

XXV SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS

BIOMARCADORES PARA AVALIAÇÃO DE ALTERAÇÕES DA QUALIDADE AMBIENTAL DE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS

Fernanda Jukoski de Siqueira¹; Lúcia Ribeiro Rodrigues², Maria Cristina de Almeida Silva³

Abstract: This paper discusses concepts and characteristics of the biomarkers used to evaluate the environmental quality of aquatic ecosystems. Depending on the purpose of the study, biomarkers can be classified according to the type of exposure, effect and susceptibility, and the presence or absence of toxic substances in the evaluated water body. The main advantages of using biomarkers are related to the provision of an estimate of lethal and sub-lethal effects, the identification of the interactions between contaminants and living organisms, and the achievement of a global response to the impact of contamination. They can provide an alarm signal for potential environmental damage.

Resumo: O presente trabalho aborda conceitos e características dos biomarcadores utilizados para avaliação da qualidade ambiental de ecossistemas aquáticos. Dependendo da finalidade do estudo, os biomarcadores podem ser classificados quanto ao tipo de exposição, de efeito e de suscetibilidade e, a presença ou não de substâncias tóxicas no corpo hídrico avaliado. As principais vantagens quanto ao uso dos biomarcadores estão relacionadas ao fornecimento de estimativas de efeitos letais e sub-letais, identificação das interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos vivos, a obtenção de uma resposta global aos efeitos de contaminantes, e assim, podem fornecer um sinal de alerta para potenciais danos ambientais.

Palavras-Chave – Ecotoxicologia, biomonitoramento, xenobiótico

INTRODUÇÃO

Os ambientes aquáticos estão sujeitos a constante contaminação, o que causa degradação e perda da qualidade das águas [ALVES *et al.* (2018); BARNI *et al.* (2016)]. Dentre os principais impactos sobre recursos hídricos, pode-se citar: supressão da vegetação ciliar; eutrofização das águas, devido ao aporte excessivo de nutrientes provenientes principalmente de atividades agropecuárias e despejo de efluentes; poluição por metais pesados e agrotóxicos; introdução de espécies exóticas e assoreamento [BEGHELLI *et al.* (2015)]. Diante destes impactos, a avaliação da qualidade ambiental não é uma tarefa simples. Comumente essa atividade vem sendo realizada através da avaliação e análise de parâmetros físicos e químicos da água, como oxigênio dissolvido, condutividade, pH, temperatura, salinidade, e turbidez. Entretanto, em se tratando da qualidade da

1) Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. CEP: 91501-970, Porto Alegre (RS), Brasil, fejukoski@hotmail.com

2) Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Laboratório de Ecotecnologia e Limnologia Aplicada - LELA CEP: 91501-970, Porto Alegre (RS), Brasil, luciarrodrigues@gmail.com

3) Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Núcleo de Estudos em Saneamento Ambiental (NESA). CEP: 91501-970, Porto Alegre (RS), Brasil, maria.almeida@ufrgs.br

água, observa-se que esses parâmetros geralmente são empregados com enfoque voltado ao consumo humano, estabelecendo limites relacionados à potabilidade, mas não se preocupando, necessariamente, com a manutenção da biota aquática [VIEIRA e SHIBATTA (2007)].

Neste contexto, a Ecotoxicologia é uma ciência multidisciplinar que avalia os efeitos tóxicos de substâncias químicas biologicamente ativas sobre os organismos. Possui aplicações importantes no diagnóstico e avaliação da degradação ambiental, fornecendo informações para o controle dos impactos, bem como, provendo análises de risco ecológico em programas de monitoramento ambiental, e medidas mitigatórias. Fornece significado biológico para os dados de contaminação, além de prova legal, possibilitando o desenvolvimento de métodos mais eficazes para a conservação e gestão ambiental, responsabilização por danos e passivos, entre outros [DAVANSO (2010)].

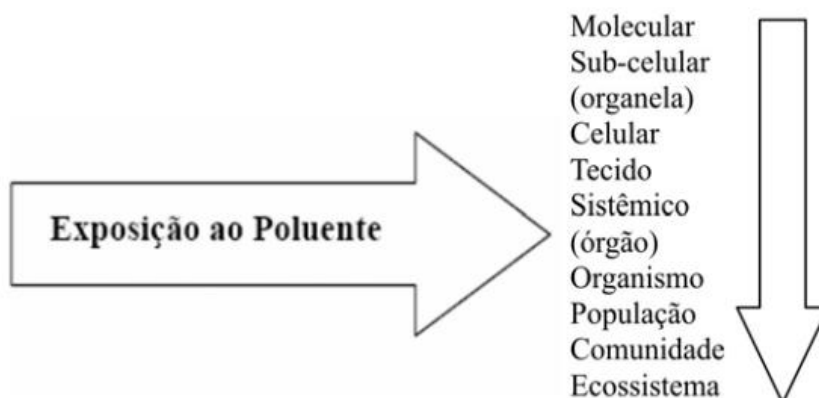
Segundo Magalhães e Ferrão Filho (2008), a Ecotoxicologia Aquática é uma ciência que surgiu para dar suporte no enfrentamento dos problemas de contaminação dos corpos d'água por compostos tóxicos. Os resultados das análises químicas por si só não retratam o impacto ambiental causado pelos poluentes porque não demonstram os efeitos sobre os organismos e o ecossistema. Somente os sistemas biológicos (organismos ou partes deles) podem detectar os efeitos potencialmente tóxicos de substâncias. A aplicação dos testes de toxicidade na análise ambiental é bastante abrangente, e sua importância aumenta na proporção que cresce a complexidade das transformações químicas no meio ambiente.

No ambiente aquático um contaminante encontra-se frequentemente na presença de outros agentes químicos, o que pode resultar numa ação conjunta sobre um determinado sistema biológico. Este fato, entretanto, não é levado em consideração no estabelecimento de níveis máximos permissíveis para um dado xenobiótico. Em decorrência dessa matriz tão complexa, se faz necessária a avaliação da toxicidade das misturas em diferentes concentrações, bem como ação independente de cada poluente, classificando, assim, cada tipo de interação [MOURA e MELLO (2010)].

De acordo com a classificação dos agentes químicos, pode ser identificado: 1) Aditividade: dois agentes químicos que atuam independentemente sobre o mesmo sistema biológico de tal maneira que o efeito resultante é aditivo, ou a soma dos efeitos; 2) Sinergismo: interação entre os agentes tóxicos que produz um efeito maior que o esperado em relação às ações individuais, ou seja, maior que o efeito aditivo; 3) Antagonismo: redução do efeito, ou seja, os agentes químicos produzem um efeito menor que o aditivo [MOURA e MELLO (2010)]. A exposição da biota aquática a substâncias tóxicas lançadas no ambiente é capaz de promover múltiplas alterações que podem gerar graves consequências nas populações, comunidades ou mesmo ao ecossistema, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição, como exemplificado na figura 1.

Segundo Costa (2006) os ecossistemas aquáticos em geral constituem o receptáculo final de substâncias produzidas e despejadas no meio pela atividade antrópica e/ou por processos naturais. Um xenobiótico passa a integrar um organismo aquático quando este está exposto, podendo ser absorvido e bioacumulado. Considerando o modelo de bioacumulação que, por extensão, pode ser aplicado a toda a biota, defini-se: a) bioconcentração: acúmulo direto do xenobiótico a partir da água, pelas brânquias ou pela pele, que pode ser mensurado como o fator de bioconcentração, ou seja, a razão entre a concentração da substância no organismo pela concentração da mesma na água; b) biomagnificação: acúmulo por via trófica, a partir da alimentação, que pode ser mensurado como o fator de biomagnificação, ou seja, a razão no equilíbrio entre a taxa constante de acúmulo pela taxa constante de eliminação (por excreção ou metabolismo); ou ainda: “um incremento progressivo de concentrações, a partir da fonte de exposição e através dos níveis tróficos de organismos vivos”, em ascendência.

Figura 1. Representação esquemática da ordem sequencial de respostas a poluentes dentro de um sistema biológico [JESUS e CARVALHO (2008)].



Os compostos no ambiente sofrem alterações decorrentes de processos físicos, químicos e/ou biológicos, os quais podem modificar suas propriedades e influenciar seu comportamento, inclusive com a formação de subprodutos com propriedades absolutamente distintas do produto inicial, e cujos danos à saúde ou ao meio ambiente também podem ser diferenciados. O entendimento da toxicidade de compostos e sua quantificação são ferramentas úteis para o estabelecimento de mecanismos efetivos de controle e avaliação de risco real à saúde humana e ao ambiente. Deste modo, o estudo da toxicidade por exposição múltipla de poluentes representa uma nova perspectiva para a toxicologia aquática [SALVO *et al.* (2008)].

O uso de indicadores biológicos ou biomarcadores constitui uma ferramenta fundamental para a avaliação das respostas das comunidades biológicas frente a várias modificações nas condições ecossistêmicas normais. Estes são potencialmente utilizados para detecção de qualquer exposição e/ou efeitos de contaminantes, fornecem informações sobre a biodisponibilidade de substâncias tóxicas, bem como dão respostas a diferentes níveis de organização biológica, além de atuarem como sinais de alerta precoce da presença de agentes químicos potencialmente tóxicos no ecossistema [VASCO *et al.*, (2016)].

Segundo Freire *et al.* (2008) os biomarcadores podem ser definidos como alterações bioquímicas, celulares, moleculares ou mudanças fisiológicas nas células, fluídos corpóreos, tecidos ou órgãos de um organismo que são indicativos da exposição ou efeito de um xenobiótico. Assim, um biomarcador é caracterizado por alterações biológicas em níveis moleculares, celulares ou fisiológicas que se apresentam em resposta a mudanças do ambiente. Essas respostas podem estar relacionadas à exposição ou aos efeitos tóxicos de químicos ambientais. Sendo assim, a utilização do termo biomarcador está ligada aos parâmetros bioquímicos, fisiológicos ou histológicos, tanto de efeito, quanto de exposição de xenobióticos, que atuam no organismo ou em partes dele [CASTRO (2016)].

De acordo com Amorim (2003), para que uma substância química, seu metabólito ou uma alteração biológica sejam validados e/ou propostos como biomarcador, é desejável que o mesmo apresente as seguintes características: 1) a quantificação do indicador deve: refletir a interação (qualitativa ou quantitativa) do sistema biológico com a substância química; ter conhecida e apropriada sensibilidade e especificidade para a interação; ser reproduzível qualitativamente e quantitativamente; 2) estar contido em um meio biológico acessível de análise, considerando a

necessidade de manutenção da integridade da amostra entre a coleta e o procedimento analítico, e de preferência não ser invasivo; 3) a medição analítica tem que apresentar exatidão e precisão adequadas; 4) conhecer os valores normais do indicador em populações não expostas ao agente químico de interesse, assim como as variações intra e interindividuais. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi realizar uma breve revisão da literatura acerca da aplicação dos biomarcadores para avaliação de alterações da qualidade de ecossistemas aquáticos e propor a inclusão de avanços legais no âmbito do biomonitoramento ambiental.

CLASSIFICAÇÃO DOS BIOMARCADORES

Os biomarcadores podem ser classificados como de exposição, efeito ou suscetibilidade. Os biomarcadores de exposição são alterações biológicas mensuráveis que evidenciam a exposição dos organismos a um poluente e, podem ser definidos como uma substância exógena, seu metabólito ou o produto da interação entre um agente xenobiótico e alguma molécula ou célula alvo, que pode ser medido em um compartimento situado no organismo [JESUS e CARVALHO (2008); GRINEVICIUS (2006)]. Este tipo de biomonitoramento permite verificar evidências após a exposição às substâncias químicas, o nível de absorção, de transformação em metabólitos ativos e de acumulação em um órgão, tecido ou célula-alvo, permitindo assim uma estimativa de concentração interna ou a biodisponibilidade de um xenobiótico particular ou do seu metabólito em um organismo [GRINEVICIUS (2006)]. Deste modo, podem contribuir para a prevenção primária e adoção de medidas conducentes à redução da exposição, o que é necessário em estudos epidemiológicos, e podem, ainda, facilitar as comparações entre níveis de exposição em diferentes compartimentos do organismo de forma a identificar diferenças de suscetibilidade [SILVA (2016)].

Os biomarcadores de efeito, são definidos como substâncias fisiológicas ou outra alteração dentro de um organismo, que possa ser mensurável e que, dependendo de sua magnitude, possa ser reconhecida como um risco real ou potencial de prejuízo à saúde ou de causar doença [GRINEVICIUS (2006)]. Geralmente não são específicos em relação aos estressores e não fornecem informações sobre a sua natureza, mas são característicos da ocorrência de estresse que poderá ser reversível tão logo o estressor cesse a atuação. Tendem a ser mais preditivos para um determinado tipo de toxicidade em particular, à medida que as alterações vão sendo mais persistentes e/ou graves, do que propriamente associados a um dado agente específico [JESUS e CARVALHO (2008); SILVA (2016)]. A suscetibilidade dos biomarcadores pode ser definida como indicadores de processos que causam variações de repostas ao longo do tempo e entre exposição e efeito, eles determinam condições como: indivíduo sadio, compensação do metabolismo, perturbação das funções, alterações morfológicas e morte.

Jesus e Carvalho (2008) relatam que estas condições aumentam a taxa de transição entre esses dois extremos (exposição e efeito). Esses biomarcadores podem refletir fatores genéticos ou adquiridos que influenciam a resposta do organismo exposto a um determinado xenobiótico, ou seja, são fatores pré-existent e são independentes da exposição. Também, identificam aqueles indivíduos na população que têm diferenças genéticas ou adquiridas na suscetibilidade para os efeitos da exposição a substâncias químicas exógenas [SILVA (2016)]. Ainda, indicam quais os fatores podem aumentar ou diminuir um risco individual no desenvolvimento da resposta do organismo decorrente da exposição aos agentes químicos ambientais.

VANTAGENS E LIMITAÇÕES DOS BIOMARCADORES

Como principais vantagens do uso de biomarcadores destacam-se as seguintes: a) Fornecem uma estimativa dos efeitos letais e subletais; b) Medem a toxicidade quando o agente tóxico não é

identificado quimicamente; c) Podem fornecer um sinal de alerta para os potenciais danos ambientais; d) Permitem identificar as interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos vivos; e) Permitem a obtenção de uma resposta global aos efeitos de contaminação; f) Contabilizam os efeitos das misturas tóxicas, podendo um efluente quimicamente complexo ser avaliado genericamente como um poluente [SILVA (2016)].

Dentre as limitações do uso de biomarcadores podemos ressaltar: a) A substância tóxica não é identificada; b) Nos ensaios são apenas utilizadas algumas espécies dos muitos organismos presentes nos ecossistemas; c) Os organismos-testes não são expostos a situações de estresse durante a realização do ensaio, uma vez que não ocorre variabilidade natural dos fatores ambientais; d) Podem ser pouco previsíveis de efeitos adversos quando há limitações no conhecimento do processo de toxicidade a um dado xenobiótico; e) As relações entre o efeito-individual e o efeito-populacional podem diferir devido à existência de variabilidade interindividual [SILVA (2016)].

EXEMPLOS DO USO DE BIOMARCADORES

Radwan e colaboradores (2019) avaliaram o efeito de acrilamida no caracol *Theba pisana* em relação aos parâmetros de estresse oxidativo (peroxidação lipídica, catalase, teor de ácido desoxirribonucleico), bem como parâmetros imunológicos (morte celular, fagocitose, estabilidade da membrana lisossômica, entre outros), após duas semanas de exposição e uma semana de recuperação. Como resultados, verificaram que a exposição à acrilamida aumentou significativamente a morte celular e o nível de peroxidação lipídica, bem como declínio no conteúdo de DNA e estabilidade da membrana lisossômica. Identificaram, também, que a maioria dos parâmetros avaliados e alterados nos caracóis eram permanentes e não reversíveis. Desta forma, os autores ressaltaram que o caracol *Theba pisana* é um bom organismo sentinela em estudos de monitoramento da poluição.

No Brasil, Maceda e colaboradores (2015) avaliaram o uso de biomarcadores para monitoramento das águas, a partir da ocorrência de efeitos de mutagenicidade, genotoxicidade e citotoxicidade de amostras provenientes do Córrego Arara no município de Rio Brillhante, MS. Para avaliação da mutagenicidade utilizou-se o teste de micronúcleo, para genotoxicidade, o ensaio cometa, ambos com o peixe *Astyanax altiparanae*, e para analisar a citotoxicidade utilizou-se o teste de *Allium cepa*. A análise química da água indicou níveis de cádmio, cromo, cobre, chumbo e níquel, com valores superiores ao permitido pela legislação vigente. A presença destes metais acima dos níveis permitidos nas amostras de água analisadas do Córrego Arara indica possíveis potenciais mutagênicos, genotóxicos e citotóxicos aos organismos aquáticos da região.

Fernandes *et al.* (2021) estudaram o efeito da exposição de amostras do Rio Sorocaba/SP, com presença de metais, nos girinos *Lithobates catesbeianus*. Constataram efeitos sistêmicos da exposição à água do rio Sorocaba, em diferentes épocas do ano, com alterações nos biomarcadores em diferentes níveis, em que o rim do organismo apresentou maior valor da resposta integrada de biomarcadores, seguido do fígado, ressaltando-se que os biomarcadores bioquímicos foram mais sensíveis do que os biomarcadores morfológicos.

Dos Santos *et al.* (2023) avaliaram o efeito das concentrações de metais (Al, Cr, Pb, Ba, Ni e Mn) do Rio Pará no peixe *Cheirocerus goeldii* e no crustáceo *Macrobrachium amazonicum*, em relação aos biomarcadores bioquímicos (capacidade antioxidante total e peroxidação lipídica). Os autores destacaram que o Rio Pará é um corpo hídrico da bacia amazônica sob influência antrópica de urbanização e processamento de minerais, como bauxita e caulim. Como resultados, verificaram que a concentração dos metais nos organismos e as respostas dos biomarcadores mostraram o efeito das influências antrópicas na região avaliada. O crustáceo evidenciou o maior acúmulo do metal, quando comparado ao peixe, o que aponta uma resposta adaptativa dos biomarcadores avaliados.

Recentemente, Da Luz *et al.* (2023) estudaram a ecotoxicidade da proteína lisada de SARS-CoV-2 (SARS.CoV2/SP02.2020.HIAE.Br) no peixe *Danio rerio* em concentrações ambientalmente relevantes previstas (0,742 e 2,226 pg/L), por 30 dias. Foi verificado que a exposição afetou negativamente a memória de habituação e a agregação social dos animais em resposta a um potencial predador aquático (*Geophagus brasiliensis*). Uma maior frequência de anormalidades nucleares de eritrócitos também foi observada em animais expostos ao SARS-CoV-2. Para alguns biomarcadores, notou-se que a resposta dos animais aos tratamentos não foi dependente da concentração. Os resultados reforçam a presunção de que a pandemia de COVID-19 teve outras implicações negativas, além dos impactos econômicos, sociais e de saúde pública já identificados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O monitoramento, preservação e restauração dos ecossistemas aquáticos requer a compreensão de como processos naturais e atividades antrópicas afetam a saúde ambiental, em especial dos organismos aquáticos. A legislação brasileira, através da Resolução CONAMA 357/2005, já prevê a realização do biomonitoramento, a partir de ensaios ecotoxicológicos. Um próximo avanço legal, pode ser a utilização de biomarcadores como ferramentas complementares de avaliação da qualidade da água. Neste contexto, os biomarcadores podem ser utilizados com sucesso no biomonitoramento da qualidade ambiental aquática, desde que se considere adequadamente os aspectos físico-químicos e biológicos do ecossistema a ser avaliado.

REFERÊNCIAS

- ALVES, R. I.; MACHADO, C. S.; BEDA, C. F.; FREGONESI, B. M.; NADAL, M.; SIERRA, J.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. “Water quality assessment of the Pardo River Basin, Brazil: A multivariate approach using limnological parameters, metal concentrations and indicator bacteria”. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 75, n. 2, p. 199-212, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0493-7>
- AMORIM, L. C. A. “Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais”. Revista Brasileira de Epidemiologia, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 158-170, jun. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-790x2003000200009>.
- BARNI, M. F. S.; ONDARZA, P. M.; GONZALEZ, M.; DA CUÑA, R.; MEIJIDE, F.; GROSMAN, F.; MIGLIORANZA, K. S. “Persistent organic pollutants (POPs) in fish with different feeding habits inhabiting a shallow lake ecosystem”. Science of the Total Environment, v. 550, p. 900-909, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.176>
- BEGHELLI, F. G. de S.; CARVALHO, M. E. K.; PECHE FILHO, A.; MACHADO, F. H.; CARLOS, V. M.; POMPÊO, M.; RIBEIRO, A. I.; MEDEIROS, G. A. de. “Uso do índice de estado trófico e análise rápida da comunidade de macroinvertebrados como indicadores da qualidade ambiental das águas na Baciado Rio Jundiá-Mirim - SP – BR”. Brazilian Journal Of Aquatic Science And Technology, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 13, 15 mar. 2015. Editora UNIVALI. <http://dx.doi.org/10.14210/bjast.v19n1.p13-22>.
- CASTRO, J. da S. *Biomarcadores Histológicos em Sciades Herzbergii (Pisces, Ariidae) no Monitoramento do Complexo Estuarino De São Marcos, Maranhão*. 2016. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós- Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2016.
- COSTA, J. R. M. A. *Padronização De Metodologias Para o Uso De Biomarcadores De Contaminação Ambiental Em Traíra (Hoplias Malabaricus, Erythrinidae): -Alad, Metalotioneína e Vitelogenina*. 2006. 145 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Biologia

Celular e Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

DAVANSO, M. B. *Abordagens biológicas como instrumento de avaliação de risco ambiental em estuários da região metropolitana de Fortaleza-CE: biomarcadores e toxicidade de sedimentos*. 2010. 74 f. Dissertação (mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) - Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

DA LUZ, T. M., GUIMARÃES, A. T. B., DA SILVA MATOS, S. G., DE SOUZA, S. S., GOMES, A. R., DE LIMA RODRIGUES, A. S., & Malafaia, G. (2023). “*Exposure of adult zebrafish (Danio rerio) to SARS-CoV-2 at predicted environmentally relevant concentrations: Outspreading warns about ecotoxicological risks to freshwater fish*”. *Science of The Total Environment*, 880, 163269.

DOS SANTOS, C. C. M., NAUAR, A. R., FERREIRA, J. A., DA SILVA MONTES, C., ADOLFO, F. R., LEAL, G., ... & AMADO, L. L. “*Multiple anthropogenic influences in the Pará River (Amazonia, Brazil): A spatial-temporal ecotoxicological monitoring in abiotic and biotic compartments*”. *Chemosphere*, 323, 138090, (2023).

FERNANDES, I. F., UTSUNOMIYA, H. S. M., DE LACERDA VALVERDE, B. S., FERRAZ, J. V. C., FUJIWARA, G. H., GUTIERRES, D. M., & DOS SANTOS CARVALHO, C. (2021). “*Ecotoxicological evaluation of water from the Sorocaba River using an integrated analysis of biochemical and morphological biomarkers in bullfrog tadpoles, Lithobates catesbeianus* ()”. *Chemosphere*, 275, 130000, 2021.

FREIRE, M. M., SANTOS, V. G., GINUINO, I. S. F., & ARIAS, A. R. L. “*Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos*”. *Oecologia brasiliensis*, v. 12, n. 3, p. 2, 2008.

GRINEVICIUS, V. M. A. de S.; *Avaliação da Remediação de Efluentes de Uma Indústria Têxtil Utilizando Bioindicadores e Biomarcadores*. 161f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

JESUS, T. B. de; CARVALHO, C. V. de. “*Utilização De Biomarcadores em Peixes como Ferramenta para Avaliação de Contaminação Ambiental por Mercúrio (Hg)*”. *Oecologia Australis*, [S.L.], v. 12, n. 04, p. 680-693, dez. 2008. *Oecologia Australis*. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2008.1204.07>.

MACEDA, E. B.; GRISOLIA, A. B.; VAINI, J. O.; CANDIDO, L. S. “*Uso de biomarcadores para monitoramento das águas do Córrego Arara no município de Rio Brilhante, MS, Brasil*”. *Rev. Ambient. Água* 10 (1), 2015. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1500>

MAGALHÃES, D. de P; FERRÃO FILHO, A. da S. “*A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos*”. *Oecol. Bras.*, v.12, n.3, p.355-381, 2008.

MOURA e MELLO, M.A.M. de, “*Avaliação da toxicidade de misturas: o uso de biomarcadores*”. 2010. Artigo em Hipertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/biomarcadores/index.htm. Acesso em: 2/11/2022.

NASCIMENTO, I. A.; PEREIRA, S. A.; LEITE, M. B. N. L. *Biomarcadores como instrumentos preventivos de poluição* (Capítulo 17). In: Zagatto, P. A. & Bertoletti, E. (eds). (Org). *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e aplicações*. 2ed. São Paulo: RIMA, vol. 1, p. 413-432, 2014

RADWAN, M. A., EL-GENDY, K. S., GAD, A. F., KHAMIS, A. E., & ESHRA, E. S. H. “*Ecotoxicological biomarkers as investigating tools to evaluate the impact of acrylamide on Theba pisana snails*”. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 14184-14193, 2019.

SALVO, L. M.; SANTIAGO, M. R ; ASSIS, H. C. S. De.; “*Biomarcadores Como Ferramenta na Avaliação da Qualidade Ambiental em Ecossistemas Aquáticos Suscetíveis à Contaminação Por Pesticidas*”. *Periódico Tchê Química*; 2018, Vol. 15 Issue 30, p56-64, 9p., 2008.

SILVA, A. C. de A. *Biomarcadores de Contaminação Ambiental*. 2016. 72 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2016.

VASCO, G., DULAC, V. F., PAIXÃO, M. A., & DE BRITO, D. O. “*Biomarcadores para Avaliação de alterações na qualidade ambiental de ambientes aquáticos*”.in Anais do 10º Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental. Porto Alegre, Out. 2016.

VIEIRA, D. B; SHIBATTA, O. A.; “*Peixes como indicadores da qualidade ambiental do ribeirão Esperança, município de Londrina, Paraná, Brasil*”. Biota Neotropica, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 57-65, 2007. FapUNIFESP (SciELO).<http://dx.doi.org/10.1590/s1676-06032007000100008>.