1-24, 1975.
- MORO, R. S.; FÜRSTERNBERGER, C. B. **Catálogo dos principais parâmetros ecológicos de diatomáceas não-marinhas**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 1997. 282 p.
- MULHOLLAND, S. C. Phytolith shape frequencies in North Dakota grasses: a comparison to general patterns. **Journal of Archeological Science**, v. 16, p. 489-511, 1989.
- MUNSELL COLOR. **Munsell Soil Color Charts**. Nova Iorque: Macbeth Division of Kollmorgen Instruments, 2009.
- PEDRON, F. A. et al. Solos urbanos. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1647-1653, 2004.
- PELLEGRINO, G. Q. **Análise espaço-temporal de dados hidrológicos da bacia do rio Piracicaba**. 1996. 117 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.
- PIMENTA, A. T. M.; RUFFINO-NETO, A.; JÚNIOR, A. L. R. IDH e Incidência de Aids nas Microrregiões do Estado de São Paulo, Brasil, 1996 a 2005: um Estudo Ecológico. **Perspectiva Geográfica**, v. 11, n. 14, p. 27-37, 2016.
- PINHEIRO, U.; CALHEIRA, L. Phylum Porifera. *In: ROGERS, D. C.; DAMBORENEA, C.; THORP, J. (ed.) Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates: Keys to Neotropical and Antarctic Fauna*. 4 ed. [s.l.]: Academic Press, 2020. v. 5. p. 79-92.
- PIPERNO, D. R. **Phytolith analysis**: an archaeological and geological perspective. Londres: Academic Press, 1988. 280 p.
- PIPERNO, D. R. **Phytoliths**: a comprehensive guide for archaeologists and paleoecologists. Oxford: Altamira Press, 2006. 237 p.
- PIPERNO, D. R. The status of phytolith analysis in the American Tropics. **Journal of World Prehistory**, v. 5, n. 2, p. 155-191, 1991.
- RAMOS, C. **Potencial forense de microvestígios biogeológicos em ecossistema costeiro do Brasil**. 2019. 74 p. Dissertação (Mestrado em Geoquímica e Geotectônica) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2019.
- RAPP JR., G.; MULHOLLAND, S. C. **Phytolith systematics**: emerging issues. Nova Iorque: Plenum Press, 1992. 350 p.

- RASBOLD, G. G. **Espículas de esponjas de água doce e fitólitos como indicadores das características paleoambientais desde o Pleistoceno Tardio das ilhas Bandeirantes e Grande, alto rio Paraná**. 2016. 61 p. Dissertação (Mestre em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2016.
- RECH, A. R.; BERGAMO, P. J.; FIGUEIREDO, R. A. Polinização abiótica. *In*: RECH, A. R. et al. (org.) **Biologia da Polinização**. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014. p. 183-204.
- RODRIGUES, R. R. A vegetação de Piracicaba e municípios do entorno. **Circular técnica IPEF**, v. 189, n. 1, p. 1-17, 1999.
- ROUBIK, D. W.; MORENO, J. E. **Pollen and spores of Barro Colorado Island**. San Luis: Missouri Botanical Garden, 1991. 268 p.
- ROUND, F. E.; CRAWFORD, R. M.; MANN, D. G. **The diatoms: biology & morphology of the genera**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 747 p.
- SAFFI, L. et al. **100 anos de história Barra Bonita - De Salles Leme e Pompeu (1883) a Wady Mucare (1983)**. Prefeitura Municipal de Barra Bonita, 1999. Disponível em: <<https://barrabonita.sp.gov.br/barrabonita/livro-100-anos-de-historia>>. Acesso em: 01 jun. 2022.
- SALGADO-LABORIAU, M. L. **Critérios e Técnicas para o Quartenário**. São Paulo: Edgard Blücher, 2007. 387 p.
- SILVA, A. M. et al. Diatomáceas perifíticas em um sistema eutrófico brasileiro (Reservatório do Iraí, estado do Paraná). **Acta Bot. Bras.**, v. 24, n. 4, p. 997-1016, 2010.
- SILVA-CUNHA, M. G. G.; ESKINAZI-LEÇA, E. **Catálogo das diatomáceas (Bacillariophyceae) da plataforma continental de Pernambuco**. Recife: SUDENE, 1990. 318 p.
- SISTEMA AMBIENTAL PAULISTA. **Proposta de criação - Área de Proteção Ambiental Barreiro Rico e Área de Proteção Ambiental Tanquã-Rio Piracicaba: relatório técnico**. São Paulo, 2018.
- SPAULDING, S. A. et al. *Diatoms.org*: supporting taxonomists, connecting communities, **Diatom Research**, v. 36, n. 4, p. 291-304, 2021.
- TAVARES; M. C. M.; VOLKMER-RIBEIRO, C.; DE ROSA-BARBOSA, R. Primeiro registro de *Corvoheteromeyenia australis* (Bonetto & Ezcurra de Drago) para o Brasil com chave taxonômica para os poríferos do Parque Estadual Delta do Jacuí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 2, p. 169-182, 2003.
- TRAVERSE, A. **Paleopalynology**: Second Edition. 2 ed. Nova Iorque: Springer, 2007. 816 p. v. 28.
- TWISS, P. C.; SUESS, E.; SMITH, R. M. Morphological classification of grass phytoliths. **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 33, n. 1, p. 109-115, 1969.

- VERMA, K. Role of diatoms in the world of forensic science. **Journal of Forensic Research**, v. 4, n. 2, p. 181-18, 2013.
- VOLKMER-RIBEIRO, C. Porifera. In: HURLBERT, S. H.; RODRIGUEZ, G.; SANTOS, N. D. (ed.) **Aquatic biota of tropical South America**. San Diego: San Diego State University, 1981. p. 86-95.
- VOLKMER-RIBEIRO, C.; DE ROSA-BARBOSA, R. Redescription of the freshwater sponges *Trochospongilla repens* (Hinde, 1888) and *Trochospongilla amazonica* (Weltner, 1895) with an account of the South American species of *Trochospongilla* (Porifera, Spongillidae). **Iheringia**, Série Zoologia, v. 65, p. 77-93, 1985.
- VOLKMER-RIBEIRO, C.; PAROLIN, M. As Esponjas. In: PAROLIN, M.; VOLKMER-RIBEIRO, C.; LEANDRINI, J. A. (org.) **Abordagem ambiental interdisciplinar em bacias hidrográficas no Estado do Paraná**. Campo Mourão: Editora da Fecilcam, 2010. p. 105-130.
- WATLING, J. et al. Subsistence practices among earthwork builders: Phytolith evidence from archaeological sites in the southwest Amazonian interfluvies. **Journal of Archaeological Science: Reports**, v. 4, p. 541-551, 2015.
- WENTWORTH, C. K. A scale of grade and class terms for clastic sediments. **Journal of Geology**, v. 30, p. 377-392, 1922.
- WILTSHIRE, P. E. J. Forensic ecology, botany and palynology: some aspects of their role in criminal investigation. In: RITZ, K.; DAWSON, L.; MILLER, D. (ed.) **Criminal and environmental soil forensics**. Dordrecht: Springer, 2009. p. 129-149.
- WILTSHIRE, P. E. J. Protocols for forensic palynology. **Palynology**, v. 40, n. 1, p. 4-24, 2016.
- WITKOWSKI, A.; LANGE-BERTALOT, H.; METZELTIN, D. **Iconographia Diatomologica**: Diatom flora of marine coasts. Liechtenstein: A.R.G. Gantner Verlag, 2000. 443 p. v. 7.
- ZORZAL-ALMEIDA, S. **Biodiversidade e distribuição das diatomáceas em represas do Estado de São Paulo com ênfase na bacia do rio Piracicaba e do Sistema Cantareira**. 2016. 165 p. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2016.