

Aspectos da ecotoxicidade em ambientes aquáticos

**Marcelo Pompêo
Viviane Moschini-Carlos
Julio César López-Doval
(Organizadores)**

**Instituto de Biociências – IB/USP
Universidade de São Paulo**

ISBN 978-65-88234-08-2

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP,
com os dados fornecidos pelos autores.

A838 Aspectos da ecotoxicidade em ambientes aquáticos / Organização :
Marcelo Pompêo, Viviane Moschini Carlos, Julio Cesar López
Doval. -- São Paulo : Instituto de Biociências, Universidade de
São Paulo, 2022.
274p. : il.

ISBN: 978-65-88234-08-2

1. Biologia. 2. Ecologia. 3. Ecotoxicologia. I. Pompêo, Marcelo.
II. Moschini-Carlos, III. López-Doval, J. C.

LC: QH 545

Elaboração: Elisabete da Cruz Neves. CRB-8/6228

Foto da capa: Do acervo de Marcelo Pompêo.

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e autoria. Proibindo qualquer uso para fins comerciais.

Aspectos da ecotoxicidade em ambientes aquáticos

**Marcelo Pompêo
Viviane Moschini-Carlos
Julio César López-Doval
(Organizadores)**

**Instituto de Biociências – IB/USP
Universidade de São Paulo**

São Paulo - 2022

PREFÁCIO

Os estudos da qualidade da água e do sedimento de lagos e reservatórios há tempos têm protocolos para a avaliação de suas qualidades, com base nas concentrações de oxigênio dissolvido, clorofila, nutrientes e metais, por exemplo. Ao longo do tempo também se tornou mais complexo avaliar a qualidade da água e do sedimento. Hoje é possível avaliá-las tendo como objetivo o alcance do 'bom estado ecológico', como definido pela Diretiva Quadro da Água, o sistema de gerenciamento de recursos hídricos europeu, que leva em consideração condições de referência. Também é possível discorrer sobre a qualidade da água tendo como pano de fundo os serviços ecossistêmicos ou com base no uso que se faz dessa água, rotineiramente utilizado no Brasil, através da Resolução CONAMA 357 de 2005.

Independente dessas abordagens, há que seguir alguns protocolos, quando o objetivo é avaliar a qualidade da água e do sedimento. Para tanto, é possível empregar uma abordagem individual, como pelo uso do IET - Índice do Estado Trófico, utilizando unicamente a concentração de clorofila *a*, o que permite inferir a qualidade em função do estado trófico, neste caso também podendo se valer de algoritmos aplicados às imagens de satélites. Também é possível integrar um conjunto de parâmetros, como ocorre no IQA - Índice de Qualidade da Água, muito utilizado no Brasil. O IQA é um cálculo ponderado da qualidade de água correspondentes aos parâmetros que integram o índice, como o pH, o nitrogênio total, a demanda bioquímica de oxigênio, entre outros. Também é possível discutir a qualidade com múltiplos olhares, com avaliações independentes empregando diversos índices e, posteriormente, integrado-os com base no peso das evidências de cada parâmetro individualmente.

Quando o objetivo é discutir a qualidade e a toxicidade potencial da água e do sedimento, além de determinar as concentrações dos metais, por exemplo, é importante analisar os compostos emergentes, mas muitas vezes não legislados. Deste modo, também há que desenvolver estudos com drogas ilícitas, remédios, hormônios, além dos microplásticos ou mesmo de cianotoxinas. As cianobactérias e as cianotoxinas, só no final do século 20 passaram a ser formalmente legisladas no Brasil, com a obrigatoriedade de determinar suas abundâncias e concentrações, respectivamente. No caso do microplástico, só mais recentemente ainda passou a ser estudado e a ser discutido a sua influência na contaminação e toxicidade ambiental, mas por ora não há legislação que determine o seu monitoramento.

Apesar de todas essas possibilidades, nem sempre é uma tarefa fácil discorrer com maior propriedade se dado manancial apresenta problemas de qualidade ou de toxicidade potencial à biota e aos usos que o homem faz dele. Para isso também é indicado aplicar testes de toxicidade (crônico e agudo).

Os testes ecotoxicológicos auxiliam a medir os efeitos de diferentes concentrações de substâncias e seus efeitos sobre os organismos testados. É muito aplicado no monitoramento ambiental e na avaliação da toxicidade potencial em ecossistemas aquáticos. Os testes têm a potencialidade de responder preditivamente à toxicidade de compostos químicos, sinalizando os potenciais efeitos ecotoxicológicos e seus mecanismos de ação em organismos vivos. Nos testes agudos o efeito observado é a letalidade ou algum outro tipo de comportamento, como a perda da capacidade natatória e alimentar, por exemplo. Também visa determinar a Concentração Letal Média (CL50) ou a Concentração Efetiva Média (CE50), a concentração que causa a morte ou outro tipo de comportamento em 50% dos organismos. Já nos testes crônicos os organismos são expostos às concentrações do composto testado, mas permitindo sua sobrevivência.

Este livro visa discutir alguns aspectos relacionados à ecotoxicidade potencial da água e do sedimento, principalmente, refletindo a experiência dos inúmeros especialistas que escreveram os capítulos. Surgiu das conversas com os alunos e colegas especialistas, mas também visa estimular novas contribuições ao tema e conscientizar as pessoas, pois muitas de nossas atitudes auxiliam a contribuir para a perda da qualidade e para o incremento da toxicidade potencial para a massa de água e o sedimento, o que devemos evitar, ou ao menos minimizar.

Marcelo Pompêo
São Paulo, 14 de março de 2022.

AGRADECIMENTOS

Os organizadores do livro são muito gratos aos órgãos de fomento, à FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, principalmente, que de modo direto ou indireto financiaram os inúmeros estudos nos reservatórios do Estado de São Paulo, em particular daqueles próximos da Região Metropolitana de São Paulo. Esses financiamentos permitiram manter toda estrutura laboratorial e de equipamentos para os trabalhos de campo e laboratório do grupo. Também facilitaram as visitas de intercâmbio no exterior, para a apresentação de trabalhos em eventos científicos e estadias de curta duração em renomados grupos de pesquisas, além de ter permitido receber parceiros internacionais, sempre discutindo e trabalhando com qualidade da água e do sedimento em reservatórios.

Agradecemos a todo o corpo de funcionários do Departamento de Ecologia, do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (USP), aos atuais e aos que já se desligaram, em especial à equipe de apoio aos trabalhos de campo e laboratório. Também às secretárias do Departamento e da Pós-Graduação em Ecologia por toda colaboração no desenvolvimento dos inúmeros trabalhos executados ou em execução pelos mestrandos e doutorandos, nestes últimos 20 anos.

Também somos gratos aos funcionários da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em especial do Instituto de Ciência e Tecnologia, do Campus de Sorocaba e ao curso de Pós-Graduação em Ciências Ambientais desse Campus, por todo apoio oferecido.

Todos esses funcionários técnicos-administrativos do Depto de Ecologia (USP) e do ICT, Campus de Sorocaba (UNESP), exercem com extrema dedicação suas funções, o que nos dá a necessária tranquilidade para executarmos as nossas atividades de ensino, pesquisa e extensão.

Somos gratos a todos que utilizaram parte de seu tempo na avaliação crítica dos capítulos, bem como somos gratos aos autores, pela presteza e dedicação demonstrados durante o período de preparação deste livro. Cada capítulo submetido passou por várias rodadas de leituras e os organizadores deste livro, além dos autores, foram os principais responsáveis pela leitura crítica dos capítulos recebidos.

Agradeço à Sra. Adriana Hypólito Nogueira, bibliotecária-chefe da Biblioteca do Instituto de Biociências da USP, por todo apoio, desde o início até a finalização desta obra.

A todos, que de alguma forma contribuíram com ideias e estímulos.

Financiamentos:

Fapesp (Processos):

2002/13376-4, 2006/51705-0, 2008/00784-3, 2009/16652-1, 2011/02952-3, 2012/11890-4, 2013/08272-0, 2014/22581-8, 2016/24528-2, 2016/05077-0, 2016/17266-1, 2019/10845-4, 2019/05924-2, 2020/11759-1, 2021/11283-0

CNPq (Processos):

471184/2006-3, 475166/2006-6, 552540/2006-4, 470443/2008-1, 471404/2010-1, 400305/2016-0, 301559/2018-0, 451151-4

SOBRE OS ORGANIZADORES DO LIVRO

Marcelo Luiz Martins Pompêo

Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de São Carlos, Mestre em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Doutor em Ciências da Engenharia Ambiental, ambos pela Universidade de São Paulo (Brasil). Com experiência em Limnologia, desenvolve pesquisas em ecossistemas aquáticos, com aspectos físicos e químicos, macrófitas aquáticas, fitoplâncton, zooplâncton, organismos bentônicos, qualidade da água, sedimento, ecotoxicidade, saúde ambiental e sensoriamento remoto aplicado à qualidade da água, principalmente em reservatórios empregados no abastecimento público. Tem experiências internacionais, em uma dezena de países, com pós-doutoramentos, estadias de curta duração, intercâmbio com diversos especialistas, participações em reuniões de trabalho, cursos ou congressos. Entre artigos científicos, livros, capítulos de livros e publicações de divulgação científica, tem cerca de 200 títulos publicados. No presente é bolsista de produtividade em pesquisa pelo CNPq.

Viviane Moschini-Carlos

Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de São Carlos. Mestre em Ecologia e Recursos Naturais e Doutora em Ciências - Área de Concentração: Limnologia pelo Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos (São Carlos, SP). Professora Associada da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho e Livre-Docente em Ecologia. Com Pós-doutorado no Brasil e no exterior, além de visitas técnicas no exterior (Universidade de Valência e Universidade de Sevilla, Espanha). Desenvolve pesquisas em Ecologia, com ênfase em ecologia de ecossistemas, limnologia, reservatórios, eutrofização, fitoplâncton, perifíton, cianobactérias e saúde ambiental. Em sua produção científica são listados cerca de 120 títulos (artigos científicos, livros, capítulos de livros e publicações de divulgação científica). No presente é bolsista de produtividade em pesquisa pelo CNPq.

Julio Cesar López-Doval

Graduado em Ciências Biológicas e doutor em Ecologia pela Universidade de Barcelona, Barcelona, Espanha. Especialista em ecologia e ecotoxicologia de sistemas aquáticos. Tem desenvolvido a sua pesquisa em diferentes âmbitos da ecologia, estudando os efeitos dos poluentes não regulados e praguicidas em organismos e ecossistemas aquáticos, além dos efeitos de outros estressores antrópicos. Tem trabalhado como pesquisador em diferentes centros de reconhecido valor, como a Universidade de São Paulo, no Brasil, e das cidades de Barcelona e Girona, Espanha. É autor e coautor de cerca de 40 artigos ou capítulos de livro, além de ter participado em congressos internacionais. No presente, trabalha para a consultora BAC Engineering Consultancy Group como especialista em ecologia aquática.

A diferença entre o remédio e o veneno está na dose

Paracelso

SUMÁRIO

Prefácio	I
Agradecimentos	ii
Sobre os organizadores do livro	iii
CAPÍTULO 1 Plásticos e microplásticos: poluição em reservatórios	1
CAPÍTULO 2 Bioindicadores para avaliação do impacto ambiental em ecossistemas aquáticos e os efeitos dos contaminantes sobre os organismos aquáticos	24
CAPÍTULO 3 Heterogeneidade espacial e ecotoxicidade de metais no sedimento em três reservatórios paulistas aplicando um enfoque geoestatístico	43
CAPÍTULO 4 Contaminantes emergentes em reservatórios: fármacos, desreguladores endócrinos e drogas ilícitas	58
CAPÍTULO 5 Microcistina – a toxina mais comum produzida por cianobactérias: aspectos gerais, biossíntese e toxicidade	71
CAPÍTULO 6 Physiological tools in teleosts for studies of anthropic impacts in reservoirs	84
CAPÍTULO 7 Biomarcadores no contexto de avaliação ambiental	102
CAPÍTULO 8 Utilizando o método “fingerprinting”: uma metodologia para identificar as fontes antrópicas em ecossistema aquático	114
CAPÍTULO 9 Ecotoxicologia de paisagem aplicada ao sedimento do reservatório Guarapiranga (São Paulo, Brasil)	127
CAPÍTULO 10 Poluentes emergentes: fontes, toxicidade e desafios	141
CAPÍTULO 11 Aspectos da ecotoxicologia de cianobactérias	164
CAPÍTULO 12 A ecotoxicologia como ferramenta na avaliação dos mananciais da Região Metropolitana de São Paulo	190
CAPÍTULO 13 O mercúrio na Amazônia brasileira: conjuntura e perspectivas de estudos	208
CAPÍTULO 14 Uso de organismos aquáticos nativos na avaliação ecotoxicológica	226
CAPÍTULO 15 Utilização e importância de microalgas em diferentes sistemas	248

CAPÍTULO 1

PLÁSTICOS E MICROPLÁSTICOS: POLUIÇÃO EM RESERVATÓRIOS

Bárbara Rani-Borges¹

Eduardo Vicente²

Marcelo Pompêo³

1- Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

2- Universidade de Valência, Departamento de Microbiologia e Ecologia, Faculdade de Biología, Valência, Valência, Espanha

3- Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Microplásticos não são novidade. Esses fragmentos são conhecidos de longa data, tanto da indústria química como do meio ambiente. Mas o que antes era invisível aos olhos, tem despertado preocupações ambientais e mobilizado a sociedade nos últimos anos de forma crescente, gerando debates cada vez mais frequentes sobre os possíveis impactos causados por este poluente. Este fenômeno é proporcional ao aumento da poluição e, conseqüentemente, da percepção global em torno da sua presença. Este capítulo fornecerá uma visão geral sobre o que são plásticos e microplásticos, suas características, fontes, processos degradativos, toxicidade e impactos em reservatórios, bem como melhores práticas para análises físicas e químicas desses fragmentos, limitações da pesquisa e perspectivas futuras sobre o tema.

PLÁSTICOS: BREVE CONTEXTO HISTÓRICO

Os polímeros, popularmente chamados plásticos, são compostos químicos formados por monômeros ligados entre si por ligações covalentes. Monômeros são unidades químicas iguais, que se repetem ao longo da cadeia polimérica, portanto é a composição dessas unidades que definem as propriedades físico-químicas do plástico (PAOLI, 2008). Os plásticos estão essencialmente presentes em tudo ao nosso redor, desde peças de roupas até na engenharia civil e automobilística, por exemplo. Hoje, não se pode negar que produtos plásticos são elementos que proporcionam qualidade de vida. Os plásticos estão presentes em indústrias de embalagens, automotivas, têxteis, eletrônicas, na agricultura, saúde, em materiais de uso doméstico, equipamentos de segurança, construção civil, e em muitos outros setores (WORM *et al.*, 2017).

Os primeiros plásticos começaram a ser produzidos por volta da década de 20, mas a produção e uso em larga escala só teve início 30 anos depois. Desde então, a sua produção e consumo cresce exponencialmente, ao mesmo tempo em que a tecnologia de materiais passa a ser capaz de manipular as propriedades físico-químicas do plástico, tornando-o um dos materiais mais versáteis do mundo e a sua aplicação cada vez mais difundida em áreas extremamente amplas e diversas (GEYER *et al.*, 2017).

Durante o processo de fabricação do plástico, o uso de aditivos tem sido um recurso bastante utilizado pela indústria à medida que existe a necessidade de alterar as propriedades originais do material para atender a aplicação específica a que se pretende. Sendo assim, as propriedades dos materiais plásticos são fundamentalmente vinculadas a sua estrutura química, interações intra e intermoleculares e configuração molecular, mas podem variar em função dos aditivos adicionados (KOLTZENBURG *et al.*, 2017).

Com tantas aplicações, praticidade e tamanha versatilidade, não se pode ignorar os benefícios proporcionados pelos plásticos, contudo, o seu uso também tem trazido consequências arrasadoras para a sociedade. Estima-se que em 2018 a produção de plásticos mundial tenha alcançado a marca de 359 milhões de toneladas (PLASTICSEUROPE, 2019) e que entre os anos de 1950 e 2015, 6.300 milhões de toneladas de resíduos plásticos tenham sido acumulados em aterros sanitários e, inadequadamente, no ambiente (GEYER *et al.*, 2017). Esse número é verdadeiramente alarmante, visto que as previsões são de que a produção continue aumentando cada vez mais. É importante conscientizar o consumidor, para que após o uso, não assuma postura de irresponsabilidade sobre o resíduo produzido e, portanto, não calcule os prejuízos que estes podem vir a trazer quando não tratados corretamente, seja para saúde pública tanto como para ao meio ambiente, que se vê ameaçado de maneira mais direta e imediata (Figs. 1 e 2).

Uma das características elementares dos polímeros refere-se a sua resistência, e é devido a esta condição que a poluição plástica tomou proporções tão grandes. Após o descarte, os resíduos percorrem longos e diferentes caminhos e terminam por poluir, principalmente, corpos d'água, sobretudo águas superficiais e marinhas (HORTON; DIXON, 2017). No ambiente, sob condições adversas e variadas, os plásticos sofrem degradação e/ou quebra, processos esses que dão origem aos chamados microplásticos (BACKHAUS; WAGNER, 2018). Devido ao tamanho reduzido, esses fragmentos microplásticos conseguem se difundir e contaminar uma vasta gama de ambientes e organismos, trazendo riscos para a integridade ecológica tanto local como geral.

PRINCIPAIS MATRIZES POLIMÉRICAS

Os plásticos podem ser divididos em quatro categorias principais de acordo com suas propriedades químicas e com o tipo de processamento ao qual é submetido, como: *termoplásticos*, aqueles que possuem capacidade de amolecer quando submetidos a determinadas condições de temperatura e pressão (sofrem transformação física reversível); *elastômeros*, possuem propriedades de extensibilidade e de recuperação elástica, ou seja, quando aplicado esforço sobre o polímero, este suporta deformação de pelo menos duas vezes o seu comprimento, e após a remoção do esforço o material recupera a forma original e não apresenta deformidades; *termofixos*, estes, quando aquecidos sofrem transformação química irreversível, tornando-se extremamente rígidos e não sendo possível passar pelo mesmo processo novamente; e

polímeros compostos formados por mais de um tipo de monômero (CANEVAROLO, 2002; MADDAH, 2016).

Atualmente, existem centenas de tipos de plásticos diferentes disponíveis no mercado, sendo que, segundo levantamento de dados de 2015, mais de 95% da produção global corresponde a apenas 6 grupos de polímeros, são eles: polietileno, polipropileno, poliestireno, policloreto de vinila, politereftalato de etileno e poliuretano (GEYER *et al.*, 2017). A seguir apresenta-se uma breve descrição desses grupos.



Figura 1: Inúmeros utensílios plásticos descartados às margens do reservatório Guarapiranga (SP).



Figura 2: Animais convivendo com utensílios plásticos às margens do reservatório Guarapiranga (SP)

POLIETILENO

O polietileno (PE) é um polímero classificado como termoplástico, cujas propriedades conferem boa flexibilidade. É um polímero com alta hidrofobicidade e não biodegradável naturalmente (resistente ao ataque microbiano), sendo necessários pré-tratamentos como: luz, calor ou exposição a produtos químicos

(SHAH *et al.*, 2008). Em condições normais, os polímeros etilênicos não apresentam toxicidade, portanto, seu uso pode ser empregado no contato direto com produtos alimentícios e farmacêuticos (COUTINHO *et al.*, 2003). Apresenta boa aparência, funciona como isolante elétrico e térmico, resistência ao impacto e baixo custo, o que possibilita sua aplicação em diferentes áreas e variados produtos (SPINACÉ; PAOLI, 2005) (Fig. 3). Existem diversos tipos de polietileno, por este motivo, esse polímero pode ser ainda classificado de acordo com a sua densidade, que pode variar entre baixa, média e alta, e com as características moleculares, em linear ou não linear (KOLTZENBURG *et al.*, 2017).



Figura 3: Materiais e produtos compostos por polietileno (PE).
Fonte: Banco de imagens PNG EGG (www.pngegg.com)

POLIPROPILENO

Polipropileno (PP) é uma resina termoplástica, sintética não biodegradável produzida a partir do monômero propileno, que é um subproduto da refinação do petróleo. Este polímero é rígido e de excelente resistência mecânica e química, além ser um material de baixo custo. Suas propriedades permitem grande aplicação na indústria, onde este material aparece em recipientes para embalagem, material hospitalar, peças de automóveis, carcaças de eletrodomésticos e brinquedos (MADDAH, 2016) (Fig. 4). Este polímero também possui limitações para sua aplicação, já que é suscetível a ação de luz ultravioleta, a agentes oxidantes e à temperatura. Apesar dessas limitações, ainda é economicamente viável modificar suas propriedades através de adição de aditivos e da produção de copolímeros de polipropileno-etileno, PP-co-PE (CHEN *et al.*, 2007; RANI-BORGES *et al.*, 2016).



Figura 4: Materiais e produtos compostos por polipropileno (PP).
Fonte: Banco de imagens PNG EGG (www.pngegg.com)

POLIESTIRENO

Poliestireno (PS) é um termoplástico rígido, duro, transparente, com boas propriedades mecânicas, apresenta facilidade de processamento e baixo custo. O PS pode ser encontrado com propriedades e aplicações bastante diversas na indústria, as formas mais comuns são poliestireno de uso geral (GPPS), poliestireno expandido (EPS), conhecido como isopor, e poliestireno de alto impacto (HIPS) (CANEVAROLO, 2002). Pode ser facilmente encontrado em peças de uso único, como copos, pratos e talheres, bem como em peças internas de geladeira, placas para box de banheiro, e em diversas outras utilidades domésticas (Fig. 5).



Figura 5: Materiais e produtos compostos por poliestireno (PS).
Fonte: Banco de imagens PNG EGG (www.pngegg.com)

POLICLORETO DE VINILA

O policloreto de vinila (PVC), devido a sua alta capacidade de incorporar diversos aditivos, torna-se o mais versátil dentre todos os polímeros, sendo possível obter produtos com grande variabilidade de características físicas e químicas. Apresenta boas propriedades mecânicas, resistência a ação microbiana, bom isolamento térmico, elétrico e acústico, impermeabilidade à gases e líquidos, durabilidade, e pode ser produzido rígido ou flexível (RODOLFO *et al.*, 2006). Tais atributos permitem o seu uso em diversos setores. Hoje, o PVC é o terceiro termoplástico mais produzido no mundo e devido as suas propriedades tem aplicação especialmente apreciada no setor de construção, onde 69% de todo o PVC produzido é empregado (GEYER *et al.*, 2017) (Fig. 6).



Figura 6: Materiais e produtos compostos por policloreto de vinila (PVC).
Fonte: Banco de imagens PNG EGG (www.pngegg.com)

POLITEREFTALATO DE ETILENO

O politereftalato de etileno (PET) é um polímero de baixo custo, que está disponível para ser fabricado com duas estruturas químicas diferentes, a depender do alinhamento das moléculas poliméricas, as quais conferem propriedades específicas a cada um deles. O PET cristalino pode ser encontrado com resistência média, alta rigidez e dureza, e resistência ao impacto relativamente baixa, este é aplicado em áreas de engenharia mecânica e elétrica, além de acessórios para móveis, botões e zíperes. O PET amorfo apresenta boas propriedades de barreira ao oxigênio e ao dióxido de carbono, por este motivo é amplamente utilizado no setor de embalagens, principalmente, como garrafas de refrigerante, mas também pode ser usado para outras finalidades, como por exemplo para fabricação de fitas adesivas (KOLTZENBURG *et al.*, 2017) (Fig. 7).



Figura 7: Materiais e produtos compostos por politereftalato de etileno (PET).
Fonte: Banco de imagens PNG EGG (www.pngegg.com)

POLIURETANO

O poliuretano (PU) é um polímero de ampla aplicabilidade, a depender da organização estrutural e da adição de aditivos, pode ser comercializado na forma de termoplástico, termofixo, elastômero ou fibra, na forma expandida ou não. Em razão dessa particularidade do PU, ele pode se apresentar na forma rígida ou flexível, leve, com resistência à abrasão, a químicos e à oxidação e com propriedades elásticas (CANEVAROLO, 2002) (Fig. 8).

Considerando os índices de produção e, conseqüentemente descarte desses materiais, os PU são os polímeros mais presentes no ambiente, portanto são os mais relevantes para estudos de toxicidade ambiental. Mais à frente, são apontados estudos de toxicidade realizados até o momento e as diferentes respostas de organismos a cada um desses polímeros.



Figura 8: Materiais e produtos compostos por poliuretano (PU).
Fonte: Banco de imagens PNG EGG (www.pngegg.com)

ADITIVOS

Aditivos são compostos químicos utilizados com o objetivo de modificar as características originais dos plásticos, como rigidez/flexibilidade, cor, resistência térmica e mecânica (RIOS-MENDOZA *et al.*, 2017). Esta estratégia é largamente praticada pela indústria petroquímica, visto que não demanda altos investimentos e é uma solução extremamente lucrativa, já que garante melhor aplicabilidade dos polímeros. Contudo, a adição de aditivos apresenta um custo bastante elevado do ponto de vista ecológico, uma vez que essas substâncias são, em sua grande maioria, tóxicas para organismos quando liberadas no ambiente. Em média, um produto plástico comercial é composto por 93% de resina polimérica e 7% de aditivos (GEYER *et al.*, 2017).

Dentre os aditivos mais utilizados estão os plastificantes, retardantes de chama, estabilizadores de calor, enchimentos, modificadores de impacto, antioxidantes, corantes, lubrificantes e estabilizadores de luz (GEYER *et al.*, 2017; HAHLADAKIS *et al.*, 2018). Alguns dos principais aditivos são os ftalatos, bisfenol-A (BPA) e éteres difenilicos polibromados (PBDEs) (LITHNER *et al.*, 2011). Os ftalatos são plastificantes empregados para amolecer o plástico, principalmente PVC; o BPA é usado como monômero em policarbonato e em resinas epóxi, também sendo utilizado como antioxidante em alguns plásticos e os retardantes de chama bromados, família a qual os PBDEs pertencem, são usados para reduzir a inflamabilidade do material, todos esses compostos são potenciais disruptores endócrinos, mesmo em baixas concentrações (HERMABESSIERE *et al.*, 2017; OEHLMANN *et al.*, 2009) (ver no Capítulo 4 sobre os mecanismos de ação e os problemas relacionados à presença de disruptores endócrinos em ecossistemas aquáticos).

Segundo Lithner *et al.* (2011), os plásticos podem ser classificados em 5 níveis de toxicidade e por um sistema de pontuação, de acordo com a quantidade e tipo de aditivos presentes em sua matriz. Levando em consideração esse ranqueamento de toxicidade, os polímeros mais tóxicos, com nível V e pontuação acima de 10.000, são PAN (poliacrilonitrila) > PU > ABS (Acrlonitrila butadieno estireno) > Epóxi > PVC.

Os aditivos são considerados um dos principais problemas relacionados aos microplásticos, já que a estrutura polimérica em si é considerada inerte, enquanto que compostos químicos adicionados são capazes de se acumular em alguns tecidos e provocar efeitos biológicos danosos a biota (LITHNER *et al.*, 2011; ROCHMAN *et al.*, 2019; WORM *et al.*, 2017). Além disso, estudos sugerem que impactos dos aditivos são ainda mais acentuados em organismos quando estão associados à microplásticos, em comparação com períodos de exposição isolados (PLANELLÓ *et al.*, 2008; WARDROP *et al.*, 2016). O que provoca preocupação ainda maior para esta questão.

Os aditivos adicionados durante o processo de fabricação dos plásticos, além da quebra do polímero propriamente dita, são liberados no ambiente por diversas vias, incluindo através de efluentes industriais (HERMABESSIERE *et al.*, 2017). Enquanto leis voltadas para a saúde pública proíbem que aditivos com potencial tóxico sejam empregados em utensílios médicos e alimentícios (KOLTZENBURG *et al.*, 2017), o processo de degradação traz à tona uma grave falha nestas normas, já que volumes alarmantes de resíduos plásticos são frequentemente dispostos sem qualquer tratamento no ambiente. Assim, resíduos previamente enriquecidos com aditivos tóxicos, acabam em grandes quantidades em corpos d'água, como reservatórios, onde estão se degradando lentamente e liberando aditivos na águas (CHUA *et al.*, 2014; GAYLOR *et al.*, 2013) que poderão ser direcionadas ao abastecimento público.

PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO E FRAGMENTAÇÃO DO PLÁSTICO

Degradação é todo processo capaz de provocar alterações estruturais irreversíveis na cadeia polimérica, causando perda das propriedades fundamentais, através da quebra de ligações e formação de novas ligações, ocasionando a fragmentação do material (CANEVAROLO, 2002). O plástico convencional é considerado resistente a processos degradativos, isso ocorre em virtude da sua composição de resina sintética originada do petróleo, que forma cadeias carbônicas difíceis de sofrer cisões. O processo de degradação é, geralmente, lento, irregular e depende da influência de inúmeros fatores, como condições ambientais, particularidades do material em questão, como área de superfície e morfologia, e das condições de uso do artefato (CELESTINE *et al.*, 2020).

O processo de degradação pode ser classificado como biótico ou abiótico, os quais são desencadeados sob condições diferentes, e apresentam mecanismos igualmente distintos que levam a fins variados (PAOLI, 2008). O processo também pode ser dividido em: degradação física, biológica, química ou fotodegradação, de acordo com os principais fatores que provocam o início do processo de quebra de ligações químicas (KLEIN *et al.*, 2017).

Independente da via de degradação, a primeira etapa do processo será essencialmente o mesmo: o rompimento de uma ligação química covalente que vai gerar espécies reativas, as quais serão responsáveis pela propagação do processo por toda a matriz polimérica (PAOLI, 2008). Dentre os processos degradativos que ocorrem no meio ambiente os mais comuns são iniciados pela exposição a luz e/ou radiação ultravioleta, oxigênio, água (hidrólise), variação de temperatura ou exposição a temperaturas extremas, umidade, pH, estresse mecânico ou forças abrasivas (as quais podem ser naturais ou não) e biodegradação, a qual ocorre na presença de diversas espécies de bactérias, fungos e algas (KLEIN *et al.*, 2017; KOLTZENBURG *et al.*, 2017; WORM *et al.*, 2017).

Independente da via de origem, quando produtos plásticos grandes não recebem o destino e tratamento corretos, os microplásticos acabam por se instalar em diferentes matrizes ambientais.

MICROPLÁSTICOS

DEFINIÇÃO

Para definir se a partícula é um microplástico, o seu material deve ser de origem polimérica, geralmente sintética, seguido do seu tamanho, que deve variar entre 0,1 μm e 5 mm de diâmetro (HORTON; DIXON, 2017). Assim, microplásticos são todos os fragmentos de plástico dentro do limite de tamanho citado, podendo ainda ser classificados como microplásticos pequenos, com tamanho entre 0,1 μm e 1 mm, e microplásticos grandes, entre 1 e 5 mm (ERIKSEN *et al.*, 2014; HANVEY *et al.*, 2017).

Na Fig. 9 são apresentadas fotografias em diferentes escalas, de microplástico comercial triturado de tamanhos entre 25 a 40 μm .

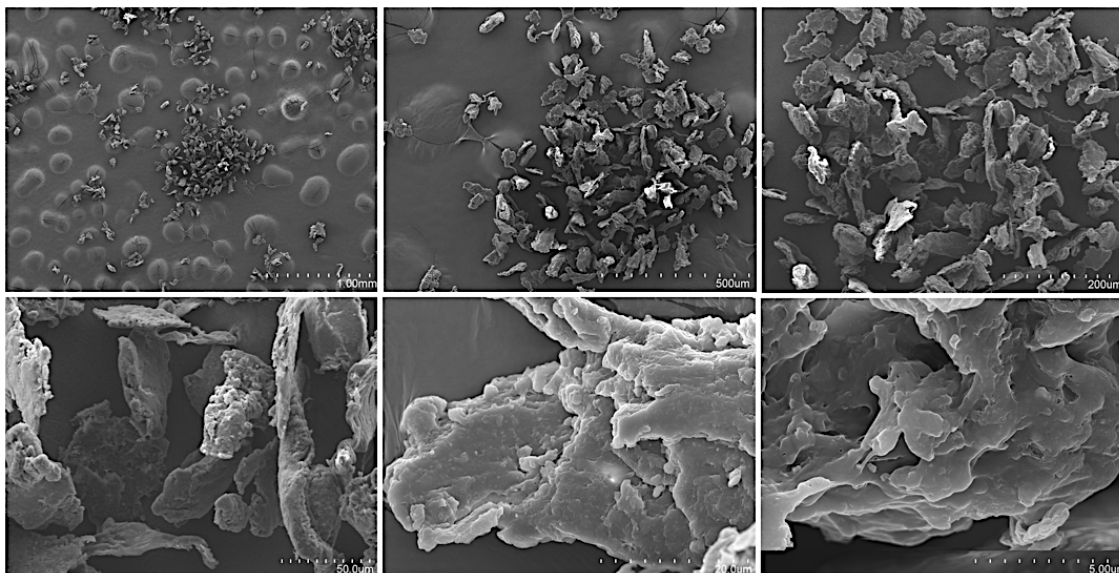


Figura 9: Fotografias em microscopia eletrônica de microplásticos de 25 a 40 μm . Os plásticos comerciais (primários) foram inicialmente triturados e passados em peneiras, separando-os por categorias de tamanho para, em seguida, serem aplicados em estudos ecotoxicológicos (SME da Universidade de Valencia, Campus de Burjasot, Espanha).

Os microplásticos podem ser classificados de acordo com várias das suas características físicas e químicas, como tipo de polímero, cor e formato do fragmento, mas uma das classificações mais utilizadas refere-se a sua via de origem, dividindo-os em microplásticos primários e secundários (COLE *et al.*, 2011). Microplásticos primários são aqueles fabricados industrialmente em tamanhos de até 5 mm para um fim específico, ou seja, são partículas que existem como resultado da sua liberação direta e que acabam no ambiente através de sistemas de tratamento de esgoto, aterros sanitários ou pela deposição de resíduos sólidos em locais inapropriados. Enquanto que, os secundários ocorrem como resultado de processos de fragmentação ou quebra de materiais plásticos maiores, em função de diversos fatores, como radiação ultravioleta, ação dos ventos e mares, atrito e temperatura (WAGNER; LAMBERT, 2017).

Todas as classificações citadas, referem-se a características capazes de conferir níveis de toxicidade ambiental bastante distintos, o que torna este poluente extremamente diverso e complexo. Estudos sistemáticos com análises minuciosas considerando cada um dos fatores que possam vir a influenciar ou interferir no processo de interação com a biota, são necessários para alcançar um nível de compreensão mais amplo e acurado que permita estabelecer modelos capazes de prever o comportamento e calcular os riscos oferecidos por microplásticos ao ambiente.

MORFOLOGIA DOS MICROPLÁSTICOS

Conforme mostrado até aqui, os plásticos são conhecidos pela sua vasta aplicabilidade industrial e comercial, podendo ser encontrados em uma enorme gama de produtos e materiais com inúmeras propriedades e características finais. Não por menos, os microplásticos, que em sua grande maioria originam-se do processo degradativo de plásticos maiores vindos de diferentes fontes poluidoras, também podem ser encontrados com diferentes formatos. Assim, os microplásticos podem ser classificados de acordo com a sua morfologia em: fibras, esferas, fragmentos e filmes (HORTON, 2017; JACOB *et al.*, 2020). Ver na Figura 10 as principais classificações dos microplásticos.

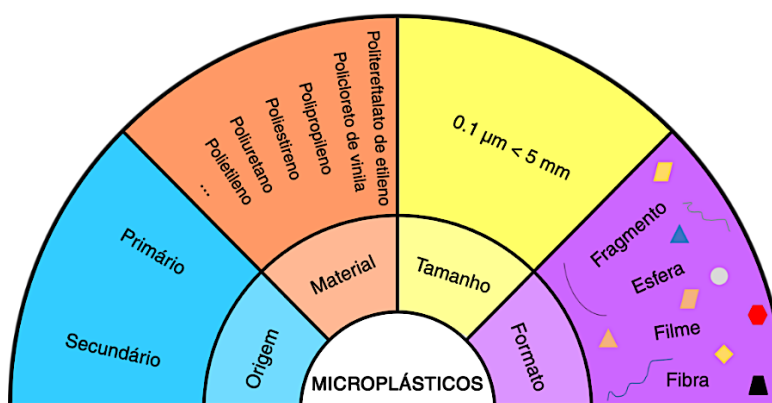


Figura 10: Classificações mais comuns de microplásticos: origem, material, tamanho e formato.

Os diferentes formatos de microplásticos são capazes de produzir respostas variadas nos organismos expostos, já que as características intrínsecas a cada tipo estabelecem uma interação diferente com os organismos (WRIGHT *et al.*, 2013), podendo ser absorvidos, ficar aderidos à membrana externa ou, inclusive, servir como superfície para o crescimento de microrganismos, por exemplo. Além disso, a distribuição espacial e os processos de bioacumulação e biomagnificação são diretamente influenciados pelas características morfológicas dos fragmentos (AUTA *et al.*, 2016).

Os microplásticos em formato de fibra, talvez aqueles presentes em maior quantidade no ambiente, se desprendem, principalmente, de roupas de tecidos sintéticos durante o processo de lavagem (THOMPSON *et al.*, 2004; BROWNE *et al.*, 2007), que pode ser intensificado durante os ciclos com água quente. Esses microplásticos apresentam comportamento bastante singular, podendo causar estrangulamento e emaranhamento no estômago de invertebrados.

Já esferas e fragmentos rígidos, podem ser ingeridos ou inalados por organismos, sendo capazes de atravessar barreiras imunológicas e afetar órgãos e tecidos e até mesmo a funcionalidade da célula, ocasionando ainda efeitos tóxicos ou letais (RAFIEE *et al.*, 2018). As esferas são, geralmente, oriundas de liberação direta, ou seja, são microplásticos primários, mas em alguns casos, podem se originar em decorrência da quebra de plásticos maiores. Quanto aos microplásticos primários, estes são encontrados originalmente em produtos cosméticos, como esfoliantes, pastas de dente, itens de maquiagem e como dispositivo para liberação de fármacos em medicamentos (BROWNE *et al.*, 2007).

Ambos os fragmentos rígidos e os filmes, possuem bordas irregulares e são predominantemente microplásticos secundários. Enquanto que o primeiro pode ser encontrado com formas bastante variadas e pigmentadas, os filmes são películas plásticas finas e frágeis (FREE *et al.*, 2014), e em sua maioria são translúcidos ou de coloração amarronzada, por conta da exposição ambiental.

QUAL O PROBLEMA?

Os plásticos enquanto compostos químicos estáveis e não reagentes, não seriam um transtorno significativo caso tivessem seu uso empregado com ponderação e, principalmente, se recebessem o descarte e tratamento correto após seu uso. Entretanto, nenhuma dessas situações corresponde à realidade observada, principalmente no que diz respeito ao fim habitual da maioria desses materiais. Segundo dados levantados entre os anos de 1950 e 2014 (GEYER *et al.*, 2017), somente 9% de todo plástico produzido no mundo até hoje foi reciclado e 12% foi incinerado, o que corresponde dizer que apenas uma parcela muito pequena de plásticos não foi introduzida no ambiente em sua forma original. Segundo dados de 2019 da organização não governamental WWF (World Wide Fund for Nature), o Brasil recicla cerca de 1,28% dos plásticos produzido no país, estimativa muito inferior à média mundial.

Os diversos tratamentos de resíduos disponíveis, quando executados por sistemas de gestão integrados e amparados por normas e fiscalizações adequadas, são capazes de oferecer benefícios ambientais, mas mesmo as mais novas tecnologias não estão isentas de riscos para a integridade ecológica (PROAG; PROAG, 2014). E em se tratando de microplásticos, não é diferente, por isso é fundamental desmistificar a ideia de que o gerenciamento de resíduos é capaz de impedir por completo o transporte e depósito desse poluente nas matrizes ambientais, apesar de este ainda ser o melhor recurso disponível no momento.

São muitas as vias de origem e transporte dos microplásticos, incluindo partículas provenientes da poluição direta, do lixiviado de aterros sanitários, do processo de reciclagem e de águas residuárias. Em todos os casos, os fragmentos seguem em direção à corpos d'água, sejam superficiais ou profundas (CARR *et al.*, 2016; HORTON; DIXON, 2017). Assim, o destino intermediário ou final dos microplásticos é, muitas vezes, os rios, lagos, reservatórios e oceanos, onde se acumulam e interagem com o meio, implicando em alterações na qualidade da água e do sedimento e perturbando a biota.

A ameaça dos plásticos é proporcional a sua quantidade presente no ambiente e, portanto, a ameaça seria menor conforme o uso de polímeros também fosse reduzido. Ponderando esta ideia, adotou-se um método conceitual para conscientização da população sobre a ordem hierárquica dos resíduos, que se obedecida, os objetivos ambientais poderiam ser alcançados. A hierarquia dos resíduos, inicialmente conhecida como lei dos “três Rs”, corresponde às ações de reduzir, reutilizar e reciclar. Hoje, os três Rs foram ampliados e compreende mais três novos elementos: recusar, recuperar (energeticamente), e resto, este último componente se refere aos materiais sem possibilidade de destino alternativo, a não ser a sua disposição final em aterros (HOORNWEG; BHADA-TATA, 2012) (Fig. 11). Os Rs têm como um dos seus propósitos principais o de reduzir a produção de novos plásticos.

Atitudes diárias individuais somente são factíveis em comunidades que possuem forte estrutura voltada à educação ambiental e infraestrutura de reciclagem do tamanho certo. À vista disso, a problemática dos plásticos e microplásticos só será devidamente debatida quando incorporada pelo setor público, que deve propor diretrizes para nortear a gestão ambiental e novos modelos de negócios, além de incentivar e garantir a participação da população.

MICROPLÁSTICOS: UMA AMEAÇA PARA RESERVATÓRIOS?

Os dados relativos aos microplásticos em ambientes de água doce são bastante escassos e ainda existem muitos questionamentos e controvérsias sobre os mecanismos de ação que podem levar esse contaminante a causar prejuízos ao ambiente e, principalmente, à saúde humana. Mas hoje, já se sabe que a presença dessas partículas pode comprometer a qualidade da água e do sedimento, através do carreamento de diversos contaminantes biológicos e químicos adsorvidos à sua superfície, além da liberação de aditivos presentes na matriz polimérica (JAHNKE *et al.*, 2017).

A água tem um papel substancial para a manutenção de ecossistemas e biomas, e a má qualidade da água pode provocar danos significativos à saúde dos consumidores, além da perda da heterogeneidade biológica local (JOHNSTON *et al.*, 2011; VÖRÖSMARTY *et al.*, 2010). Diante da importância dos reservatórios para a manutenção da biodiversidade e dos serviços ambientais por eles providos, esses ambientes assumem notória posição de destaque para o estudo sobre os perigos da exposição aos microplásticos, já que são ambientes vulneráveis ao surgimento de contaminantes emergentes.

Os reservatórios apresentam dinâmica favorável ao acúmulo de detritos plásticos, em razão da diminuição na taxa de fluxo e interceptação de barragens (ZHANG *et al.*, 2018), o que faz com que as concentrações de microplásticos sejam mais elevadas em reservatórios do que em rios (ZHANG *et al.*, 2015). Quando os microplásticos alcançam os reservatórios, após seguir o curso dos rios, apresentam tendência em se depositar em maior quantidade no sedimento por conta da sua densidade e da baixa velocidade da água (WATKINS *et al.*, 2019), mas uma parte ainda pode ser encontrada nas colunas d'água, já que existem fragmentos com propriedades distintas.

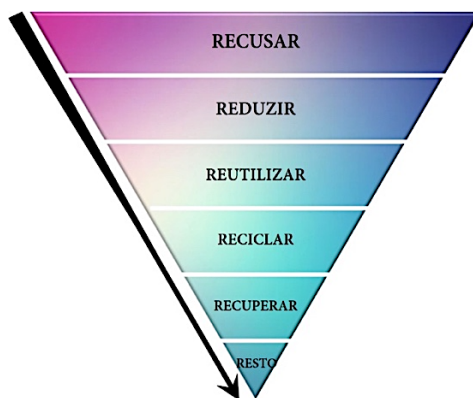


Figura 11: A hierarquia dos resíduos.

Existem poucos dados sobre a quantificação de microplásticos em reservatórios, o que impede uma melhor compreensão do cenário. Segundo Watkins *et al.* (2019) observaram em reservatórios localizados na região de Nova Iorque (Estados Unidos), a concentração de fragmentos nas águas superficiais de reservatórios (5,5 partículas/L) eram significativamente mais baixas do que no restante da bacia hidrográfica, o que é de se esperar, enquanto que o sedimento dos reservatórios apresentou concentrações mais elevadas (76.61 partículas/L). O mesmo padrão foi observado por Mani *et al.*, (2015), Zhang *et al.*, (2015) e Zhang *et al.*, (2017), em reservatórios na Alemanha e na China, respectivamente.

No ambiente, os fragmentos apresentam capacidade de sorção de vários compostos tóxicos, como metais e poluentes orgânicos persistentes (POPs) (ROCHMAN *et al.*, 2019), servindo como verdadeiros transportadores de contaminantes (vetores químicos) (BAKIR *et al.*, 2016). Diversos estudos constataram que micropartículas plásticas podem adsorver compostos organoclorados (pesticidas e PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PHAs), bem como bioacumular esses compostos e em alguns casos transferi-los pela cadeia trófica (HIRAI *et al.*, 2011; ROCHMAN *et al.*, 2013; ROCHMAN *et al.*, 2014; TANAKA *et al.*, 2015; TURNER; HOLMES, 2015).

O processo de sorção de contaminantes tóxicos pode ocorrer através de adsorção física, um processo reversível, ou química, que se dá através da formação de novas ligações covalentes, portanto, são ligações mais difíceis de se quebrar. Assim como as condições do meio são fundamentais para o estabelecimento desses processos, o meio também pode influenciar no processo reverso, já que determinadas condições ambientais propiciam a contínua quebra dos microplásticos e, conseqüentemente, ocorre a liberação dos compostos a eles ligados, diretamente na água e no sedimento ou em organismos (WAGNER; LAMBERT, 2017).

Os microplásticos também podem se comportar como vetores biológicos, já que a matriz polimérica apresenta composição química que pode servir de substrato e superfície favorável para o crescimento e/ou manutenção de diversos microrganismos, como bactérias, fungos e microalgas (CANNIFF; HOANG, 2018; KIRSTEIN *et al.*, 2016; SONG *et al.*, 2020; YOKOTA *et al.*, 2017; ZETTLER *et al.*, 2013). Enquanto que o ataque biológico de algumas bactérias e fungos são capazes de promover a mineralização do polímero, ou seja, a biodegradação, (PAOLI, 2008), o grande problema relacionado a este evento está relacionado a colonização e transporte de microrganismos patológicos.

Microplásticos, colonizados por microrganismos patológicos ou não, podem percorrer longas distâncias (KIRSTEIN *et al.*, 2016) e, devido ao seu tamanho reduzido, podem representar uma grande ameaça à água utilizada em reservatórios, principalmente aqueles para abastecimento e consumo humano, já que as estações de tratamento não possuem tecnologia necessária para removê-los antes entrar na rede de distribuição. Assim, a água que chega até os domicílios, pode estar contaminada com microplásticos enriquecidos com contaminantes biológicos, além de metais e diversos poluentes orgânicos que podem provocar sérios danos à saúde humana e ao ambiente.

EVIDÊNCIAS ATRAVÉS DE ENSAIOS TOXICOLÓGICOS

Hoje, devido à falta de evidências, ainda existe uma grande incerteza e debates constantes entorno da toxicidade que microplásticos podem oferecer à saúde pública (WARDMAN *et al.*, 2020). Um dos primeiros estudos com órgãos humanos, demonstrou a presença de fragmentos plásticos no cólon de adultos, mas o estudo não foi capaz de comprovar que a presença dessas partículas pudesse induzir efeitos tóxicos (IBRAHIM *et al.*, 2020). Até que estudos conclusivos em humanos sejam disponibilizados, a comunidade científica tem focado em organismos de diversas matrizes ambientais, já tendo sido relatada a presença de microplásticos em órgãos e tecidos de diversos grupos animais. Assim, estudos ambientais têm sido utilizados de forma se a obter resultados suficientes para prever ou calcular prejuízos futuros.

Em ecossistemas de água doce, como reservatórios, a ferramenta mais utilizada para medir o impacto biológico pela exposição ao microplástico e na cadeia alimentar são os ensaios toxicológicos. Durante a realização dos ensaios desenvolvidos em laboratório e em condições controladas, diversas espécies de organismos são expostas a diferentes concentração e tipos de fragmentos. Parâmetros previamente definidos são analisados e as respostas e alterações observadas são contabilizadas e avaliadas de forma qualitativa e/ou quantitativa.

Ensaio com organismos relevantes para avaliar a qualidade de reservatórios no Brasil envolve o estudo de classes diferentes da cadeia trófica, indo de microalgas até peixes. Considerando que quaisquer efeitos tóxicos em potencial sobre microalgas podem acarretar em danos a organismos de nível trófico superior, a influência de microplásticos nas algas merece atenção redobrada (WAN *et al.*, 2018). Apesar de escassas as pesquisas com microalgas de água doce, estudos apontam resultados preocupantes, com inibição de crescimento e da atividade fotossintética (LAGARDE *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2020b; MAO *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2020).

Bioensaios com o microcrustáceo *Daphnia magna* são de grande relevância como indicador de alerta a este contaminante, já que funcionam como um elo entre produtores primários e os consumidores finais (EERKES-MEDRANO *et al.*, 2015; IMHOF *et al.*, 2017). Zimmermann *et al.*, (2020) fizeram estudo com *D. magna*, onde testou-se a exposição de neonatos a microplásticos de PVC, PU e PLA (Poliácido láctico, um polímero de fontes renováveis), de origem primária e formato irregular, $\leq 59 \mu\text{m}$ em diferentes concentrações. O PVC teve o maior efeito na reprodução, o PLA reduziu a sobrevivência de forma mais

eficaz. O último indica que os plásticos de base biológica e biodegradáveis podem ser tão tóxicos quanto seus equivalentes convencionais. O estudo concluiu que os efeitos do PVC são impulsionados pela toxicidade química, enquanto a toxicidade física domina para os microplásticos PU e PLA. Como os microplásticos de PVC ainda eram mais tóxicos do que as partículas de PU e PLA, os produtos químicos, aditivos, parecem ter um impacto maior do que as propriedades físicas na toxicidade dos fragmentos.

Testes com outros invertebrados, como *Ceriodaphnia dubia* (ZIAJAHROMI *et al.*, 2017) e *Hyalella azteca* (AU *et al.*, 2015), mostraram que micropartículas plásticas são capazes de provocar efeitos tóxicos a esses organismos. Em um levantamento realizado sobre estudos realizados com peixes, com posição mais alta na cadeia alimentar, demonstrou que os fragmentos podem afetar o comportamento, as funções neurológicas, a permeabilidade intestinal e o metabolismo dos peixes, por exemplo (JACOB *et al.*, 2020).

Efeitos de neurotoxicidade, cardiotoxicidade, efeitos teratogênicos e morfotoxicidade externa foram analisados em embriões de peixe-zebra (*Danio rerio*) expostos a diferentes concentrações de microplásticos (MALAFAIA *et al.*, 2020). Neste estudo, os autores utilizaram microplásticos de PE com diâmetro médio de 38 µm e testaram concentrações diferentes: 6,2, 12,5, 25,0, 50,0 e 100 mg/L por 144 horas. Ao final do estudo, ficou comprovado que os microplásticos são capazes de induzir efeitos nocivos ao desenvolvimento de embriões e larvas de *D. rerio*, mesmo em baixas concentrações e em curto período de exposição. Os autores apontam que a magnitude da toxicidade depende do sistema de exposição adotado (estático ou semiestático), e em ambos os sistemas de exposição, foram observados efeitos negativos na taxa de eclosão de embriões. A adesão de fragmentos à membrana coriônica também foi relatada e considerada como um indutor de hipóxia e de alterações fisiológicas nos organismos testados.

Outro grupo de animais que tem recebido certa atenção para elucidar possíveis vias tóxicas de microplásticos são anfíbios. Pesquisas recentes com girinos da espécie *Physalaemus cuvieri*, mostraram que os fragmentos podem ser absorvidos e/ou ingeridos pelos girinos e, acabam acumulados internamente, o que resulta em aumento de biomassa e diminuição da atividade locomotora (ARAÚJO; MALAFAIA, 2020). Animais expostos à microplásticos também apresentaram maior índice de ansiedade (efeito ansiogênico) e perda significativa da capacidade responsiva de defesa.

A resposta dos organismos está sujeita a variações de acordo com o tipo de polímero ao qual estão expostos, ou seja, alguns polímeros são capazes de induzir maiores efeitos tóxicos. Por esta razão, é importante caracterizar quimicamente os microplásticos. Por conta do restrito número de estudos nessa área, uma ordem de toxicidade ainda não está bem estabelecida, porém alguns testes indicam que o PVC é um dos plásticos que apresentam maiores perigos à biota, por conta da quantidade de aditivos presentes na sua matriz (ZIMMERMANN *et al.*, 2020). Segundo experimentos realizados por Yang *et al.* (2020), o PE e PS apresentaram níveis de toxicidade semelhantes para as microalgas testadas.

Além dos impactos causados diretamente à organismos aquáticos, não se pode ignorar os efeitos negativos no ambiente no entorno dos corpos d'água, como por exemplo em organismos terrestres, como aves que se alimentam de peixes. Estudos também mostram que microplásticos são capazes de interferir nas propriedades do solo e no desenvolvimento de plantas (LI *et al.*, 2020a; RILLIG, 2020; RILLIG; LEHMANN, 2020) e partículas foram encontradas em amostras de frutas e vegetais (CONTI *et al.*, 2020).

BIOACUMULAÇÃO E TRANSFERÊNCIA TRÓFICA DE MICROPLÁSTICOS

A bioacumulação é o acúmulo de qualquer contaminante em organismos. Esse processo pode ocorrer por diversas vias metabólicas e pode resultar, ou não, na biomagnificação, o qual leva ao aumento da concentração química em organismos de maior posição trófica na cadeia alimentar (transferência trófica) (BORGÀ, 2008). Ainda não existem dados suficientes para explicar ou mesmo comprovar a transferência de microplásticos através da cadeia alimentar de água doce (MATEOS-CÁRDENAS *et al.*, 2019), mas estudos laboratoriais indicam a possibilidade deste evento estar acontecendo continuamente no ambiente.

Em estudos realizados em condições controladas em laboratório, algumas espécies de microalgas de água doce mostraram-se suscetíveis à internalização celular de microplásticos (CHEN *et al.*, 2020; NOLTE *et al.*, 2017; TUNALI *et al.*, 2020), sendo o processo de internalização extremamente dependente

do tamanho do microplástico, e otimizado com fragmentos de até 2 µm (CHEN *et al.*, 2020). Além de estudos com algas, Mateos-Cárdenas *et al.* (2019) observaram forte adesão de microplásticos nas superfícies de *Lemna minor*, uma espécie de planta aquática de 1 mm de diâmetro. Por se tratar de dois exemplos de produtores primários, estas constatações indicam a possibilidade de transferência trófica por ambas as vias.

Canniff & Hoang (2018) colocaram microalgas em exposição a partículas de plásticos e ofereceram a mistura de alimento a organismos de *D. magna*. Ao final do período experimental, foi constatado que os organismos ingeriram os microplásticos e a concentração interna aumentou de acordo com o período de exposição. No estudo com *L. minor* citado anteriormente, os autores verificaram que *Gammarus duebeni*, uma espécie de anfípode de água doce, também são capazes de ingerir os microplásticos aderidos à superfície da planta testada (MATEOS-CÁRDENAS *et al.*, 2019).

A transferência trófica também pode estar relacionada aos contaminantes sorvidos aos fragmentos de microplásticos (HERMABESSIERE *et al.*, 2017). Neste caso, também há poucas informações disponíveis para determinar os perigos reais desse processo, devendo nos apoiar em resultados de estudos preliminares. Em peixes marinhos, por exemplo, quando expostos a uma mistura de polietileno com poluentes orgânicos persistentes, bioacumulam esses compostos e sofrem toxicidade e patologia hepática, que podem levar até a necrose celular (ROCHMAN *et al.*, 2013). A bioacumulação de PBDEs também foi demonstrada em um invertebrado terrestre, o grilo doméstico (*Acheta domesticus*) (GAYLOR *et al.*, 2012) e em minhocas (*Eisenia fétida*) (GAYLOR *et al.*, 2013), como resultado da ingestão de espuma de PU.

TÉCNICAS DE AMOSTRAGEM E ANÁLISES APLICADAS A MICROPLÁSTICOS

A análise de amostras ambientais contendo microplásticos é essencial para determinar sua concentração e determinar seu impacto em potencial. As técnicas para amostragem, extração e análises físicas e químicas ainda não estão padronizadas na literatura, em virtude, principalmente das características diversas entre os tipos de polímeros. Somado a isso, para cada tipo de amostra ambiental é necessário um protocolo diferente e associar isso às particularidades de cada tipo de polímero tem sido um grande desafio científico (HERRERA *et al.*, 2018).

Devido ao grande número de variáveis que devem ser consideradas quando se propõe investigar a presença de microplásticos, um padrão metodológico poderia acabar sendo uma barreira para o desenvolvimento da pesquisa. Isso porque cada pesquisador precisa de um protocolo específico levando em conta fatores como: a faixa de tamanho de microplásticos que deseja estudar, tipo de polímero, matriz ambiental, tipo de análise a que as amostras serão submetidas e quais os objetivos do estudo (ROCHMAN *et al.*, 2017).

A seguir são apresentados alguns dos procedimentos adotados para coleta de amostras, quantificação e caracterização de microplásticos em amostras de água e sedimento, as quais podem ser aplicadas em reservatórios.

TÉCNICAS DE AMOSTRAGEM E EXTRAÇÃO

Conforme diversas pesquisas científicas já demonstraram, os microplásticos estão presentes em quase todos os lugares, inclusive no ar, portanto, as técnicas utilizadas para coleta de amostras devem considerar os meios necessários para evitar fontes de contaminação cruzada durante a realização dos procedimentos. Para tanto, e por conta da natureza do contaminante em foco, recomenda-se a utilização de equipamentos e materiais de vidro ou metal durante todas as atividades para amostragem e extração de microplásticos. O uso de vestimentas de tecidos naturais também é aconselhado, já que fibras provenientes de tecidos sintéticos podem se desprender e contaminar a amostra (LUSHER *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2018).

Em reservatórios, as amostras usualmente empregadas em estudos ambientais são de água (superficial ou profunda), sedimento e amostras vivas. Tais amostras devem ser coletadas e armazenadas

em recipientes, preferencialmente não plásticos, previamente identificados e esterilizados. Em laboratório, as amostras devem ser processadas para dar seguimento ao processo de extração, sendo que para cada tipo de amostra deve ser realizado um procedimento diferente, sendo amostras de sedimentos as mais complexas e com maior número de etapas a serem executadas. Amostras de sedimentos devem ser submetidas a uma etapa (ou quantas forem necessárias) de digestão de matéria orgânica, geralmente com KOH, H₂O₂ ou digestão enzimática, seguida de uma etapa para separação por densidade, que pode ser realizada com diferentes soluções salinas (HURLEY *et al.*, 2018). Em seguida, o sobrenadante é filtrado com o auxílio de um sistema a vácuo e o conteúdo retido pode ser analisado. A Figura 12 apresenta um esquema com da metodologia usualmente utilizada para remoção de microplásticos de amostras ambientais. As amostras vivas e de água não precisam passar pela etapa de separação por densidade, entretanto, assim como amostras de sedimento, amostras vivas devem passar pela fase de digestão de matéria orgânica.

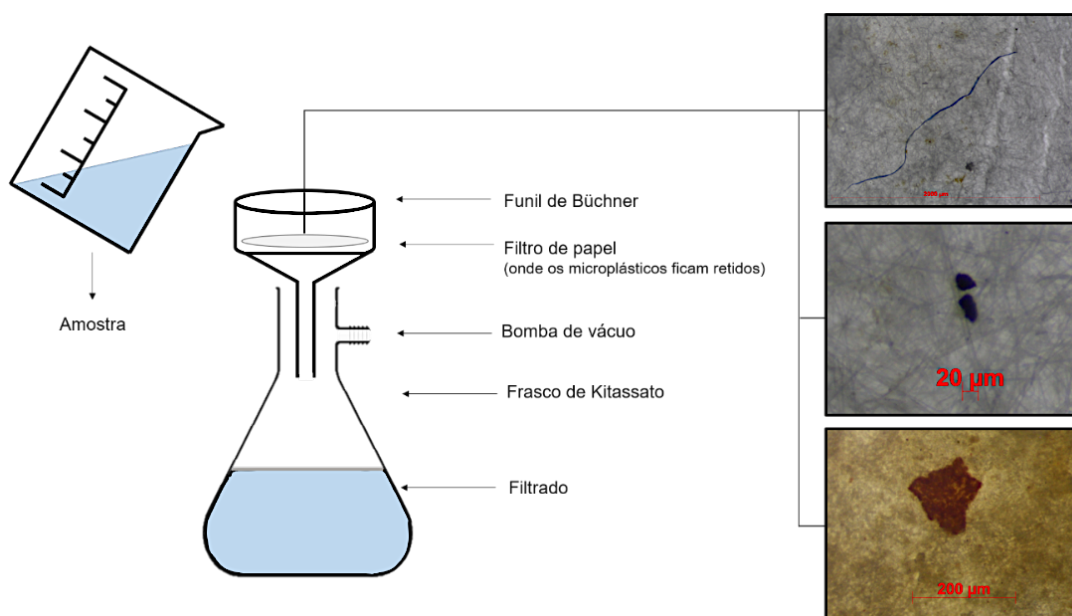


Figura 12: Metodologia resumida para remoção de microplásticos de amostras.

TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

Por se tratar de um contaminante com características físicas e químicas tão abrangentes e, principalmente, de tamanho tão reduzido, sua análise se torna uma tarefa bastante complexa e delicada, passível de erros. Visando contornar essas adversidades e obter resultados mais precisos e confiáveis, é recomendada a combinação de mais de um método para análise das amostras (RODRÍGUEZ-SEIJO; PEREIRA, 2017; WAGNER; LAMBERT, 2017).

Uma série de técnicas analíticas tem sido aplicada à análise de microplásticos. As análises visuais e microscópicas, permitem a categorização apenas de acordo com as características físicas, portanto devem corresponder as análises iniciais, que precedem as análises capazes de comprovar que os fragmentos em estudo se tratam realmente de partículas plásticas. Das técnicas adotadas, a espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (IR) e espectroscopia Raman, são as principais técnicas analíticas para identificação, quantificação e caracterização de microplásticos (ARAÚJO *et al.*, 2018; XU *et al.*, 2019). Ambas as técnicas possuem o mesmo princípio, baseadas na interação da radiação com as vibrações moleculares, mas diferem entre si na forma como a energia do fóton é transferida para a molécula, alterando seu estado vibracional (XU *et al.*, 2019).

Entre as metodologias empregadas para a análise de microplásticos em amostras ambientais, está a Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massa (SHIM *et al.*, 2017; WAGNER; LAMBERT, 2017).

A quantificação de microplásticos é feita através da ação de altas temperaturas em ambiente livre de oxigênio, que levam a quebra das cadeias poliméricas e a geração de produtos pirolíticos voláteis. Após este processo ocorre a separação por cromatografia gasosa e detecção individual de cada componentes, que possibilitam a quantificação de tipos individuais de polímeros (FISHER; SCHOLTZ-BOTTCHER, 2019).

POLÍTICAS PÚBLICAS

Devido as suas características e especificidades, este poluente acaba por se acumular inevitavelmente ao longo de matrizes ambientais, e contribuem diretamente no processo de degradação da integridade ecológica local. Com este cenário alarmante, é impraticável ignorar os efeitos toxicológicos provocados por este contaminante e constata-se a imprescindibilidade de estudos que busquem elucidar e ampliar a compreensão acerca desse tema, para auxiliar a contextualizar diretrizes e estratégias ambientais necessárias para mitigação dos impactos causados pela exposição aos microplásticos.

Hoje, são poucos os países que estabeleceram normas visando controlar os perigos dos microplásticos no ambiente, e mesmo assim, são preliminares, em decorrência da falta de evidências científicas e métodos de avaliação validados. Mas a implementação de medidas pressupõe que se dedique atenção especial a esta problemática, o que por si só é fundamental para incentivar e garantir o desenvolvimento de novos estudos com plásticos. Além disso, as diretrizes de uso e os padrões regulatórios evoluem à medida que esses materiais continuam presentes nos produtos do dia a dia.

As melhores políticas públicas contra a ameaça de microplásticos estão sendo implementadas na União Europeia, através da adoção da chamada Estratégia Europeia de Plásticos, que estabelece metas de produção e reciclagem de materiais poliméricos, incentiva o uso de produtos sustentáveis e bane uma série de produtos plásticos de uso único (EC, 2020). Além disso, muitos países, como Estados Unidos, Canadá, Japão e países do Reino Unido, já aboliram a comercialização de microplásticos primários em cosméticos, tintas e detergentes, por exemplo. No Brasil, nenhuma legislação que regulamenta a fabricação, importação e comercialização de produtos que possuem em sua composição fragmentos microplásticos foi aprovada até o presente momento. Mas no Brasil há casos isolados, com normativas locais. Por exemplo, na cidade de São Paulo a prefeitura proibiu a distribuição gratuitas de sacolas plásticas em supermercados, que agora devem ser compradas e também barrou a distribuição de canudos plásticos.

Recentemente, diversas organizações mundiais tem se mobilizado diante do surgimento de evidências e do eminente perigo da presença de fragmentos plásticos na água de consumo humano (EERKES-MEDRANO *et al.*, 2019; KOELMANS *et al.*, 2019). A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem se destacado, tomando a frente de projetos e divulgando relatórios técnicos importantes para a área. Em 2019, a OMS divulgou um relatório chamado *Microplastics in drinking-water*, onde foi apresentado um compilado de informações científicas disponível até o momento.

Considerando as práticas já adotadas por outros países e vias de origem, transporte e destino das partículas até reservatórios, é possível apontar os principais pontos que requerem maior atenção no momento de se estabelecer uma legislação específica sobre a presença deste contaminante, que são:

- (1) implementação de sistemas de gerenciamento de resíduos sólidos integrado;
- (2) incentivo da economia circular;
- (3) regulamentação e controle do uso de plásticos, principalmente os de uso único;
- (4) estabelecimento de novos protocolos de monitoramento nas estações de tratamento de água, esgoto e em amostras de água e sedimento de reservatórios; e
- (5) promoção de projetos para educação ambiental da população.

LIMITAÇÕES DA PESQUISA

O Brasil é um dos países com a maior disponibilidade de água doce do mundo, ainda assim, um dos grandes desafios enfrentados pelos gestores de recursos hídricos é o de encontrar meios para garantir a manutenção e distribuição de água de qualidade para população. Um dos principais problemas observados no país é a eutrofização, decorrente da entrada de esgoto doméstico ou industrial in natura.

Segundo o Atlas Esgotos (<http://atlasesgotos.ana.gov.br>), cerca de 45% da população, ou seja 95 milhões de habitantes, não possuem tratamento de esgotos.

Desta maneira, são inúmeros os poluentes químicos que ameaçam o abastecimento de água, e os plásticos somam-se vigorosamente a eles. Infelizmente, o plástico vem se mostrando como um problema de maior profundidade do que se esperava até recentemente. Isso se deve, sobretudo, à sua fragmentação ao longo dos anos, sorção de poluentes em sua superfície e na matriz polimérica, bioacumulação e transferência trófica pela biota, desencadeando processos danosos ao meio.

Os estudos com microplásticos em água doce no Brasil ainda são incipientes e avançam demasiadamente lentos, o que traz grandes preocupações diante do potencial da crescente contaminação das águas brasileiras, o que pode representar uma séria ameaça a ecossistemas e para qualidade da água utilizada para distribuição. Em recente levantamento bibliográfico foram encontrados 18 papers sobre estudos de microplásticos no Brasil (RANI-BORGES *et al.*, 2021). É necessário ressaltar as dificuldades inerentes à pesquisa de um poluente recentemente notado, com características incrivelmente diversas e muitos aspectos a serem desvendados. Além disso, os microplásticos estão presentes em matrizes ambientais, como reservatórios de abastecimento e consumo humano, que são ambientes dinâmicos e heterogêneos, fazendo com que o seu estudo se torne ainda mais complexo. Por fim, soma-se a estas problemáticas, a falta de metodologias padronizadas e aceitas globalmente, que acabam por atrasar o crescimento da área.

EXISTE SOLUÇÃO?

Hoje, a sociedade encontra-se num estado de consciência e preocupação crescentes sobre o potencial impacto negativo de poluentes no ambiente, neste contexto, o plástico tem recebido atenção especial. Infelizmente, o problema da poluição plástica é muito grande e está fora de controle, sendo impossível resolvê-lo apenas com soluções individuais. Tratamentos, como a remoção de fragmentos plásticos que já estão introduzidos no ambiente não é viável (EERKES-MEDRANO *et al.*, 2015) nem do ponto de vista ecológico nem do financeiro, e o prejuízo que seria causado a organismos de tamanhos reduzidos seria incalculável.

A solução demanda tomadas de decisões estruturadas e sistemáticas, englobando todo o sistema produtivo, comercial e de consumo, e a participação ativa de órgãos governamentais, que tem papel fundamental para guiar as novas diretrizes e fiscalizar suas aplicações, a serem seguidas por todas as partes envolvidas. Além disso, ressalta-se que a degradação polimérica não deve ser resumida apenas à questão dos microplásticos, que por si só já é capaz de causar grandes impactos ambientais, mas outras questões, como as emissões de gases do efeito estufa associadas ao ciclo de vida dos plásticos, não deve ser ignorada.

A melhor solução, e talvez única, no momento, é através da adoção de hábitos mais sustentáveis no dia a dia, reduzindo o consumo exagerado de plásticos, diminuindo a frequência e a duração do ciclo de lavagem de roupas de tecido sintético, bem como garantindo o destino correto de resíduos após o seu uso, para que sejam tratados da maneira adequada. Essas ações, juntamente com os esforços científicos e tecnológicos na busca por maior compreensão sobre os mecanismos de ação, tratamentos viáveis em larga escala ou no desenvolvimento de medidas de intervenção para mitigação de danos, podem ajudar a garantir a conservação e proteção de ecossistemas dos impactos que os microplásticos possam vir a oferecer ao meio ambiente, à biota e ao homem. Mas não haverá sucesso sem a existência de normativas e a fiscalização por parte do estado.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. P. C.; MALAFAIA, G. Can short exposure to polyethylene microplastics change tadpoles' behavior? A study conducted with neotropical tadpole species belonging to order anura (*Physalaemus cuvieri*). **Journal of Hazardous Materials**, v. 391, 122214, 2020.

- ARAUJO, C. F.; NOLASCO, M. M.; RIBEIRO, A. M. P.; RIBEIRO-CLARO, P. J. A. Identification of microplastics using Raman spectroscopy: latest developments and future prospects. **Water Research**, v. 142, p. 426-440, 2018.
- AU, S. Y.; BRUCE, T. F.; BRIDGES, W. C.; KLAINE, S. J. Responses of *Hyalella azteca* to acute and chronic microplastic exposures. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 11, p. 2564-2572, 2015.
- AUTA, H. S.; EMENIKE, C. U.; FAUZIAH, S. H. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: a review of the sources, fate, effects, and potential solutions. **Environment International**, v. 102, p. 165-176, 2016.
- BACKHAUS, T.; WAGNER M. Microplastics in the environment: much ado about nothing? A debate. **PeerJ Preprints**, v. 6, e26507, 2018.
- BAKIR, A.; O'CONNOR, I. A.; ROWLAND, S. J.; HENDRIKS, A. J.; THOMPSON, R. C. Relative importance of microplastics as a pathway for the transfer of hydrophobic organic chemicals to marine life. **Environmental Pollution**, v. 219, p. 56-65, 2016.
- BORGÅ, K. Bioaccumulation. In: JORGENSEN, S. E. **Ecotoxicology**. Amsterdam: Academic Press, 2008. p. 70-72.
- BROWNE, M. A.; GALLOWAY, T. S.; THOMPSON, R. Microplastic: an emerging contaminant of potential concern? **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 3, n. 4, p. 559-561, 2007.
- CANEVAROLO Jr., S. V. **Ciência dos Polímeros**. São Paulo: Artliber, 2002. 280 p.
- CANNIFF, P. M.; HOANG, T. C. Microplastic ingestion by *Daphnia magna* and its enhancement on algal growth. **Science of the Total Environment**, v. 633, p. 500-507, 2018.
- CARR, S. A.; LIU, J.; TESORO, A. G. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 91, p. 174-182, 2016.
- CELESTINE, A. N.; AGRAWAL, V.; RUNNELS, B. Experimental and numerical investigation into mechanical degradation of polymers. **Composites Part B: Engineering**, v. 201, 108369, 2020.
- CHEN, Y.; LING, Y.; LI, X.; HU, J.; CAO, C.; HE, D. Size-dependent cellular internalization and effects of polystyrene microplastics in microalgae *P. helgolandica* var. *tsingtaoensis* and *S. Quadricauda*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 399, 123092, 2020.
- CHEN, J. H.; ZHONG, J. C.; CAI, Y. H.; SU, W. B.; YANG, Y. B. Morphology and thermal properties in the binary blends of polypropylene-co-ethylene copolymer and isostatic polypropylene with polyethylene. **Polymer**, v. 48, p. 2946-2957, 2007.
- CHUA, E. M.; SHIMETA, J.; NUGEGODA, D.; MORRISON, P. D.; CLARKE B. O. Assimilation of polybrominated diphenyl ethers from microplastics by the marine amphipod, *Allorchestes compressa*. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 14, p. 8127-8134, 2014.
- COLE, M.; LINDEQUE, P.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T. S. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p. 2588-2597, 2011.
- CONTI, G. O.; FERRANTE, M.; BANNI, M.; FAVARA, C.; NICOLOSI, I.; CRISTALDI, A.; FIORE, M.; ZUCCARELLO, P. Micro- and nano-plastics in edible fruit and vegetables: the first diet risks assessment for the general population. **Environmental Research**, v. 187, 109677, 2020.
- COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; SANTA MARIA, L. C. Polietileno: principais tipos, propriedades e aplicações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2003.
- EERKES-MEDRANO, D.; LESLIE, H. A.; QUINN, B. Microplastics in drinking water: a review and assessment. **Environmental Science & Health**, v. 7, p. 69-75, 2019.
- EERKES-MEDRANO, D.; THOMPSON, R. C.; ALDRIDGE, D. C. Microplastics in freshwater systems: a review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. **Water Research**, v. 75, p. 63-82, 2015.

ERIKSEN, M.; LEBRETON, L. C. M.; CARSON, H. S.; THIEL, M.; MOORE, C. J.; BORERRO, J. C.; GALGANI, F.; RYAN, P. G.; REISSER, J. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, e111913, 2014.

EUROPEAN COMMISSION. **A european strategy for plastics**. Bruxelas. Disponível em: https://ec.europa.eu/environment/waste/plastic_waste.htm. Acesso em: 18 de ago. 2020.

FISHER, M.; SCHOLZ-BÖTTCHER, B. M. Microplastics analysis in environmental samples: recent pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry method improvements to increase the reliability of mass-related data. **Analytical Methods**, v. 11, n. 18, p. 2489-2497, 2019.

FREE, C. M.; JENSEN, O. P.; MASON, S. A.; ERIKSEN, M.; WILLIAMSON, N. J.; BOLDGIV, B. High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, p. 156-163, 2014.

GAYLOR, M. O.; HARVEY, E.; HALE, R. C. House crickets can accumulate polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) directly from polyurethane foam common in consumer products. **Chemosphere**, v. 86, p. 500-505, 2012.

GAYLOR, M. O.; HARVEY, E.; HALE, R. C. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) accumulation by earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to biosolids-, polyurethane foam microparticle-, and Penta-BDEamended soils. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 23, p. 13831-13839, 2013.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. R. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**, v. 3, e170078, 2017.

HAHLADAKIS, J. N.; VELIS, C. A.; WEBER, R.; IACOVIDOU, E.; PURNELL, P. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. **Journal of Hazardous Materials**, v. 344, p.179–199, 2018.

HANVEY, J. S.; LEWIS, P. J.; LAVERS, J. L.; CROSBIE, N. D.; POZODE, K.; CLARKE, B. O. A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. **Analytical Methods**, v. 9, p. 1369-1383, 2017.

HERMABESSIERE, L.; DEHAUT, A.; PAUL-PONT, I.; LACROIX, C.; JEZEQUEL, R.; SOUDANT, P.; DUFLOS, G. Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: a review. **Chemosphere**, v. 182, p. 781-793, 2017.

HERRERA, A.; GARRIDO-AMADORA, P.; MARTÍNEZA, I.; SAMPER, M. D.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, J.; GÓMEZA, M.; PACKARDA, T. T. Novel methodology to isolate microplastics from vegetal-rich samples. **Marine Pollution Bulletin**, v. 129, p. 61-69, 2018.

HIRAI, H.; TAKADA, H.; OGATA, Y.; YAMASHITA, R.; MIZUKAWA, K.; SAHA, M.; KWAN, C.; MOORE, C.; GRAY, H.; LAURSEN, D.; ZETTLER, E. R.; FARRINGTON, J. W.; REDDY, C. M.; PEACOCK, E. E.; WARD, M. W. Organic micropollutants in marine plastics debris from the open ocean and remote and urban beaches. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p. 1683-1692, 2011.

HOORNWEG, D.; BHADA-TATA, P. **What a waste: a global review of solid waste management**. Washington: Urban Development/Local Government Unit/World Bank, 2012.

HORTON, A. A. **A review of current knowledge: microplastics in the freshwater environment**. Marlow: Foundation for Water Research, 2017. 38 p.

HORTON, A. A.; DIXON, S. J. **Microplastics: an introduction to environmental transport processes**. Wiley Interdisciplinary Reviews: Water, v. 5, n. 2, e1268, 2017.

HURLEY, R. R.; LUSHER, A. L.; OLSEN, M.; NIZZETTO, L. Validation of a method for extracting microplastics from complex, organic-rich, environmental matrices. **Environmental Science & Technology**, v. 52, p. 7409-7417, 2018.

IBRAHIM, Y. S. *et al.* Detection of microplastics in human colectomy specimens. **JGH Open**, v. 5, n.1, p. 116-121, 2020.

IMHOF, H. K.; RUSEK, J.; THIEL, M.; WOLINSKA, J.; LAFORSCH, C. Do microplastic particles affect *Daphnia magna* at the morphological, life history and molecular level? **PLoS ONE**, v.12. n. 11, e0187590, 2017.

JACOB, H.; BESSON, M.; SWARZENSKI, P. W.; LECCHINI, D.; METIAN, M. Effects of virgin micro- and nano-plastics on fish: trends, meta-analysis and perspectives. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 8, p. 4733-4745, 2020.

JAHNKE, A.; ARP, H. P. H.; ESCHER, B. I.; GEWERT, B.; GOROKHOVA, E.; KÜHNEL, D.; OGONOWSKI, M.; POTTHOFF, A.; RUMMEL, C.; SCHMITT-JANSEN, M.; TOORMAN, E.; MACLEOD, M. Reducing uncertainty and confronting ignorance about the possible impacts of weathering plastic in the marine environment. **Environmental Science & Technology Letters**, v. 4, n. 3, p. 85-90, 2017.

JOHNSTON, B. R.; HIWASAKI, L.; KLAVER, I. J.; CASTILLO, A. R.; STRANG, V. **Water, cultural diversity, and global environmental change: emerging trends, sustainable futures?** Paris: Springer Science & Business Media, 2011. 560 p.

KIRSTEIN, I. V.; KIRMIZI, S.; WICHELS, A.; GARIN-FERNANDEZ, A.; ERLER, R.; LODER, M.; GERDTS, G. Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. **Marine Environmental Research**, v. 120, p. 1-8, 2016.

KLEIN, S.; DIMZON, I. K.; EUBELER, J.; KNEPPER, T. P. Analysis, occurrence, and degradation of microplastics in the aqueous environment. In: **Freshwater microplastics: emerging environmental Contaminants?** Cham: Springer, 2017. p. 51-68. (The Handbook of Environmental Chemistry).

KOELMANS, A. A.; NOR, N. H. M.; HERMSEN, E.; KOOI, M.; MINTENIG, S. M.; FRANCE, J. Microplastics in freshwaters and drinking water: critical review and assessment of data quality. **Water Research**, v. 155, p. 410-422, 2019.

KOLTZENBURG, S.; MASKOS, M.; NUYKEN, O. **Polymer Chemistry**. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2017. 584 p.

LAGARDE, F.; OLIVIER, O.; ZANELLA, M.; DANIEL, P.; HIARD, S.; CARUSO, A. Microplastic interactions with freshwater microalgae: hetero-aggregation and changes in plastic density appear strongly dependent on polymer type. **Environmental Pollution**, v. 215, p. 331-339, 2016.

LI, L.; LUO, Y.; LI, R.; ZHOU, Q.; PEIJNENBURG, W. J. G. M.; YIN, N.; YANG, J.; TU, C.; ZHANG, Y. Effective uptake of submicrometre plastics by crop plants via a crack-entry mode. **Nature Sustainability**, v. 3, p. 929-937, 2020a.

LI, S.; WANG, P.; ZHANG, C.; ZHOU, X.; YIN, Z.; HU, T.; HU, D.; LIU, C.; ZHU, L. Influence of polystyrene microplastics on the growth, photosynthetic efficiency and aggregation of freshwater microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*. **Science of the Total Environment**, v. 714, 136767, 2020b.

LITHNER, D.; LARSSON, Å.; DAVE, G. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 3309-3324, 2011.

LUSHER, A. L.; WELDEN, N. A.; SOBRAL, P.; COLE, M. Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. **Analytical Methods**, v. 9, p. 1346-1360, 2017.

MA, Y.; HUANG, A.; CAO, S.; SUN, F.; WANG, L.; GUO, H.; JI, R. Effects of nanoplastics and microplastics on toxicity, bioaccumulation and environmental fate of phenanthrene in fresh water. **Environment Pollution**, v. 219, p. 166-173, 2016.

MADDAH, H. A. Polypropylene as a promising plastic: a review. **American Journal of Polymer Science**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016.

MALAFAIA, G.; SOUZA, A. M.; PEREIRA, A. C.; GONÇALVES, S.; ARAÚJO, A. P. C.; RIBEIRO, R. X.; ROCHA, T. L. Developmental toxicity in zebrafish exposed to polyethylene microplastics under static and semi-static aquatic systems. **Science of the Total Environment**, v. 700, 134867, 2020.

MANI, T.; HAUK, A.; WALTER, U.; BURKHARDT-HOLM, P. Microplastics profile along the Rhine River. **Scientific Reports**, v. 5, 17988, 2015.

MAO, Y.; AI, H.; CHEN, Y.; ZHANG, Z.; ZENG, P.; KANG, L.; LI, W.; GU, W.; HE, Q.; LI, H. Phytoplankton response to polystyrene microplastics: perspective from an entire growth period. **Chemosphere**, v. 208, p. 59-68, 2018.

MATEOS-CÁRDENAS, A.; SCOTT, D. T.; SEITMAGANBETOVA, G.; VAN PELT, F. N. A. M.; O'HALLORAN, J.; JANSEN, M. A. K. Polyethylene microplastics adhere to *Lemna minor* (L.), yet have no effects on plant growth or feeding by *Gammarus duebeni* (Lillj.). **Science of the Total Environment**, v. 689, p. 413-421, 2019.

NOLTE, T. M.; HARTMANN, N. B.; KLEIJN, J. M.; GARNÆS, J.; VAN DE MEENT, D.; HENDRIKS, A. J.; BAUN, A. The toxicity of plastic nanoparticles to green algae as influenced by surface modification, medium hardness and cellular adsorption. **Aquatic Toxicology**, v. 183, p. 11-20, 2017.

OEHLMANN, J.; SCHULTE-OEHLMANN, U.; KLOAS, W.; JAGNYTSCH, O.; LUTZ, I.; KUSK, K. O.; WOLLENBERGER, L.; SANTOS, E. M.; PAULL, G. C.; VAN LOOK, K. J. W.; TYLER, C. R. A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, p. 2047-2062, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Microplastics in drinking-water**. Geneva: World Health Organization, 2019.

PAOLI, M. A. **Degradação e estabilização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2008. 286 p.

PLANELLÓ, R.; MARTÍNEZ-GUITARTE, J. L.; MORCILLO, G. The endocrine disruptor bisphenol A increases the expression of HSP70 and ecdysone receptor genes in the aquatic larvae of *Chironomus riparius*. **Chemosphere**, v. 71, p. 1870-1876, 2008.

PLASTICSEUROPE. Association of Plastics Manufactures. **Plastics: the facts**. An analysis of European latest plastics production, demand and waste data. Bruxelas: PlasticsEurope, 2019. Disponível em: <https://www.plasticseurope.org/en/resources/market-data>. Acesso em: 18 jul. 2020.

PROAG, S. L.; PROAG, V. A framework for risk assessment. **Procedia Economics and Finance**, v. 18, p. 206-213, 2014.

RAFIEE, M.; DARGAHI, L.; ESLAMI, A.; BEIRAMI, E.; JAHANGIRI-RAD, M.; SABOUR, S.; AMEREH, F. Neurobehavioral assessment of rats exposed to pristine polystyrene nanoplastics upon oral exposure. **Chemosphere**, v. 193, p. 745-753, 2018.

RANI-BORGES, B.; FARIA, A. U.; CAMPOS, A.; GONÇALVES, S. P. C.; MARTINS-FRANCHETTI, S. M. Biodegradation of additive PHBV/PP-co-PE films buried in soil. **Polímeros**, v. 26, n. 2, p. 161-167, 2016.

RANI-BORGES, B.; MARTINS, T. F. G.; POMPÊO, M. Status of Brazilian research on microplastics present in aquatic ecosystems: freshwater. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 16, n. 1, p. 106-117, 2021.

RILLIG, M. C. Plastic and plants. **Nature Sustainability**, v. 3, p. 887-888, 2020.

RILLIG, M. C.; LEHMANN, A. Microplastic in terrestrial ecosystems. **Science**, v. 368, n. 6498, p. 1430-1431, 2020.

RIOS-MENDOZA, L. M.; TANIGUCHI, S.; KARAPANAGIOTI, H. K. Advanced analytical techniques for assessing the chemical compounds related to microplastics. In: ROCHA-SANTOS, A. P. T.; DUARTE, A. C. **Characterization and analysis of microplastics**, v.75. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 209-240.

ROCHMAN, C. M.; BROOKSON, C.; BIKKER, J.; DJURIC, N.; EARN, A.; BUCCI, K.; ATHEY, S.; HUNTINGTON, A.; MCILWRAITH, H.; MUNNO, K.; DE FROND, H.; KOLOMIJECA, A.; ERDLER, L.; GRBIC, J.; BAYOUMI, M.; BORRELLE, S. B.; WU, T.; SANTORO, S.; WERBOWSKI, L. M.; ZHU, X.; GILES, R. K.; HAMILTON, B. M.; THAYSEN, C.; KAURA, A.; KLASIOS, N.; EAD, L.; KIM, J.; SHERLOCK, C.; HO, A.; HUNG, C. Rethinking microplastics as a diverse contaminant suite. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 38, n. 4, p. 703-711, 2019.

ROCHMAN, C. M.; HOH, E.; KUROBE, T.; TEH, S. J. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. **Scientific Reports**, v. 3, p. 3263, 2013.

ROCHMAN, C. M.; LEWISON, R. L.; ERIKSEN, M.; ALLEN, H.; COOK, A. M.; TEH, S. J. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish tissue may be an indicator of plastic contamination in marine habitats. **Science of the Total Environment**, v. 476, p. 622-633, 2014.

ROCHMAN, C. M.; REGAN, F.; THOMPSON, R. C. 2017. On the harmonization of methods for measuring the occurrence, fate and effects of microplastics. **Analytical Methods**, v. 9, n. 9, p. 1324-1325, 2017.

RODOLFO JUNIOR, A.; NUNES L. R.; ORMANJI, W. **Tecnologia do PVC**. 2. ed. São Paulo: ProEditores/Braskem, 2006. 448 p.

RODRÍGUEZ-SEIJO, A.; PEREIRA, R. Morphological and physical characterization of microplastics. *In*: ROCHA-SANTOS, A. P. T.; DUARTE, A. C. **Characterization and Analysis of Microplastics**, v.75. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 49-66.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. Biological degradation of plastics. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 246-265, 2008.

SHIM, W. J.; HONGA, S. H.; EO, S. Identification methods in microplastic analysis: a review. **Analytical Methods**, v. 9, p. 1384-1391, 2017.

SILVA, A. B.; BASTOS, A. S.; JUSTINO, C. I. L.; COSTA J. P.; DUARTE, A. C.; ROCHA-SANTOS, T. A. P. Microplastics in the environment: challenges in analytical chemistry. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1017, p. 1-19, 2018.

SONG, C.; LIU, Z.; WANG, C.; LI, S.; KITAMURA, Y. Different interaction performance between microplastics and microalgae: the bio-elimination potential of *Chlorella* sp. L38 and *Phaeodactylum tricornutum* MASCC-0025. **Science of the Total Environment**, v. 723, p. 138-146, 2020.

SPINACÉ, M. A. S.; PAOLI, M. A. A tecnologia da reciclagem de polímeros. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 65-72, 2005.

TANAKA, K.; TAKADA, H.; YAMASHITA, R.; MIZUKAWA, K.; FUKUWAKA, M.; WATANUKI, Y. Facilitated leaching of additive-derived PBDEs from plastic by seabirds' stomach oil and accumulation in tissues. **Environmental Science Technology**, v. 49, p. 11799-11807, 2015.

THOMPSON, R. C.; OLSEN, Y.; MITCHELL, R. P.; DAVIS, A.; ROWLAND, S. J.; JOHN, A. W. G.; MCGONIGLE, D.; RUSSELL, A. E. Lost at sea: where is all the plastic? **Science**, v. 304, p. 838-838, 2004.

TUNALI, M.; UZOEFUNA, E. N.; TUNALI, M. M.; YENIGUN, O. Effect of microplastics and microplastic-metal combinations on growth and chlorophyll a concentration of *Chlorella vulgaris*. **Science of the Total Environment**, v. 743, 140479, 2020.

TURNER, A.; HOLMES, L. A. Adsorption of trace metals by microplastic pellets in fresh water. **Environmental Chemistry**, v. 12, p. 600-610, 2015.

VÖRÖSMARTY, C. J.; MCINTYRE, P. B.; GESSNER, M. O.; DUDGEON, D.; PRUSEVICH, A.; GREEN, P.; GLIDDEN, S.; BUNN, S. E.; SULLIVAN, C. A.; LIERMANN, C. R.; DAVIES, P. M. Global threats to human water security and river biodiversity. **Nature**, v. 467, p. 555-561, 2010.

XU, J.-L.; THOMAS, K. V.; LUO, Z.; GOWEN, A. A. FTIR and Raman imaging for microplastics analysis: state of the art, challenges and prospects. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 119, 115629, 2019.

WAGNER, M.; LAMBERT, S. **Freshwater Microplastics: emerging environmental contaminants?** Cham: Springer, 2017. 303 p. (The Handbook of Environmental Chemistry).

WAN, J. K.; CHU, W. L.; KOK, Y. Y.; LEE, C. S. Distribution of microplastics and nanoplastics in aquatic ecosystems and their impacts on aquatic organisms, with emphasis on microalgae. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 246, p. 133-158, 2018.

WARDMAN, T.; KOELMANS, A. A.; WHYTE, J.; PAHL, S. Communicating the absence of evidence for microplastics risk: balancing sensation and reflection. **Environment International**, v. 150, 106116, 2020.

WARDROP, P.; SHIMETA, J.; NUGEGODA, D.; MORRISON, P. D.; MIRANDA, A.; TANG, M.; CLARKE, B. O. Chemical pollutants sorbed to ingested microbeads from personal care products accumulate in fish. **Environmental Science & Technology**, v. 50, p. 4037-4044, 2016.

WATKINS, L.; MCGRATTAN, S.; SULLIVAN, P.J.; WALTER, M. T. The effect of dams on river transport of microplastic pollution. **Science of the Total Environment**, v. 664, p. 834-840, 2019.

WORD WIDE FUND FOR NATURE (WWF). **Solucionar a poluição plástica: transparência e responsabilização**. Dalberg: WWF, 2019. 48 p.

WORM, B.; LOTZE, H. K.; JUBINVILLE, I.; WILCOX, C.; JAMBECK, J. Plastic as a persistent marine pollutant. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 42, p. 1-26, 2017.

WRIGHT, S. L.; THOMPSON, R. C.; GALLOWAY, T. S. The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. **Environmental Pollution**, v. 178, p. 483-492, 2013.

WU, Y.; GUO, P.; ZHANG, X.; ZHANG, Y.; XIE, S.; DENG, J. Effect of microplastics exposure on the photosynthesis system of freshwater algae. **Journal of Hazardous Materials**, v. 374, p. 219-227, 2019.

YANG, W.; GAO, X.; WU, Y.; WAN, L.; TAN, L.; YUAN, S.; DING, H.; ZHANG, W. The combined toxicity influence of microplastics and nonylphenol on microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 195, 110484, 2020.

YOKOTA, K.; WATERFIELD, H.; HASTINGS, C.; DAVIDSON, E.; KWIETNIEWSKI, E.; WELLS, B. Finding the missing piece of the aquatic plastic pollution puzzle: interaction between primary producers and microplastics. **Limnology and Oceanography Letters**, v. 2, n. 4, p. 91-104, 2017.

ZETTLER, E. R.; MINCER, T. J.; AMARAL-ZETTLER, L. A. Life in the "Plastisphere": microbial communities on plastic marine debris. **Environmental Science & Technology**, v. 47, p. 7137-7146, 2013.

ZHANG, K.; GONG, W.; LV, J.; XIONG, X.; WU, C. Accumulation of floating microplastics behind the three Gorges dam. **Environmental Pollution**, v. 204, p. 117-123, 2015.

ZHANG, K.; SHI, H.; PENG, J.; WANG, Y.; XIONG, X.; WUA, C.; LAM, P. K. S. Microplastic pollution in China's inland water systems: a review of findings, methods, characteristics, effects, and management. **Science of the Total Environment**, v. 630, p. 1641-1653, 2018.

ZHANG, K.; XIONG, X.; HU, H.; WU, C.; BI, Y.; WU, Y.; ZHOU, B.; LAM, P. K. S.; LIU, J. Occurrence and characteristics of microplastic pollution in Xiangxi Bay of Three Gorges Reservoir, China. **Environmental Science & Technology**, v. 51, p. 3794-3801, 2017.

ZIAJAHROMI, S.; KUMAR, A.; NEALE, P. A.; LEUSCH, F. D. L. Impact of microplastic beads and fibers on waterflea (*Ceriodaphnia dubia*) survival, growth, and reproduction: implications of single and mixture exposures. **Environmental Science & Technology**, v. 51, p. 13397-13406, 2017.

ZIMMERMANN, L.; GÖTTLICH, S.; OEHLMANN, J.; WAGNER, M.; VÖLKER, C. What are the drivers of microplastic toxicity? Comparing the toxicity of plastic chemicals and particles to *Daphnia magna*. **Environmental Pollution**, v. 267, 115392, 2020.

CAPÍTULO 2

BIOINDICADORES PARA AVALIAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS E OS EFEITOS DOS CONTAMINANTES SOBRE OS ORGANISMOS AQUÁTICOS

Thaís Fabiane Gomes Martins¹

Karen de Souza Ferreira¹

Ivan Edward Biamont Rojas¹

Marcelo Pompêo²

1- Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

2- Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

A presença de substâncias tóxicas em corpos de água representa um risco aos organismos aquáticos e para o meio ambiente como um todo. Com a constante pressão que ambientes aquáticos vêm sofrendo, a necessidade de biomonitoramento para avaliar a qualidade da água e dos organismos têm se tornado essencial. Este capítulo aborda a interação dos contaminantes em organismos bioindicadores, através do impacto que poluentes trazem para ecossistemas de água doce, avaliando o histórico da ecotoxicologia e suas modificações diante da presença de contaminantes emergentes no século XXI. Os ensaios ecotoxicológicos são ferramentas de suma importância que auxiliam na compreensão da interação dos efeitos tóxicos com a resposta biológica dos organismos. Dentro deste contexto, procurou-se diferenciar os principais tipos de estudos laboratoriais, em microcosmos e mesocosmos, efeitos crônicos e agudos e parâmetros biológicos de biomarcadores, a fim de demonstrar a efetividade da ecotoxicologia como ferramenta indispensável para verificar a qualidade e saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos.

BIOINDICADORES PARA A AVALIAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS

O ecossistema aquático é naturalmente influenciado por inúmeros estressores bióticos e abióticos, que podem sofrer alterações químicas e físicas no ambiente, se externando em suas partes componentes (SOININEN; KÖNÖNEN, 2004). Para avaliar a saúde geral e a qualidade dos ecossistemas aquáticos, utilizam-se ferramentas de avaliação e estratégias de biomonitoramento. No entanto, o ambiente aquático possui diferentes níveis de organização e medidas de monitoramento pontuais podem ser utilizadas selecionando indivíduos bioindicadores de qualquer nível (populações, comunidades e ecossistemas).

Historicamente, o uso de organismos aquáticos como indicadores de qualidade de ambientes aquáticos têm se generalizado desde o início da década de 1970, quando houve um crescente envolvimento de especialistas na área com a preocupação pela conservação de sistemas de água doce, que culminou com a pressão pública às autoridades governamentais para a restauração desses ecossistemas através de programas de biomonitoramento (BONADA *et al.*, 2006).

Dentro deste contexto, os bioindicadores são utilizados como instrumentos de monitoramento ambiental, a fim de avaliar as respostas biológicas que determinadas substâncias causam ao ambiente. Assim, um bioindicador é definido como um organismo ou uma comunidade de organismos que respondem a poluição ambiental ou o acúmulo de toxinas, permitindo depreender informações sobre a qualidade do ambiente ou de suas partes (MARKERT *et al.*, 1999). Para fornecer respostas biológicas, os bioindicadores devem seguir algumas características, tais como: (i) de fácil identificação taxonômica; (ii) ter ampla distribuição cosmopolita; (iii) ser encontrado em abundância; (iv) possuir sensibilidade bem reconhecida e estudada; (v) ambiente laboratorial que simule o ambiente real; (vii) protocolos e métodos bem estabelecidos e padronizados (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2008; MARKERT *et al.*, 2003; ROSENBERG; RESH, 1993).

Por integrar partes distintas do ambiente e conceder respostas ao complexo conjunto de condições ambientais, organismos aquáticos como peixes, algas, macrófitas e macroinvertebrados bentônicos são os principais bioindicadores utilizados para avaliar a qualidade e o impacto de poluentes presentes em ecossistemas aquáticos (LI LI *et al.*, 2010). Mas para essa finalidade, também tem sido estudados comunidades mais complexas, como o perifiton (SOUSA *et al.*, 2019, 2021).

Neste capítulo discutiremos como o uso de bioindicadores aquáticos é capaz de fornecer dados científicos que contribuem para avaliar o grau de impacto total ou de focos de poluição em um ecossistema aquático, tendo em vista a utilização de ensaios ecotoxicológicos e os efeitos fisiológicos, morfológicos e os parâmetros moleculares de biomarcadores. Através da ecotoxicologia, a gama de respostas visa do nível molecular até ao nível do organismo. A seguir, são apresentados como se dá alguns efeitos interativos dos contaminantes e as respectivas respostas observadas nos organismos.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS DA ECOTOXICOLOGIA

O planeta sofre com os efeitos da poluição ambiental há alguns milhares de anos. Mas, com o advento da Revolução Industrial na Inglaterra, a partir da segunda metade do século XVIII, os impactos do desenvolvimento tecnológico humano ao meio ambiente começaram a ficar mais evidentes, contudo, a preocupação e a conscientização passaram a ser tema de discussão somente a partir do século XX (HOFFMAN, 2003; VIGHI; VILLA, 2013).

Os primeiros relatos de contaminação datam da década de 1850, com a ingestão de chumbo e os efeitos nocivos da emissão de fumaça industrial (HOFFMAN, 2003). Antes da Segunda Guerra Mundial, surgem os inseticidas orgânicos sintéticos, que se tornaram mais usuais no pós-guerra como defensivo agrícola. Em 1943 o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), um inseticida altamente perigoso e persistente no meio ambiente foi introduzido no mercado, e até o final da década, mortes e problemas ecológicos decorrentes do seu uso começaram a vir à tona (HOFFMAN, 2003), mas a discussão dos efeitos dos impactos significativos a exposição a produtos químicos potencialmente perigosos no ambiente natural

vieram à tona somente em 1962, quando a bióloga Rachel Carson, publicou seu livro *"Silent Spring"* (em português, "Primavera Silenciosa"), em que ela descreve que o declínio da população de aves da espécie *Turdus migratorius*, estava intimamente ligado a pulverização constante de DDT (CARSON, 1962).

Os efeitos destes e de outros produtos químicos utilizados em atividades humanas no meio ambiente terrestre e aquático, muito provavelmente induziram a efeitos letais e subletais na biota local (ZAGATTO, 2008). Foi então que em 1969, durante uma reunião do *Committee of the International Council of Scientific Unions* (ICSU), em Estocolmo, na Suécia, o toxicologista francês René Truhaut sugeriu o termo ecotoxicologia (HOFFMAN *et al.*, 2003; MAGALHÃES *et al.*, 2008). A ecotoxicologia é uma área da toxicologia ambiental e por ser uma ciência integrada a muitos fundamentos, gera diversas vezes, interpretações indevidas dos conceitos Ecotoxicologia e Toxicologia (ZAGATTO, 2008). Segundo Blaise (1984), a ecotoxicologia estuda os efeitos dos poluentes e a forma como eles interagem nos organismos em seu habitat (Fig. 1). Em contrapartida, a toxicologia analisa o mecanismo de ação que os efeitos tóxicos causam num determinado organismo (BLAISE, 1984; HOFFMAN *et al.*, 2003; ZAGATTO, 2008).

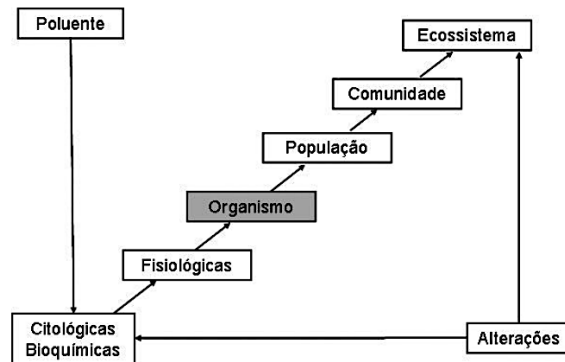


Figura 1: Níveis de organização biológica e respostas aos efeitos de poluentes/contaminantes. Fonte: MAGALHÃES; FERRÃO FILHO (2008).

A ecotoxicologia abrange fundamentos de outras disciplinas, na avaliação dos efeitos que as substâncias tóxicas, naturais e/ou sintéticas, causam sobre os organismos e os ecossistemas, sendo hoje utilizada como ferramenta complementar às análises químicas e físicas ambientais e com a finalidade de prevenir e remediar a toxicidade dos ecossistemas (SILVA *et al.*, 2015; HOFFMAN *et al.*, 2003).

A toxicidade é a resposta de um organismo a uma dose de determinada substância química acima dos níveis de tolerância por um período de exposição predominantemente longo (RAND *et al.*, 1995). É errôneo afirmar que toda substância é tóxica, uma vez que cada substância difere muito no seu grau de toxicidade, além de sofrer modificações estruturais nas propriedades químicas que a compõem, dependendo das condições de exposição, da dose-resposta da substância e do organismo utilizado (COSTA *et al.*, 2008). Assim, a resposta biológica de determinada substância não se vale apenas do grau de concentração a que um organismo é exposto, mas sim a todas as transformações cinéticas e biológicas que o contaminante pode causar ao organismo (COSTA *et al.*, 2008).

Entretanto, a intenção da proteção ambiental não deve se basear apenas na qualidade de partes de um ecossistema, mas também deve considerar toda a sua estrutura e funcionamento em relação ao sistema como um todo (VIGHI; VILLA, 2013). Com o crescente uso de agente químicos em diversas áreas, há cada vez mais a necessidade de se utilizar novas abordagens no estudo da ecotoxicologia. Estes devem ser capazes de responder às complexas relações de dose e concentração, com o intuito de compreender melhor as reais consequências que estes contaminantes geram para os ecossistemas.

A ECOTOXICOLOGIA AMBIENTAL NO CONTEXTO ATUAL

O início do século XX passou por um considerável aumento da população mundial e com ela a ampliação do uso de agentes químicos, assim, a inserção desses contaminantes no meio ambiente deu

origem a Avaliação de Risco Ecológico (ARE), com o intuito de prever as adversidades causadas por esses produtos (VIGHI; VILLA, 2013). A partir daí, a ecotoxicologia se tornou uma ferramenta responsável pela compreensão da perturbação ecológica de contaminantes em ecossistemas aquáticos e tem se desenvolvido mundialmente nos últimos anos, fazendo parte de órgãos de fiscalização e proteção ambiental e da legislação ambiental de vários países, inclusive a brasileira (COSTA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2015).

Atividades antrópicas, como a produção de resíduos industriais, farmacêuticos, agrícolas, domésticos e de mineração, têm contribuído para a elevada poluição das águas e problemas na qualidade da água para o abastecimento público (TIJANI *et al.*, 2016). As estações de tratamento de água (ETA) e esgoto (ETE) são projetadas para reduzir a carga de contaminantes desses insumos, passando por processos de tratamento que visam reduzir o impacto ao serem descartados para o meio ambiente, contudo, as ETAs e ETEs ainda não possuem tecnologia que permitam a remoção de fármacos e de outros poluentes emergentes no tratamento sanitário (AQUINO *et al.*, 2013).

Atualmente, os chamados contaminantes emergentes persistentes, como fármacos, hormônios e compostos de uso industrial (bifenilos policlorados - PCBs, bisfenol, ftalato e organotinas), possuem potentes propriedades endócrinas que possuem a capacidade de interferir na função hormonal de um organismo (GAVRILESCU *et al.*, 2015; RANI; KARTHIKEYAN, 2016; TIJANI *et al.*, 2016). Estrógenos podem se apresentar no ambiente naturais, como os estrona (E1), estriol (E3) e 17 β -estradiol (E2) ou de forma sintética como o 17 α -etinilestradiol (E1), que são usados como contraceptivos e reposição hormonal (COELHO *et al.*, 2020; VERBINNEN *et al.*, 2010). Uma vez liberados no ambiente, estes compostos possuem propriedades físicas e químicas, capazes de modificarem suas propriedades e persistirem na água, no sedimento e na matéria orgânica do manancial (COELHO *et al.*, 2020). Já existem diversos estudos indicando a presença de micropoluentes denominados disruptores endócrinos (DEs), que incluem substâncias exógenas que interferem no sistema hormonal e alteram as funções endócrinas dos organismos aquáticos (ARAÚJO *et al.*, 2018; PEREZ *et al.*, 2016; VERBINNEN *et al.*, 2010). Embora a quantidade desses contaminantes na água seja relativamente baixa (na faixa de nanogramas), as ETAs são incapazes de reter essas substâncias no processo de tratamento da água e a exposição crônica pode acarretar efeitos nocivos aos organismos aquáticos (ADEEL *et al.*, 2017; COELHO *et al.*, 2020).

Os antibióticos também já se encontram presentes em ecossistemas aquáticos (ALVES *et al.*, 2020; LOCATELLI *et al.*, 2011; TACÃO *et al.*, 2012), podendo alterar a dinâmica natural do ecossistema e da população microbiana, além de produzir influência seletiva a antibióticos resistentes, mas ao contrário dos hormônios, são mais facilmente diluídos, contudo, o efeito de diluição pode apresentar um fator importante na presença ou ausência de antibióticos na água (LOCATELLI *et al.*, 2011). Outra classe de fármacos que chama muita atenção, devido ao grande uso, são os antidepressivos, encontrados em águas de abastecimento e efluentes tratados em grande parte do planeta (BORRELY *et al.*, 2012).

Apesar de possuímos regulamentação para o controle da qualidade da água para consumo humano através da Portaria nº 2.914, de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), recentemente atualizada pela Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021 (BRASIL, 2021) a legislação brasileira não estabelece limites máximo admissíveis para esses contaminantes na água (PEREZ *et al.*, 2016).

A recente inclusão de estudos destes componentes levou a monitorar de forma mais frequente e com novos métodos biológicos a fim de avançar no estudo de contaminantes emergentes. Com isso, além das diferentes classes de agentes químicos já citados, a nanotecnologia e a nanociência, surgiram como uma ferramenta auxiliar no desenvolvimento de fármacos, produtos químicos industriais, agrícolas, alimentícios, cosméticos, médico-hospital, eletrônicos e até para o tratamento de água, através de nanopartículas de ouro, prata e paládio (JAIN; PRADEEP, 2005; PASCHOALINO *et al.*, 2010).

A preocupação atual com o uso acelerado destes nanomateriais é a produção crescente em larga escala, principalmente pelo baixo custo e eficiência, são nanopartículas leves e podem ser aplicáveis em diferentes áreas como já exposto (PASCHOALINO *et al.*, 2010). Por possuírem dimensão muito pequena (0,1 a 100 nanômetros) (RAGAB, 2014), os nanomateriais podem alcançar mais facilmente os sistemas ambientais (atmosfera, água e solo) e podem residir por maior tempo no ambiente, tendo o seu efeito tóxico

potencializado devido a maior área superficial (PASCHOALINO *et al.*, 2010). Como exemplo, Albuquerque *et al.* (2021), em experimentos com *Chironomus sancticarli*, observaram que nanopartículas carregadas com atrazina apresentaram efeitos tóxicos semelhantes à atrazina livre, causando mortalidade e alterações bioquímicas nas larvas. Segundo esses autores, a nanopartícula sem atrazina causou alterações bioquímicas e mortalidade, indicando um possível efeito tóxico da formulação nas larvas. A maioria das concentrações de nanopartículas carregadas com atrazina não foram dependentes da dose para o desfecho de mortalidade. Observaram que apenas a concentração de atrazina de 470 µg/l foi estatisticamente significativa para o desfecho de deformidade do mento.

Ainda há muito a avançar na compreensão dos riscos ambientais das nanopartículas, bem como o seu potencial de toxicidade em ecossistemas aquáticos. Segundo Sani-Kast *et al.* (2017), a matéria orgânica dissolvida é capaz de interagir com nanopartículas e modificar suas propriedades, podendo influenciar sua mobilidade e distribuição no ambiente. A interação das nanopartículas também pode ocorrer a nível celular, através de absorção por organismos aquáticos que se alimentam por filtração na água, como espécies de *Daphnia magna*, acarretando em problemas fisiológicos e morfológicos (LOVERN; KLAPER, 2006). Já Al-Jubory; Handy (2013) relataram a ingestão por adsorção de nanopartículas de dióxido de titânio (TiO₂) em frutas e Wang *et al.* (2013) estudaram a biodisponibilidade de nanopartículas de telureto de cádmio (CdTe) em alga de água doce, a espécie *Ochromonas danica*.

A bioconcentração, assim como a excreção de nanomateriais em animais, ainda são pouco conhecidos, contudo, acredita-se que a rota mais provável de entrada seja por adsorção, através da alimentação e respiração e a eliminação seja pelo fígado (LOVERN; KLAPER, 2006). Para a saúde dos humanos, também não existem ainda dados suficientes sobre os efeitos à exposição destes contaminantes. A falta de estudos sobre os efeitos toxicológicos de nanomateriais possui o obstáculo da falta de consenso em relação a padronização de testes com nanopartículas. Atualmente há diversas metodologias utilizadas, que ainda sofrerão modificações e outras que precisarão ser desenvolvidas (PASCHOALINO *et al.*, 2010).

Os primeiros ensaios de toxicidade com nanopartículas teve início na última década do século XX (PASCHOALINO *et al.*, 2010) e foi denominada de nanotoxicologia, que tem o sentido análogo à ecotoxicologia, mas com o intuito de compreender os efeitos de nanopartículas no meio ambiente, assim como a compreensão das rotas de inserção em organismos e ecossistemas aquáticos destes contaminantes (SELVARAJ *et al.*, 2018).

Apesar de possuir uma produção em larga escala, ainda é incipiente as leis de regulamentação da comercialização, produção e uso de nanopartículas, contudo, já existem países preocupados em implementar políticas que garantam o uso responsável de nanomateriais. A *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD), tem um programa intitulado *OECD's Working Party of Manufactured Nanomaterials* (WPMN), cuja finalidade é avaliar os riscos de exposição a nanomateriais, realizando uma padronização internacional (OECD, 2011). Em 2012, a Comissão Europeia implementou a Comunicação da Segunda Revisão Regulatória de Nanotecnologia, em que se pretende garantir o uso seguro de nanomateriais (OECD, 2013). A França regulamentou em 2013 a quantidade limite do uso de nanopartículas (< 100 gramas), sendo que o uso e a identificação da substância deve ser notificada ao Ministério da Ecologia, Desenvolvimento Sustentável e da Energia (OECD, 2013). Nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA), é o órgão governamental responsável pelo controle e liberação de nanomateriais no mercado, entretanto, as normas e regulamentações ainda não seguem um critério nacional e além da FDA, fica a cargo de cada estado verificar os riscos e a aceitação do uso desses materiais para comercialização (CANCINO *et al.*, 2014).

Como consequência dos múltiplos usos dos contaminantes emergentes já citados, os microplásticos também têm gerado inúmeros impactos no meio ambiente, já sendo encontrado em grandes quantidades no mar (IVAR DO SUL *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2014; PURCA; HENOSTROZA, 2017), no sedimento (GEROLIN *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2020), no ar (LIU *et al.*, 2019; KLEIN; FISCHER, 2019) e em organismos de ecossistemas de água doce (GARCIA *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Por ser um contaminante com grande potencial de contaminação, os microplásticos serão tratados de forma mais completa em outro capítulo deste livro (Capítulo 1).

MODELOS EXPERIMENTAIS DE TOXICIDADE

Bioindicadores: organismos para avaliar a qualidade do meio ambiente

As espécies utilizadas em testes ecotoxicológicos são denominadas de organismos-teste (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008). Estes são capazes de gerar respostas fisiológicas e morfológicas, devido ao nível de sensibilidade biológica desses bioindicadores (RAND *et al.*, 1995).

Em geral, os organismos-teste são indicativos da ocorrência de efeitos cumulativos de substâncias tóxicas no meio ambiente. A escolha do modelo pode variar de acordo com o compartimento que se deseja avaliar, já que determinados organismos incorporam contaminantes e os transportam por biomagnificação para o restante da cadeia trófica. Certos modelos, empregando como bioindicadores os vertebrados, como peixes, muitas mantidos em instalações de instituições de ensino e pesquisa, necessitam da aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUAs), regida pela Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 (BRASIL, 2008), garantindo o uso ético de animais em experimentos científicos e a coibição de maus tratos.

A seguir relacionamos os principais organismos-teste utilizados para avaliar a qualidade de ambientes aquáticos.

Fitoplâncton, zooplâncton e alga

Nos ecossistemas aquáticos, o fitoplâncton e o zooplâncton são fonte de alimento para os níveis mais altos da cadeia trófica, e o zooplâncton auxilia no controle da população de algas (GLIWICZ, 2004). A ausência do fitoplâncton e do zooplâncton sugere a presença de contaminantes na água, sendo fortes bioindicadores da qualidade do meio ambiente, assim como o comportamento das algas (MANICKAVASAGAM *et al.*, 2019). As espécies de algas mais utilizadas são *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* e *Raphidocelis subcapitata* (MARQUES; AMÉRICO-PINHEIRO, 2017; NONNO; MAGALHÃES, 2016; RAGASSI *et al.*, 2017). Em decorrência da importância do fitoplâncton para o ecossistema aquático, através da Diretiva Quadro da Água, a normativa europeia para a avaliação da qualidade da água, estabelece procedimentos de amostragem e análise do elemento de qualidade biológica fitoplâncton em sistemas lênticos, com vista à classificação do estado ecológico de lagos e do potencial ecológico de massas de água fortemente modificadas, os reservatórios (INAG, 2009).

Microrganismos

Os microrganismos podem ser utilizados como bioindicadores da qualidade da água em corpos hídricos. São vantajosos por possuírem crescimento rápido e obterem respostas físicas, químicas e biológicas na presença de contaminantes em baixas e altas concentrações, além de serem encontrados em abundância e cultivados com facilidade em laboratório (MANICKAVASAGAM *et al.*, 2019).

Existem diversos estudos com o uso de bactérias luminescentes de diversas espécies para avaliar o grau de toxicidade de efluentes através do estímulo de luminescência (HAMADA *et al.*, 2011; MASNER *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2017). O estímulo pode ser interrompido ou inibido se houver a presença de componentes tóxicos na água, contudo, a indicação de mudança no metabolismo celular da bactéria indica apenas a presença de uma toxina (MANICKAVASAGAM *et al.*, 2019).

Microcrustáceos e peixes

Os microcrustáceos são os bioindicadores mais utilizados, por serem amplamente distribuídos, possuírem fácil cultivo e manutenção. As principais espécies utilizadas são *Daphnia magna*, *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Hyalella azteca* (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2008). Microcrustáceos podem acumular substâncias tóxicas presentes no ambiente, que alteram a morfologia, reprodução e natalidade.

Os peixes como bioindicadores auxiliam no estudo de diferentes níveis tróficos, por possuírem amplos tamanhos e espécies variadas distribuídas geograficamente. Vários estudos que utilizaram peixes

como indicadores da presença de contaminantes, utilizam órgãos brânquias, para avaliar a exposição de contaminação (BATISTA *et al.*, 2018; CAMPOS; DAL-MAGRO *et al.*, 2018; DORIA *et al.*, 2017).

O uso de espécies bioindicadoras de diferentes níveis tróficos auxilia na compreensão dos efeitos de bioacumulação de substâncias tóxicas, sendo possível determinar os efeitos deletérios em toda a cadeia trófica do ecossistema (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2008).

Perífiton

Segundo Wetzel (1983), o termo perífiton se refere a um biofilme, representando uma complexa comunidade de microrganismos (algas, bactérias, fungos e animais), detritos orgânicos e inorgânicos aderidos a substratos inorgânicos ou orgânicos vivos ou mortos.

Por ser uma comunidade complexa, composta por diferentes espécies, além de seu papel como produtor primário, aliado a sua capacidade de reter nutrientes ou contaminantes presentes na coluna d'água, o perífiton é um bioindicador de potencial único para estudos ambientais (SOUSA, 2019; SOUSA *et al.*, 2019, 2021). Estes autores desenvolveram uma metodologia para cultivo do perífiton em tanques no laboratório (Fig. 2), visando seu uso em testes ecotoxicológicos. O método de cultivo proposto, com o uso de um aquário de 80 litros, foi capaz de criar um biofilme perífitico funcional, com todos os principais grupos presentes na comunidade utilizada como inóculo e homoganeamente distribuída no substrato artificial utilizado. Aliado à simplicidade da montagem do cultivo e operação, o preço final do sistema se mostrou muito competitivo com outras metodologias já utilizadas. Deste modo, a metodologia desenvolvida e os testes toxicológicos aplicado por Sousa (2019) e Sousa *et al.* (2019, 2021), foram satisfatórios em trazer novos dados para a compreensão do funcionamento de ecossistemas aquáticos contaminados, além de ter se mostrado prático, de baixo custo para ser replicado, o que auxiliará no desenvolvimento de um protocolo de avaliação da ecotoxicidade em ambientes aquáticos pelo uso do perífiton.

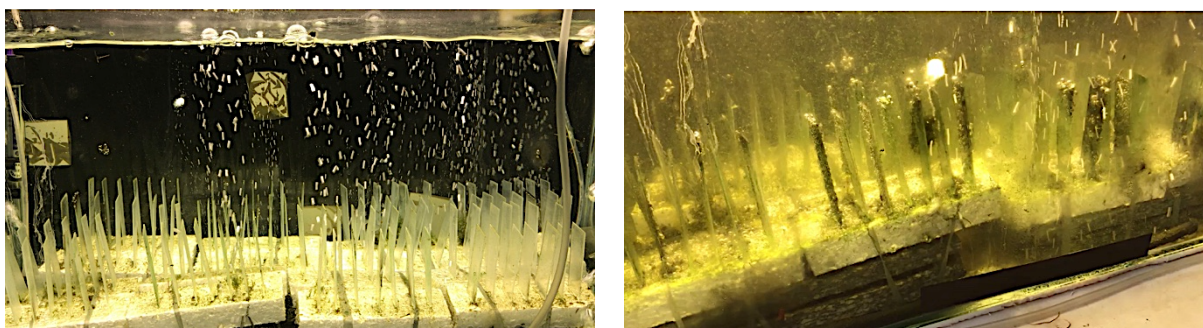


Figura 2: Cultivo de perífiton em lâminas de microscópio, utilizadas como substrato artificial para o desenvolvimento do biofilme, em tanque de cultivo, para uso em experimento de toxicidade ambiental. Fonte: Souza (2019).

ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E PROTOCOLOS PADRÕES

Os primeiros ensaios de toxicidade com organismos aquáticos começaram em 1920 e se intensificaram a partir da década de 40 (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008). Com o objetivo de se compreender melhor os efeitos causados pelos poluentes presentes no ambiente aquático, os ensaios ecotoxicológicos surgiram com o intuito de ser uma ferramenta adicional às análises químicas, que individualmente não são capazes de determinar os efeitos biológicos causados à biota local (SILVA *et al.*, 2015).

Atualmente, os ensaios de ecotoxicologia estão bem padronizados e existem inúmeros protocolos estabelecidos nacionalmente e internacionalmente (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008). No Brasil, os protocolos mais usuais para ensaios de ecotoxicologia realizados com água doce e sedimento, são padronizados pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008) (Tab. 1). Além das normas da ABNT, cada estado possui órgãos ambientais que padronizam protocolos estaduais de acordo com o ecossistema de cada região. A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) é o órgão

responsável pelo monitoramento ambiental no estado de São Paulo e, além de utilizar protocolos da ABNT, também possui protocolos próprios, padronizados pela instituição para a normatização de ensaios ecotoxicológicos (SILVA *et al.*, 2015). Na ausência de testes normatizados pela ABNT, existe a necessidade de se adaptar às reconhecidas normas vigentes para as espécies mais usuais com protocolos internacionais, como a *International Organization for Standardization (ISO)*, *American Society for Testing and Materials (ASTM)*, *American Public Health Association (APHA)*, *Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD)* e a *United States Environmental Protection Agency (US EPA)* e em dados presentes na literatura (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008; SILVA *et al.*, 2015).

Tabela 1: Normas brasileiras e organismos-teste utilizados em ensaios ecotoxicológicos em água doce.

Agência	Norma	Organismo-teste	Espécie	Efeito/Resposta	
				Água	Sedimento
ABNT	NBR 12713 (2009): Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade aguda – Método de ensaio com <i>Daphnia spp</i> (Crustacea, Cladocera)	Microcrustáceo	<i>Daphnia similis</i> <i>Daphnia magna</i>	Não tóxico	–
ABNT	NBR 13373 (2017): Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade crônica – Método de ensaio com <i>Ceriodaphnia spp</i> (Crustacea, Cladocera)	Microcrustáceo	<i>Ceriodaphnia dubia</i> <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	Não tóxico Tóxico agudo Tóxico crônico	–
ABNT	NBR 15470 (2007): Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade em sedimento - Método de ensaio com <i>Hyalella spp</i> (Amphipoda)	Microcrustáceo	<i>Hyalella azteca</i>	–	Não tóxico Tóxico agudo Tóxico crônico
ABNT	NBR 12648 (2011): Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)	Microalga	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Raphidocelis subcapitata</i>	Não tóxico	–
ABNT	NBR 15088 (2016): Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes (Cyprinidae)	Peixe	<i>Danio rerio</i>	Não tóxico Tóxico	–
ABNT	NBR 15499 (2007): Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes	Peixe	<i>Danio rerio</i>	Não tóxico Tóxico agudo Tóxico crônico	–
ABNT	NBR 15411-1(2012): Ecotoxicologia aquática - Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de <i>Vibrio fischeri</i> (ensaio de bactéria luminescente) Parte 1: Método utilizando bactérias recém-cultivadas	Bactéria luminescente	<i>Vibrio fischeri</i>	CE ₂₀	CE ₂₀
ABNT	NBR 15411-2(2012): Ecotoxicologia aquática - Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de <i>Vibrio fischeri</i> (ensaio de bactéria luminescente) Parte 2: Método utilizando bactérias desidratadas	Bactéria luminescente	<i>Vibrio fischeri</i>	CE ₂₀	CE ₂₀
ABNT	NBR 15411-3(2012): Ecotoxicologia aquática - Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão da bioluminescência de <i>Vibrio fischeri</i> (ensaio de bactéria luminescente) Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas	Bactéria luminescente	<i>Vibrio fischeri</i>	CE ₂₀	CE ₂₀
CETESB	L5.228: Teste de toxicidade aguda utilizando <i>Spirillum volutans</i> : método de ensaio	Bactéria	<i>Spirillum volutans</i>	Agudo	–

Nota: CE₂₀ (concentração efetiva da amostra testada que causa 20% de diminuição na emissão de luz)

A realização de ensaios ecotoxicológicos pode ter diversas finalidades como avaliar a sensibilidade dos organismos a determinadas substâncias químicas, assim como a sua toxicidade; avaliar os efeitos causados pelo despejo de resíduos industriais e domésticos; avaliar a qualidade da água e do sedimento; subsidiar novas normas e políticas para monitoramento ambiental; além de auxiliar no estabelecimento de novos limites para a definição de critérios de qualidade da água (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008).

Os ensaios de ecotoxicológicos são classificados de acordo com os efeitos que os organismos podem apresentar ao longo do período de exposição, sendo agudos ou crônicos, podendo ser realizados *in situ* (em campo) ou *ex situ* (em laboratório), mais detalhados nos tópicos seguintes.

Ensaio agudo

Os efeitos de toxicidade aguda sofridos pela exposição de organismos-teste a agentes químicos são em geral rápidos e agressivos e se manifestam em curtos períodos de tempo, podendo ser horas ou dias (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008). A menor dose ou concentração de um agente tóxico em testes de toxicidade aguda visam produzir a letalidade ou imobilidade dos organismos-teste, em relação ao seu ciclo de vida (COSTA *et al.*, 2008). Por apresentarem respostas biológicas e ecológicas distintas, normalmente utiliza-se da letalidade para espécies de organismos-teste vertebrados e imobilidade para espécies de invertebrados (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008).

Os efeitos resultantes de toxicidade aguda podem ser medidos através de valores quantitativos de CE₅₀ (Concentração Efetiva Média a 50% dos organismos no tempo de exposição de 24h ou 48h) e CL₅₀ (Concentração Letal Média que causa mortalidade de 50% dos organismos no tempo de exposição de 24h a 96h) ou qualitativos, considerando tóxico ou não tóxico (COSTA *et al.*, 2008).

A menor concentração ou dose de um agente químico capaz de reproduzir uma resposta aguda indica que há um maior risco de exposição que uma dada substância oferece ao meio ambiente. Assim, em ecossistemas aquáticos, os efeitos agudos se apresentam quando há despejo indevido de poluentes químicos, aplicação inadequadas de agrotóxicos pelo ar, que carregadas pelo vento, atingem os corpos hídricos, além da descarga de efluentes industriais ou de esgoto doméstico não tratado (ALBINATI *et al.*, 2007; HEDAYATI *et al.*, 2017; MAZIERO *et al.*, 2016; RAND *et al.*, 1995).

Ensaio crônico

Em ambientes aquáticos, os efeitos agudos à exposição de poluentes nem sempre indicam que existe toxicidade no ecossistema (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008). Desta forma, os testes de toxicidade crônica surgiram com o intuito de avaliar os efeitos crônicos mais adversos que substâncias subletais podem causar em longo prazo (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008; COSTA *et al.*, 2008).

Testes de toxicidade crônica investigam a sensibilidade de organismos-teste à exposição prolongada de substâncias subletais, exceto o controle, sem exposição desse agente, por um período que pode ser todo o ciclo de vida do organismo (embrião a adulto) ou apenas parte do ciclo (embrião, larva e adulto), avaliando efeitos como reprodução, crescimento, deformidades morfológicas ou inibição bioquímica (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008; DALZUCHIO *et al.*, 2016).

Os resultados obtidos em testes de toxicidade crônica podem ser expressos como CENO (Concentração de Efeito não Observado, em concentrações elevadas de um agente tóxico, não causa efeito deletério estatisticamente significativo nos organismos, em um período de exposição de 7 dias) ou CEO (Concentração de Efeito Observado, em um período de exposição de 7 dias a um agente tóxico em baixas concentrações causa efeito deletério estatisticamente significativo aos organismos) (ADAMS; ROWLAND, 2003; COSTA *et al.*, 2008).

Em ecossistemas aquáticos, cuja mistura de substâncias é complexa e recebe, muitas vezes, despejo constante de poluentes, os organismos sofrem efeitos crônicos continuamente por longos períodos de tempo, mesmo em baixas concentrações (NOVAES *et al.*, 2018; RAND *et al.*, 1995; TOMITA; BEYRUTH, 2002), o que indica a necessidade dos experimentos com ensaios crônicos.

Ensaios em escala micro e mesocosmo

Os testes ecotoxicológicos podem ser realizados em fluxo contínuo, estáticos, semiestáticos ou realizados diretamente em campo (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008; COSTA *et al.*, 2008). Os ensaios em fluxo contínuo são mais complexos, porém, muito mais precisos em relação à estimativa da toxicidade da substância (ARAGÃO; ARAÚJO, 2008). Os ensaios estáticos são realizados em testes com períodos de duração mais curtos (24h a 96h), pois não é feita a renovação das soluções-teste nem a alimentação aos organismos testados (COSTA *et al.*, 2008). Já em ensaios semiestáticos, é feita a renovação das soluções-

teste com intervalos de 24h, 48h ou 72h, além de alimentação diária ou na troca das soluções (COSTA *et al.*, 2008). Os ensaios semiestáticos são mais usuais em testes com períodos de exposição mais longos (168h). Os ensaios realizados diretamente em campo são mais complexos e não podem ser realizados com qualquer organismo, além de haver a necessidade de ser realizados paralelamente ensaios em laboratório para avaliação de efeitos adversos não observados em campo (RAND *et al.*, 1995).

A fim de tornar os ensaios de toxicidade mais realistas, utiliza-se abordagens multi-espécies (população e/ou comunidades) e testes *in situ* (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008), possibilitando analisar a complexidade dos efeitos dos contaminantes em ambientes naturais (lagoas, lagos, rios e córregos) e em tempo real de propagação de substâncias tóxicas (horas, dias, semanas ou anos) (BOUDOU; RIBEYRE, 1997). Os ensaios realizados em campo, permitem gerar informações mais realistas dos obtidos em laboratório, e os mesocosmos são efetivos na tentativa de simular o estresse que os contaminantes causam sobre os organismos e o ambiente aquáticos (BEJARANO *et al.*, 2005) (Fig. 3).

Outra abordagem do uso de multi-espécies mais simplista, é realizado *ex situ*, em laboratório, com um modelo experimental bem definido e testes ecotoxicológicos com espécies únicas, avaliando os fatores bióticos e abióticos (BOUDOU; RIBEYRE, 1997). O microcosmo aquático permite avaliar as interações ecológicas que os organismos sofrem com os estressores causados pelos contaminantes ambientais (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

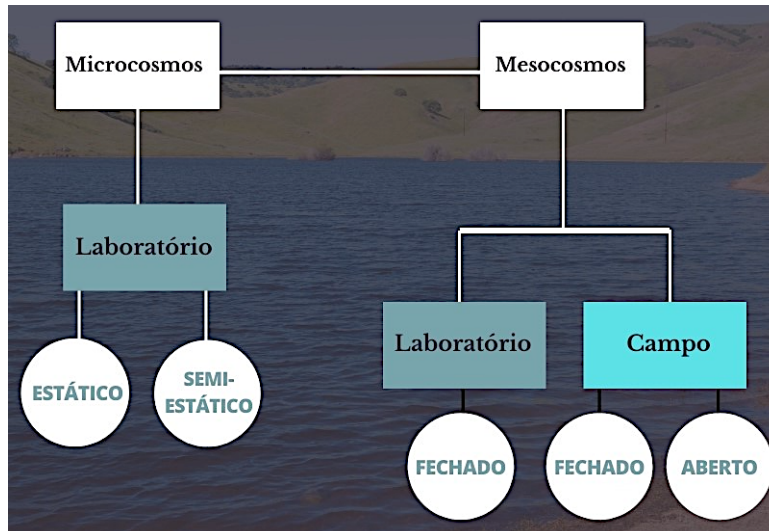


Figura 3: Sistemas de exposição de experimentos com organismos. Fonte: Autores.

EFEITOS INTERATIVOS DE CONTAMINANTES SOBRE ORGANISMOS AQUÁTICOS

As relações que ocorrem entre um poluente e o efeito causado em um organismo consistem na obtenção de informações que possibilitam a detecção prévia à exposição de contaminantes através do biomonitoramento ambiental (MARKERT, 1996). De modo geral, a avaliação biológica da exposição de poluentes através do uso de bioindicadores se dá através da relação entre um poluente e um organismo, contudo, ambos interagem com outros compartimentos do ecossistema e detectar as informações corretas sobre as reais mudanças fisiológicas ou morfológicas torna o processo ainda mais difícil.

No ecossistema, os compostos tóxicos ingressam na cadeia trófica por absorção nos organismos que compõem a base da cadeia alimentar, como o plâncton, sofrendo biomagnificação no ambiente. Os organismos primários são alimentos de organismos maiores, assim, os contaminantes vão se acumulando ao longo de toda a cadeia alimentar e sua concentração e exposição no meio ambiente se altera ao longo do tempo (MARKERT; WÜNSCHMANN, 2011).

Os estudos ecotoxicológicos abrangem a ação de poluentes em vários compartimentos do ecossistema aquáticos, enquanto o biomonitoramento ambiental permite avaliar os efeitos tóxicos no ambiente como um todo (LAM, 2009). Os efeitos interativos de um poluente A com um poluente B, embora provável, é certo que não interage sinergicamente ou antagonicamente entre si. Além disso, o poluente A pode afetar mais o ecossistema como um todo do que apenas um único organismo bioindicador (MARKERT; WÜNSCHMANN, 2011; MARKERT 1996). Dessa forma, para avaliar os efeitos causados por agentes tóxicos, é necessário conhecer o processo de toxicodinâmica, ou seja, é imprescindível conhecer os mecanismos que a substância química sofre no ambiente, para então identificar os efeitos deletérios no biomonitoramento (BERNARD; LAUWERYS, 1986). A avaliação prévia e identificação das possíveis rotas dos contaminantes podem contribuir no biomonitoramento ambiental.

BIOMARCADORES DE EFEITO/RESPOSTA

Bioindicadores e biomarcadores normalmente são usados como sinônimos e possuem variadas definições, contudo, aqui usaremos a definição de biomarcador como parâmetro biológico para se referir as respostas produzidas a nível molecular, celular, fisiológico e histológico (MARKERT; WÜNSCHMANN, 2011). Assim, um biomarcador indica a biotransformação que uma substância é capaz de provocar em um organismo, como a sua estrutura bioquímica, tecidos ou fluídos biológicos (AMORIM, 2003).

O uso de biomarcadores na avaliação de efeitos tóxicos pode variar de acordo com a finalidade do estudo e da exposição da substância química avaliada. Normalmente, utilizam-se os biomarcadores com a finalidade de se esclarecer os efeitos/resposta, em relação à causa e dose-efeito. Desta maneira, os biomarcadores podem ser aplicados em monitoramento ambiental, de maneira pontual ou periódica (AMORIM, 2003).

Na avaliação ambiental, os biomarcadores fornecem resposta em relação a exposição à uma substância química. Os parâmetros indicativos de disfunção biológica nos biomarcadores permitem validar a sensibilidade e a especificidade de cada biomarcador, a nível individual ou populacional (AMORIM, 2003). Assim, independente da utilização, os biomarcadores podem ser classificados em (SOGORB *et al.*, 2014):

- biomarcadores de exposição (ou dose interna), indicam a disposição do agente químico através do organismo;
- biomarcadores de efeito são medidos no organismo e relacionam a interação da substância tóxica com os receptores biológicos;
- biomarcadores de suscetibilidade apontam quais causas influenciam no aumento ou na diminuição da predisposição de alterar a resposta genética no organismo.

Essas três categorias são fundamentadas na toxicologia, sendo intrinsecamente pertencente a cada classificação. Entretanto, dependendo do estudo, as categorias podem se embutir uma a outra, de acordo com o contexto toxicológico analisado (MANNO *et al.*, 2010).

Como os biomarcadores são ferramentas muito utilizadas em diversos âmbitos nos estudos de toxicidade ambiental, sua importância e demais usos deste parâmetro biológico serão discutidos em outro capítulo (Capítulo 7).

A Tab. 2 apresenta um levantamento de artigos que utilizaram organismos bioluminescentes como organismos-teste para o monitoramento ambiental, e as possíveis aplicações utilizando o gene *lux*, como as modificações genéticas em organismos de ambientes terrestres para a expressão do gene.

As aplicações de organismos biossensores e o biomonitoramento podem ser inúmeras, ainda mais quando combinados com a modificação genética, que pode modular a sensibilidade a determinadas substâncias. O uso da luminescência para avaliação da toxicidade mostra-se relevante, pois os ensaios são de curta duração e de baixo custo, em comparação aos demais. Também vale salientar que a utilização de organismos em diferentes níveis tróficos para uma mesma amostra, pode demonstrar o comportamento da toxicidade em diferentes níveis organizacionais (bioacumulação) dentro do ambiente avaliado.

Tabela 2: Estudos que utilizam bioluminescência como ferramenta para o biomonitoramento em ambientes aquáticos.

Estudo	Local do estudo	Substância	Organismo	Tipo de ensaio	Resultados
Development of bioluminescent bioindicators for analysis of environmental pollution. Kudryasheva et al. (1998)	Rússia	Quinona (derivados de compostos aromáticos: bezenoquinona, Toluquinona, Timoquinona, Naftaquinona, 1,4-antraquinona, 9,10-antraquinona). Fenol (hidroquinona, Resorcina, Pirocatecol). Sais metálicos (Li, Na, K, Mg, Ca, Ba, Mn, Co, Ni, Fe, Cr, Cu, Zn, Ag, Hg, Al, Sn, Bi, Pb)	Bactéria <i>Photobacterium phosphoreum</i>	In vitro: 4 tipos de testes em gel com enzimas bioquímicas [(1) sistema enzimático acoplado solúvel em água NADH: FMN-oxidoreductase-luciferase, (2) gel de amido imobilizado sistema enzimático acoplado NADH: FMN-oxidoreductase-luciferase, (3) o sistema enzimático triplo ADH-NADH: FMN-oxidoreductase-luciferase (reação direta de ADH), (4) o sistema enzimático triplo ADH – NADH: FMN-oxidoreductase-luciferase (reação reversa do ADH)]. In vivo: cultura bacteriana	Todas as substâncias apresentaram graus de inibição da luminescência, ou seja, efeito tóxico. Sendo que as quinonas foram mais tóxicas em todos os tratamentos, em relação os fenóis ou aos metais. Alguns destes metais, como Mg, Ca e Ba até mesmo estimularam uma maior luminosidade. As misturas não apresentaram resultados conclusivos e demandam de mais estudos, pois ambientalmente são os mais relevantes para o monitoramento. Os sistemas que apresentaram os melhores resultados de sensibilidade foram 1, 2 e 5.
Ecological and Laboratory Studies on the Role of Luminous Bacteria and their Luminescence in Coastal Pollution Surveillance. Ramaiah & Chandramohan (1993)	Índia	Sedimento e água estuarinos, além dos organismos coletados para avaliação (Zooplacton, peixes, macroinvertebrado, crustáceos e moluscos)	<i>Bactérias (Vibrio harveii, V. fischeri e Photobacterium leiognathi)</i>	As bactérias foram isoladas em meio de cultura líquido das amostras ambientais e de organismos. Estas culturas foram submetidas a 53 compostos químicos como álcools, aminas, aldeídos, antibióticos, sais metálicos, fenóis, pesticidas e entre outros químicos.	Pontos de coleta próximos de rios de áreas industrializadas apresentam baixa diversidade bacteriana luminescente nas amostras ambientais (sedimentos e água) e nas amostras biológicas (organismos). Todas as substâncias testadas causaram algum nível de inibição de luminescência, mais 21 compostos apresentaram inibições maiores que 50% da emissão da luz em 20 segundos.
The use of bioluminescent dinoflagellates as an environmental risk assessment tool. Lapota et al. (2007)	Estados Unidos	Sedimento e lixiviado	Dinoflagelados (<i>Lingulodinium polyedrum, Gonyaulax polyedra, Ceratocorys horrida, Pyrocystis noctiluca, Pyrocystis lunula, Pyrocystis fusiformis, e Pyrophacus stienii</i>)	Os organismos foram expostos às extrações das amostras de sedimentos e o lixiviado de diferentes pontos de coleta, em ensaios entre 24h a 96h.	Foi observado a de inibição da luminescência dos organismos, tanto para o lixiviado quanto para a extração dos sedimentos. A comparação dos dinoflagelados com ensaios clássicos com larvas de ouriço, bactéria <i>Vibrio fischeri</i> e anfípodos se mostrou muito eficiente. Os protistas flagelados apresentaram uma sensibilidade alta e mais uma alternativa de organismo teste, além de ser um organismo fitoplânctonico que está na base alimentar de vários organismos.
Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria. Girotti et al. (2008)	Itália	Diferentes matrizes ambientais e substâncias químicas	<i>Daphnia magna, Vibrio fischeri, Chlorella vulgaris, Allium cepa</i> , cultura celular de macaco e de truta	Revisão bibliográfica comparando a eficiência entre as bactérias bioluminescente e outros tipos de ensaios com organismos	Os ensaios com organismos bioluminescentes são sensíveis o suficiente para detectar compostos em baixas concentrações, que pode ser tóxico para os humanos e para todo o meio ambiente. O interesse nestes organismos é pungente pela facilidade, rápida resposta e alta sensibilidade, a utilização destes organismos para monitoramento ambiental é viável.
<i>Vibrio fischeri</i> bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: A review. Abbas et al. (2018)	Paquistão	Matrizes ambientais, medicamentos, poluentes, efluentes, metais tóxicos, agrotóxicos, fenóis, micotoxinas, fitoterápicos, hormônios e subprodutos	<i>Vibrio fischeri</i>	Revisão bibliográfica da aplicação dos ensaios de toxicidade e de sensibilidade com <i>Vibrio fischeri</i>	Os ensaios com <i>V. fischeri</i> se mostram viáveis pela técnica facilitada e viabilidade econômica, também podem ser utilizados como organismo de triagem da viabilidade ecotoxicológica de substâncias potencialmente deletérias, e da possibilidade de automação do ensaio, sendo um diferencial dos ensaios biológicos. Os autores levantaram os possíveis limitadores da utilização, principalmente dos ensaios de curta duração se mostraram menos sensíveis principalmente com antibióticos, e além do fato que é necessário uma preparação prévia das amostras para a realização dos ensaios, outro ponto levantado, foi que as misturas complexas que podem ter efeitos sinérgicos ou antagônicos, e assim, gerar possíveis resultados inconclusivos.
Review of Bioluminescence for Engineers and Scientists in Biophotonics. Widdler e Falls (2014)	Estados Unidos	Poliuição marinha	<i>Photobacterium phosphoreum, Escherichia coli modificada, Vibrio fischeri</i>	Revisão bibliográfica sobre bioluminescentes e possíveis aplicações da biofotônica como tecnologia do monitoramento ambiental	As autoras ressaltam que a EPA-US (agência ambiental) faz o monitoramento de uma gama de substâncias mas que talvez não seja o suficiente, ainda mais se levamos em conta a complexidade das misturas. A utilização de microrganismos bioluminescentes dá uma resposta além da inibição do crescimento, eles fornecem uma resposta bioquímica que fomenta respostas subletais. Os ensaios já são bem difundidos e com protocolos bem estabelecidos. Em estudo citado, observaram a que existe uma relação inversa da dos resultados de toxicidade com a abundância de organismos bentônicos, ou seja, quanto maior a toxicidade do sedimento, menor era a abundância do bentos. A utilização de organismos bioluminescentes é uma boa ferramenta e pode ter várias aplicações biofotônicas

Tabela 2: Continuação.

Bioluminescent Bacteria: Lux Genes As Environmental Biosensors. Nunes-Halldorson e Duran (2003)	Brasil	Amostras ambientais	<i>Vibrio fischeri</i> , <i>Vibrio harvevi</i> , <i>Photobacterium leiognathi</i> , <i>Pseudomonas oleovorans</i>	Revisão bibliográfica sobre aplicações da bioluminescência e a utilização do gene lux na microbiologia ambiental com a utilização do teste de toxicidade Microtox	As autoras levantam a importância do conhecimento do gene Lux e da utilização dos organismos bioluminescentes para monitoramento ambiental. A aplicação deste gene em organismos geneticamente modificados é uma solução interessante como biossensores. Os resultados são expressos como valores de concentração efetiva 50% de redução na emissão de luz sendo o parâmetro para determinação da toxicidade. As aplicações biotecnológicas de organismos bioluminescentes são emergentes e, para o monitoramento ambiental, as aplicações vão além do monitoramento de corpos hídricos.
Engineering the metal sensitive sites in <i>Macrolampis sp2</i> firefly luciferase and use as a novel bioluminescent ratiometric biosensor for heavy metals. Gabriel e Viviani (2016)	Brasil	níquel, zinco e mercúrio	<i>Macrolampis sp2</i> (vagalume) e <i>E. coli</i>	Modificação do gene de luciferase do vagalume para aumentar a sensibilidade a metais tóxicos e, a incorporação do gene na bactéria <i>E. coli</i> como possível biossensor.	A incorporação do gene responsável pela produção da luciferase no vagalume em bactérias se mostrou potencialmente inovador, para o uso deste microrganismo em biomonitoramento. A expressão também foi modulada para metais tóxicos e também para o comprimento de onda desta emissão (análise radiométrica). Os sítios modificados foram essenciais para determinar a toxicidade intracelular dos metais em dois comprimentos de ondas diferentes. Fica evidenciado que a utilização da biotecnologia será mais uma ferramenta no monitoramento mediado por organismos.
Bacterial bioluminescence in marine pollution assessment. Ramaiah e Chandramohan (1994)	Índia	53 substâncias	<i>Vibrio fischeri</i> , <i>Vibrio harvevi</i> , <i>Photobacterium leiognathi</i> e <i>E. coli</i>	CE 50% aguda de curta duração	Os autores introduziram o gene Lux de bactérias marinhas para <i>E. coli</i> e levantaram as possíveis aplicações destes organismos em escala industrial para o biomonitoramento como indicador de possível toxicidade em ambientes aquáticos terrestres. Saliem também a alta sensibilidade dos organismos a concentrações baixíssimas de substâncias, sendo mais relevantes ambientalmente.
Comparison of Bioluminescent Dinoflagellate (QwikLite) and Bacterial (Microtox) Rapid Bioassays for the Detection of Metal and Ammonia Toxicity. Rosen et al. (2008)	Estados Unidos	Ag+ (AgNO ₃), Hg ³⁺ (HgCl ₃), Cu ²⁺ (CuSO ₄ 5H ₂ O), Zn ²⁺ (ZnSO ₄ 7H ₂ O), Pb ²⁺ (PbCl ₂), Cd ²⁺ (CdCl ₂ 2.5H ₂ O), Cr ⁶⁺ (K ₂ Cr ₂ O ₇).	Dinoflagelados: <i>Lingulodinium polyedrum</i> , <i>Ceratocorys horrida</i> , <i>Pyrocystis noctiluca</i> . Bactéria: <i>Vibrio fischeri</i>	QwikLite e Microtox	Os resultados do teste QwikLite se mostrou semelhante ou mais sensível do que os testes com peixe, crustáceo e molusco. Em relação ao Microtox, ele se mostrou mais sensível apenas ao mercúrio em comparação ao QwikLit. Este ensaio com dinoflagelados (QwikLite) é interessante pela sensibilidade, alta reprodutibilidade, baixo custo e se mostra viável para processar grandes quantidades de amostras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A interação de contaminantes com os organismos aquáticos pode ser respondida através do uso da ecotoxicologia, como ferramenta para avaliar o grau de toxicidade de substâncias tóxicas presentes em diferentes níveis tróficos da cadeia. A avaliação do potencial tóxico pode ser realizada com organismos-teste e biomarcadores distintos, definidos de acordo com o compartimento ambiental escolhido, visando compreender as alterações nas características a nível morfológico e celular.

Os diferentes contaminantes emergentes apresentados nesta publicação indicam a necessidade de constante monitoramento *ex situ* e *in situ*, uma vez que a incipiente legislação contribui para que seu uso e comercialização continuem avançando sem regulamentação. Além disso, a falta de métodos padronizados internacionalmente para ensaios ecotoxicológicos com estes contaminantes dificulta a compreensão dos reais efeitos bióticos e abióticos causados através de constante exposição.

A avaliação do impacto de poluentes em organismos aquáticos na presença de diferentes contaminantes em distintas rotas de exposição indica a evidente necessidade da constante contribuição de estudos científicos para a prevenção e controle de agentes tóxicos no ambiente.

REFERÊNCIAS

ABBAS, M.; ADIL, M.; EHTISHAM-UL-HAQUE, S.; MUNIR, B.; YAMEEN, M.; GHAFAR, A.; SHAR, G. A.; TAHIR, M. A.; IQBAL, M. *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: a review. **Science of The Total Environment**, v. 626, p. 1295-1309, 2018.

ADAMS, W. J.; ROWLAND, C. D. Aquatic toxicology test methods. In: HOFFMAN, D. *et al.* (orgs.). **Handbook of ecotoxicology**. Washington, DC.: Lewis Publishers, 2003. cap. 2, p.19-44.

ADEEL, M.; SONG, X.; WANG, Y.; FRANCIS, D.; YANG, Y. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review. **Environmental International**, v. 99, p.107-119, 2017.

AL-JUBORY, A. R.; HANDY, R. D. Uptake of titanium from TiO₂ nanoparticle exposure in the isolated perfused intestine of rainbow trout: nystatin, vanadate and novel CO₂-sensitive componentes. **Nanotoxicology**, v. 7, n. 2, p. 1282-1301, 2013.

ALBINATI, A. C. L.; MOREIRA, E. L. T.; ALBINATI, R. C. B.; CARVALHO, J. V.; SANTOS, G. B.; LIRA, A. D. Toxicidade aguda do herbicida roundup® para piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 3, p. 184-192, 2007.

ALBUQUERQUE, F. P.; OLIVEIRA, J. L.; SANTOS-MACHADO, L.; RICHARDI, V. S.; SILVA, M. A. N.; POMPÊO, M.; FRACETO, L. F.; CARLOS, V. M. Use of nontarget organism *Chironomus sancticaroli* to study the toxic effects of nanoatrazine. **Ecotoxicology**, v. 30, p. 733-750, 2021.

ALVES, J.; DIAS, L.; MATEUS, J.; MARQUES, J.; GRAÇAS, D.; RAMOS, R.; SELDIN, L.; HENRIQUES, I.; SILVA, A.; FOLADOR, A. Resistome in Lake Bolonha, Brazilian Amazon: identification of genes related to resistance to broad-spectrum antibiotics. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 67, 2020.

AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 6, n. 2, p. 158-170, 2003.

AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187-204, 2013.

ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. In: ZAGATTO, A. P.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: Editora RiMa, 2008. cap. 6, p. 117-152.

ARAÚJO, F. G.; MORADO, C. N.; PARENTE, T. T. E.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; GOMES, I. D. Biomarkers and bioindicators of the environmental condition using a fish species (*Pimelodus maculatus*, Lacepède, 1803) in a tropical reservoir in Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 351-359, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR: 12648**: ecotoxicologia aquática: método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR: 12713**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda: método de ensaio com *Daphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR: 13373**: ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica: método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR: 15088**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda: método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR: 15308**: ecotoxicologia aquática: método de ensaio com misídeos (Crustácea). Rio de Janeiro, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR: 15411-1**: ecotoxicologia aquática: determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente). Parte 1: método utilizando bactérias recém-cultivadas. Rio de Janeiro, 2012a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR: 15411-2**: ecotoxicologia aquática: determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente). Parte 2: método utilizando bactérias desidratadas. Rio de Janeiro, 2012b.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR:** 15411-3: ecotoxicologia aquática: determinação do efeito inibitório de amostras de águas sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente). Parte 3: método utilizando bactérias liofilizadas. Rio de Janeiro, 2012c.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR:** 15470: ecotoxicologia aquática: toxicidade em sedimento: método de ensaio com *Hyalella* spp. (Amphipoda). Rio de Janeiro, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR:** 15499: ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica de curta duração: método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2007.

BATISTA, J. R.; RODRIGUES, G. Z. P.; NETO, E. R.; GEHLEN, G.; SILVA, L. B. Analysis of histopathological abnormalities in the gills of *Astyanax jacuhiensis* (Characidae) for assessment of water quality in the Ijuí River, southern Brazil. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 26, n. 3, p. 99-103, 2018.

BEJARANO, A. C.; PENNINGTON, P. L.; DELORENZO, M. E.; CHANDLER, G. T. Atrazine effects on meiobenthic assemblages of a modular estuarine mesocosm. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 1398-1404, 2005.

BERNARD, A.; LAUWERYS, R. Assessment of human exposure to chemicals through biological monitoring. In: KOPFLER F. C.; CRAUN, G. F. (eds.). **Environmental Epidemiology**. Chelsea: Lewis Publ., 1986. p. 17-28.

BLAISE, C. Introduction to ecotoxicological concepts. In: **Proceedings of Biological Testing and Hazard Assessment**. Environmental Canada, 1984. p. 11-47.

BONADA, N.; PRAT, N.; RESH, V.H.; STATZNER, B. Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 495-523, 2006.

BORRELY, S. I.; CAMINADA, S. M. L.; PONEZI, A. N.; SANTOS, D. R.; SILVA, V. H. O. Contaminação das águas por resíduos de medicamentos: ênfase ao cloridrato de fluoxetina. **O Mundo da Saúde**, v. 36, n. 4, p. 556-563, 2012.

BOUDOU, A.; RIBEYRE, F. Aquatic ecotoxicology: from the ecosystem to the cellular and molecular levels. **Environmental Health Perspectives**, v.105, suppl. 1., p. 21-35,1997.

BRASIL. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 dez. 2008. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm. Acesso em: 08 out. 2020.

BRASIL. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 dez. 2011. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html#:~:text=Dispõe%20sobre%20os%20procedimentos%20de,e%20seu%20padrão%20de%20potabilidade.&text=1%20Esta%20Portaria%20dispõe,e%20seu%20padrão%20de%20potabilidade. Acesso em: 02 out. 2020.

BRASIL. Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 07 maio 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>. Acesso em: 02 jun. 2021.

CAMPOS, S. A. B.; DAL-MAGRO, J.; SOUZA-FRANCO, G. M. Metals in fish of different trophic levels in the area of influence of the AHE Foz do Chapecó reservoir, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 26330-26340, 2018.

CANCINO, J.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTI, V. Nanotecnologia em medicina: aspectos fundamentais e principais preocupações. **Química Nova**, v. 37 n. 3, p. 521-526, 2014.

CARSON, R. **Silent Spring**. Boston: Houghton Mifflin, 1962.

COELHO, L. H. G.; JESUS, T. A.; KOHATSU, M. Y.; POCCIA, T. G.; CHICAROLLI, V.; HELWING, K.; HUNTER, C.; ROBERTS, J.; TEEDON, P.; PAHL, O. Estrogenic hormones in São Paulo waters (Brazil) and their relationship with environmental variables and *sinapis alba* phytotoxicity. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, 150, 2020.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Norma Técnica L5.228**: teste de toxicidade aguda utilizando *Spirillum volutans*: método de ensaio. São Paulo:CETESB, 2001.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

DALZOCCHIO, T.; RODRIGUES, G. Z. P.; PETRY, I. E.; GEHLEN, G.; SILVA, L. B. The use of biomarkers to assess the health of aquatic ecosystems in Brazil: a review. **Internationl Aquatica Research**, v. 8, p. 283-298, 2016.

DOMINGUES, D. F.; BERTOLETTI, E. Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos. In: ZAGATTO, A. P.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática**: princípios e aplicações. São Carlos: Editora RiMa, 2008. cap. 8, p.153-184.

DORIA, H. B.; VOIGT, C. L.; CAMPOS, S. X.; RANDI, M. A. F. Metal pollution assessment in a Brazilian hydroelectric reservoir: *Geophagus brasiliensis* as a suitable bioindicator organismo. **Revista Ambiente & Água**, v. 12 n. 4, p.575-590, 2017.

GABRIEL, G. V. M.; VIVIANI, V. R. Engineering the metal sensitive sites in *Macrolampis* sp2 firefly luciferase and use as a novel bioluminescent ratiometric biosensor for heavy metals. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, p. 8881-8893, 2016.

GARCIA, T. D.; CARDOZO, A. L.; QUIRINO, B. A.; YOFUKUJI, K. Y.; GANASSIN, M. J. M.; SANTOS, N. C. L.; FUGI, R. Ingestion of microplastic by fish of different feeding habits in urbanized and non-urbanized streams in southern Brazil. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, 434, 2020.

GAVRILESCU, M.; DEMNEROVÁ, K.; AAMAND, J.; AGATHOS, S.; FAVA, F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 147-156, 2015.

GEROLIN, C. R.; PUPIM, F. N.; SAWAKUCHI, A. O.; GROHMANN, C. H.; LABUTO, G.; SEMESATTO, D. Microplastics in sediments from Amazon rivers, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 749, 141604, 2020.

GIROTTI, S.; FERRI, E. N.; FUMO, M. G.; MAIOLINI, E. Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria. **Analytica Chimica Acta**, v. 608, n. 1, p. 2-29, 2008.

GLIWICZ, Z. M. Zooplankton. In: O'SULLIVAN, P. E.; REYNOLDS, C. S. (eds.). **The lakes handbook**: limnology and limnetic ecology. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 461-516.

HAMADA, N.; MESQUITA, L. C. A.; PEREIRA, I. W.; NAKANO, E.; BORRELY, S. I.; TALLARICO, L. F. Avaliação ecotoxicológica da Estação de Tratamento de Esgotos Suzano (São Paulo) utilizando *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, p. 31-35, 2011.

HEDAYATI, A.; YALSUYI, A. M.; VAJARGAH, M. F. Acute toxicity test as a method to assessment toxicity of pollutants. **Annals of Aquaculture and Research**, v. 4, n. 2, p. 36, 2017.

HOFFMAN, D. J. Wildlife toxicity testing. In: HOFFMAN, D. J. *et al.* (orgs.). **Handbook of Ecotoxicology**. 2. ed. Washington, D. C.: Lewis Publishers, 2003. p. 76-110.

HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JR., G. A.; CAIRNS JR., J. Introduction. In: HOFFMAN, D. J. *et al.* (orgs.). **Handbook of Ecotoxicology**. 2. ed. Washington, D. C.: Lewis Publishers, 2003. p. 1-16.

INAG, I. P. Manual para a avaliação da qualidade biológica da água em lagos e albufeiras segundo a directiva quadro da águas: protocolo de amostragem e análise para o Fitoplâncton. Lisboa: Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional/Instituto da Água, 2009. 65p. Disponível em: http://www.azores.gov.pt/NR/rdonlyres/58C82AF7-D067-4240-92C0-3EE2812BA754/388316/Fitoplncntn_amostragemRelfinalpdf.pdf. Acesso em: 14 jun. 2021.

IVAR DO SUL, J. A.; COSTA, M. F.; FILLMANN, G. Microplastics in the pelagic environment around oceanic islands of the Western Tropical Atlantic Ocean. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, 2004, 2014.

JAIN, P.; PRADEEP, T. Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as na antibacterial water filter. **Biotechnology And Bioengineering**, v. 90, n. 1, p. 59-63, 2005.

- KLEIN, M.; FISCHER, E. K. Microplastic abundance in atmospheric deposition within the Metropolitan area of Hamburg, Germany. **Science of The Total Environment**, v. 685, p. 96-103, 2019.
- KUDRYASHEVA, N.; KRATASYUK, V.; ESIMBEKOVA, E.; VETROVA, E.; KUDINOVA, I. Development of the bioluminescent bioindicators for analyses of pollutions. **Field Analytical Chemistry & Technology**, v. 2, n. 5, p. 277-280, 1998.
- LAM, P. K. S. Use of biomarkers in environmental monitoring. **Ocean & Coastal Management**, v. 52, p. 348-354, 2009.
- LAPOTA, D.; OSORIO, A. R.; LIAO, C.; BJORN DAL, B. The use of bioluminescent dinoflagellates as an environmental risk assessment tool. **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, n. 12, p. 1857-1867, 2007.
- LI, L.; ZHENG, B.; LIU, L. Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: definitions, approaches and trends. **Procedia Environmental Sciences**, v. 2, p. 1510-1524, 2010.
- LIMA, A. R. A.; COSTA, M. F.; BARLETTA, M. Distribution patterns of microplastics within the plankton of a tropical estuary. **Environmental Research**, v. 132, p. 146-155, 2014.
- LIU, K.; WU, T.; WANG, X.; SONG, Z.; ZONG, C.; WEI, N.; LI, D. Consistent transport of terrestrial microplastics to the ocean through atmosphere. **Environmental Science & Technology**, v. 53, n. 18, p. 10612-10619, 2019.
- LOCATELLI, M. A.; SODRÉ, F. F.; JARDIM, W. F. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, p. 385-393, 2011.
- LOVERN, S. B.; KLAPER, R. *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C60) nanoparticles. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 4, p. 1132-1137, 2006.
- MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. A. Ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.
- MANICKAVASAGAM, S.; SUDHAN, C.; BHARATHI, S.; AANAD, S. Bioindicators in aquatic environment and their significance. **Journal of Aquaculture In The Tropics**, v. 34, n. 1, p. 73-79, 2019.
- MANNO, M.; VIAU, C.; COCKER, J.; COLOSIO, C.; LOWRY, L.; MUTTI, A.; NORDBERG, M.; WANG, S. Biomonitoring for occupational health risk assesment (BOHRA). **Toxicology Letters**, v. 192, n. 1, p. 3-16, 2010.
- MARKERT, B. (ed.). **Instrumental element and multi-element analysis of plant samples**. Weinheim: Wiley, 1996.
- MARKERT, B.; BREURE, T.; ZECHMEISTER, H. (eds.). **Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications**. Amsterdam: Elsevier, 2003.
- MARKERT, B.; WAPPELHORST, O.; WECKERT, V.; HERPIN, U.; SIEWERS, U. FRIESE, K.; BREULMANN, G. The use of bioindicators for monitoring the heavy-metal status of the environment. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 240, p. 425-429, 1999.
- MARKERT, B.; WÜNSCHMANN, S. Bioindicators and biomonitors: use of organisms to observe the influence of chemicals on the environment. In: Schroeder, P.; Collins, C. (eds.). **Organic xenobiotics and plants: from mode of action to ecophysiology**. London: Springer, 2011. p. 217-236.
- MARQUES, S. M.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P. Algas como bioindicadores da qualidade da água. **Revista Científica "ANAP Brasil"**, v. 10, n. 19, p. 76-88, 2017.
- MASNER, P.; JAVŮRKOVÁ, B.; BLÁHA, L. Rapid in situ toxicity testing with luminescent bacteria *Photobacterium luminescens* and *Vibrio fischeri* adapted to a small portable luminometer. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 3748-3758, 2016.
- MAZIERO, J. S.; ROGERO, S. O.; ALEMANY, A. Estudo ecotoxicológico da nanopartícula de prata em *Daphnia similis*. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 34, n. 3, p. 133-139, 2016.

NONNO, C. A.; MAGALHÃES, D. P. Comparação da toxicidade de espécies metálicas do Cromo (III e VI), através de testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos. **Revista BioUSU**, v. 2, p. 13-26, 2016.

NOVAES, G. H. C.; AURELIANO, B. C.; FRAGOSO-MOURA, E. N.; CAVALCANTE, W.; FRACÁCIO, R. Toxicidade dos metais níquel e cobre e sua possível atuação como interferentes endócrinos em ambientes aquáticos. **Brazilian Journal of Environmental Sciences**, n. 48, p. 128-141, 2018.

NUNES-HALLDORSON, V. S.; DURAN, N. L. Bioluminescent bacteria: lux genes as environmental biosensors. **Brazilian Journal of Microbiology**, 34, n. 2, p. 91-96, 2003.

OLIVEIRA, C. W. S.; CORREA, C. S.; SMITH, W. S. Ecologia alimentar e presença de microplástico no conteúdo estomacal de peixes neotropicais em um rio urbano da bacia do alto rio Paraná. **Revista Ambiente & Água**, v. 15, n. 4, e2551, 2020.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Nanosafety at OECD: the first five years 2006-2010**. Paris: OECD, 2011.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Regulatory frameworks for nanotechnology in foods and medical products: summary results of a survey activity**. Paris: OECD, 2013. (*OECD Science, Technology and Industry Policy Papers*, 4).

PASCHOALINO, M. P.; MARCONE, G. P. S.; JARDIM, W. F. Os nanomateriais e a questão ambiental. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 421-430, 2010.

PEREZ, C.; SIMÕES, F. R.; CODOGNOTO, L. Voltammetric determination of 17 α -ethinylestradiol hormone in supply dam using BDD electrode. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 20, p. 2471-2478, 2016.

PURCA, S.; HENOSTROZA, A. Presencia de microplásticos en cuatro playas arenosas de Perú. **Revista Peruana de Biología**, v. 24, n. 1, p. 101-106, 2017.

RAGAB, A. M. S. Investigating the potential of nanomaterials for enhanced oil recovery: state of art. **Journal of Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 25-40, 2014.

RAGASSI, B.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P.; JUNIOR, O. P. S. Ecotoxicidade de agrotóxicos para algas de água doce. **Revista Científica "ANAP Brasil"**, v. 10, n. 19, p. 45-55, 2017.

RAMAIAH, N.; CHANDRAMOHAN, D. Bacterial bioluminescence in Marine Pollution Assessment. In: Kumar, S. K. *et al.* (eds.). **Ocean technology: perspectives**. Pretoria: CSIR, 1994. p. 667-680. (Golden Jubilee Special Publications).

RAMAIAH, N.; CHANDRAMOHAN, D. Ecological and laboratory studies on the role of luminous bacteria and their luminescence in coastal pollution surveillance. **Marine Pollution Bulletin**, v. 26, n. 4, p. 190-201, 1993.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. (eds.). **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment**. 2. ed. Washington: Taylor & Francis, 1995.

RANI, C. N.; KARTHIKEYAN, S. Endocrine disrupting compounds in water and wastewater and their treatment options: a review. **International Journal of Environmental Technology and Management**, v. 19, n. 5-6, p. 392-431, 2016.

ROSEN, G.; OSORIO-ROBAYO, A.; RIVERA-DUARTE, I.; LAPOTA, D. Comparison of bioluminescent dinoflagellate (QwikLite) and bacterial (Microtox) rapid bioassays for the detection of metal and ammonia toxicity. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 54, p. 606-611, 2008.

ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. (eds.). **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman and Hall, 1993.

SANI-KAST, N.; LABILLE, J.; OLLIVIER, P.; SLOMBER, D.; HUNGERBÜHLER, K.; SCHERINGER, M. A network perspective reveals decreasing material diversity in studies on nanoparticle interactions with dissolved organic matter. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n. 10, e.1756, 2017.

SANTOS, F. L. B.; TORRES, M. C.; ALVES, S. J. S.; BEZERRA, M. M. C. Avaliação quali-quantitativa de microplásticos em sedimentos e na coluna d'água no balneário Canto das Águas – Glória/BA e Balneário da Prainha – Paulo Afonso/BA. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 8439-8453, 2020.

SELVARAJ, C.; SAKKIAH, S.; TONG, W.; HONG, H. Molecular dynamics simulations and applications in computational toxicology and nanotoxicology. **Food and Chemical Toxicology**, v. 112, p. 495-506, 2018.

SILVA, D. C. V. R.; POMPÊO, M.; DE PAIVA, T. C. B. A ecotoxicologia no contexto atual no Brasil. *In: POMPÊO et al. (orgs.). Ecologia de reservatórios e interfaces*. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015. p. 340-353.

SOGORB, M. A.; PAMIES, D.; DE LAPUENTE, J.; ESTEVAN, C.; ESTÉVEZ, J.; VILANOVA, E. An integrated approach for detecting embryotoxicity and developmental toxicity of environmental contaminants using in vitro alternative methods. **Toxicology Letters**, v. 230, n. 2, p. 356-367, 2014.

SOININEN, J.; KÖNÖNEN, K. Comparative study of monitoring South-Finnish rivers and streams using macroinvertebrates and benthic diatom community structure. **Aquatic Ecology**, v. 38, p. 63-75, 2004.

SOUSA, M. L. **Uso do biofilme perifítico em testes ecotoxicológicos: uma abordagem ecológica da contaminação em reservatórios**. 2019. Tese (Doutorado em Ecologia: Ecossistemas Terrestres e Aquáticos) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

SOUSA, M. L.; CHOW, F.; POMPÊO, M. Community-level changes in periphytic biofilm caused by copper contamination. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 2401-2410, 2019.

SOUSA, M. L., SANTOS, D. Y. A. C., CHOW, F., POMPÊO, M. Caffeine as a contaminant of periphyton: ecological changes and impacts on primary producers. **Ecotoxicology**, v. 30, p. 599-609, 2021.

TACÃO, M.; CORREIA, A.; HENRIQUES, I. Resistance to broadspectrum antibiotics in aquatic systems: anthropogenic activities modulate the dissemination of blaCTX-M -Like Genes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 4134-4140, 2012.

TIJANI, J. O.; FATOBA, O. O.; BABAJIDE, O. O.; PETRIK, L. F. Pharmaceuticals, endocrine disruptors, personal care products, nanomaterials and perfluorinated pollutants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 14, p. 27-49, 2016.

TOMITA, R. Y.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 135-142, 2002.

VERBINNEN, R. T.; NUNES, G. S.; VIEIRA, E. M. Determinação de hormônios estrogênio em água potável usando CLAE-DAD. **Química Nova**, v. 33 n. 9, p. 1837-1842, 2010.

VIGHI, M.; VILLA, S. Ecotoxicology: the challenges for the 21st Century. **Toxics**, v. 1, n. 1, p. 18-35, 2013.

WANG, Y.; MIAO, A. J.; LUO, J.; WEI, Z. B.; ZHU, J. J.; YANG, L. Y. Bioaccumulation of CdTe quantum dots in a freshwater alga *ochromonas danica*: a kinetics study. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 18, p. 10601-10610, 2013.

WETZEL, R. G. Opening remarks. *In: WETZEL, R. G. (ed.). Periphyton of freshwater ecosystems*. The Hague: Dr. W. Junk, 1983. p. 3-4. (Developments in Hydrobiology, 17).

WIDDER, E. A.; FALLS, B. Review of bioluminescence for engineers and scientists in biophotonics. **IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 20, n. 2, p. 232-241, 2014.

ZAGATTO, A. P. Ecotoxicologia. *In: ZAGATTO, A. P.; BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. São Carlos: Editora RiMa, 2008. p. 1-13.

ZHANG, Q.; MA, X.; DZAKPASU, M.; WANG, X. C. Evaluation of ecotoxicological effects of benzophenone UV filters: luminescent bacteria toxicity, genotoxicity and hormonal activity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 338-347, 2017.

CAPÍTULO 3

HETEROGENEIDADE ESPACIAL E ECOTOXICIDADE DE METAIS NO SEDIMENTO EM TRÊS RESERVATÓRIOS PAULISTAS APLICANDO UM ENFOQUE GEOESTATÍSTICO

Ivan Edward Biamont-Rojas¹

Sheila Cardoso-Silva^{2,3}

Marcelo Pompêo⁴

1- Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

2- Universidade Federal de Acre – UFAC Rodovia BR 364, Km 04, Rio Branco, AC 69920-900 - Brasil

3- Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo (IO/USP), Praça do Oceanográfico, 191, 05508-120, São Paulo, SP, Brasil

4- Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Os metais de origem geogênica ou antrópica, podem ser incorporados pela biota, porém, grande parte tende a sedimentar permanecendo retidos no sedimento. De modo geral, as pesquisas que avaliam os metais no sedimento, quase sempre o fazem de forma pontual e são relativamente poucos os trabalhos que mostram a distribuição espacial das concentrações de metais no sedimento superficial, particularmente em reservatórios. Este trabalho visou avaliar a heterogeneidade espacial da qualidade do sedimento, com base nas concentrações de metais e em guias de qualidade, em três reservatórios paulistas. Foi feita uma classificação das concentrações do Cr, Ni, Pb e Zn nos reservatórios de Rio Grande (RG), Paiva Castro (PC) e Itupararanga (ITU) segundo os Valores de Referência Regional (VRR), *Threshold Effect Level* (TEL) e *Probable Effect Level* (PEL). O modelamento da distribuição espacial foi realizada pelo *Inverse Distance Weighting* (IDW). Os mapas temáticos obtidos, demonstram que o RG apresentou uma classificação Regular para Cr e em certas porções do sedimento, Ruim para Zn. No PC somente o Cr foi classificado como Regular e para ITU, Cr e Pb mostram áreas categorizadas como Regular. O Cr foi o metal com maior potencial de risco nos três reservatórios avaliados, com valores por cima do TEL. De modo geral o RG foi o reservatório que apresentou condições mais preocupantes de toxicidade potencial, com base nos critérios de qualidade aplicados, seguido de ITU e depois por PC, o menos impactado entre eles, levando em consideração as concentrações dos metais estudados.

INTRODUÇÃO

A necessidade de abastecimento de água para áreas urbanas de rápido crescimento, é um desafio para as companhias envolvidas no saneamento da água. Segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), o abastecimento de água abrange 83,6% dos brasileiros, porém, apenas 53,2% possuem o esgotamento sanitário e somente 46,3% possuem tratamento de esgoto (SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO, 2019). Para piorar o panorama, a Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) mediante o Atlas Esgotos: Despoluição de Bacias Hidrográficas, aponta que 38,6% dos esgotos produzidos não são coletados, nem tratados, e que 18,8% são coletados, mas lançados sem tratamento aos corpos de água (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO, 2017).

Na Região Metropolitana de São Paulo (RMSP), o saneamento básico foi e ainda é um desafio (KAWAI; BRANCO, 1969; POMPÊO *et al.*, 2020), devido à rápida expansão urbana e o crescimento populacional experimentado desde a segunda metade do século XX. A RMSP possui um sistema integrado de abastecimento público, compondo os seguintes sistemas: Cantareira, Baixo Cotia, Alto Cotia, Guarapiranga, Rio Grande, Ribeirão da Estiva, Rio Claro e Alto Tietê. Esses oito sistemas produtores possuem uma capacidade nominal de produzir 68,2 m³/s (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO, 2010). Já fora da RMSP, muitos municípios também tem demonstrado um crescimento populacional significativo. Assim, o abastecimento da cidade de Sorocaba, que opera mediante o Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE), capta 85% da água bruta de três represas, os reservatórios Clemente, Itapararanga e Ipaneminha, sendo que outros 10% do córrego Pirajibu-Mirim e o 5% restante proveniente de 23 poços tubulares (SAAE, 2020).

O saneamento deficitário é um dos principais fatores de degradação da qualidade da água no Brasil como um todo (POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS, 2012; POMPÊO *et al.*, 2020). Além do déficit no saneamento, que intensifica o processo de eutrofização, outros problemas associados à perda da qualidade da água são o adensamento urbano e os usos e ocupação da bacia hidrográfica sem o planejamento adequado. Tais atividades levam à alteração da ciclagem de elementos e o aporte de contaminantes como metais, poluentes orgânicos, poluentes emergentes, entre outros. Dentre os eventuais contaminantes merece destaque as alterações no ciclo e aporte de metais, já que estes elementos são reconhecidos pelo seu potencial tóxico, persistência e capacidade de bioacumular (LUOMA; RAINBOW, 2008).

Os metais podem ter origem natural (geogênica) ou artificial (antrópica) (GARCÍA-ORDIALES *et al.*, 2016), e são introduzidos nos corpos de água através de eventos climáticos, como pela chuva, a erosão ou a deposição atmosférica seca, além de fontes pontuais e difusas. Alguns exemplos de fontes antrópicas são os efluentes industriais, o uso de agrotóxicos (DEFARGE *et al.*, 2018), os fertilizantes aplicados em áreas agrícolas (MORTEVEDT, 1995), a aplicação de algicidas a base de metais, como o sulfato de cobre (MARIANI; POMPÊO, 2008; CARDOSO-SILVA *et al.*, 2016; BEYRUTH; PEREIRA, 2018; LEAL *et al.*, 2018), o desmatamento e as queimadas de florestas (uma das fontes de Hg na região amazônica) (CRESPO-LOPEZ *et al.*, 2021).

No meio aquático os metais podem ser diretamente adsorvidos e absorvidos pela biota (MAGALHÃES *et al.*, 2015), e, em grande parte, tendem a sedimentar, permanecendo retidos neste compartimento. Entretanto, dependendo das condições físicas e químicas, os metais sedimentados podem ser ressuspenso para a coluna de água, e se presentes em elevadas concentrações, podem impactar significativamente a qualidade do ambiente aquático (LUOMA; RAINBOW, 2008). Desta forma, mesmo após uma fonte de contaminação ser cessada, os metais presos ao sedimento podem por um longo período ser liberados à coluna de água e exercer seus efeitos potenciais tóxicos adversos à biota. Desta forma, é imprescindível que medidas de controle da emissão de metais, restauração e recuperação e uma ampla rede de monitoramento sejam implementadas nos ecossistemas aquáticos, visando acompanhar suas concentrações e distribuição ao longo do reservatório.

O monitoramento da distribuição espacial dos compostos químicos presentes em uma dada massa de água ou de seu sedimento, é recomendável, visto permitir conhecer a heterogeneidade das áreas dentro

do mesmo corpo de água, o que auxiliará na categorização dessas regiões, segundo seus níveis de toxicidade. Esses dados fornecem informações primordiais aos tomadores de decisões, contribuindo para o desenvolvimento de políticas públicas entre o meio ambiente e a planificação estratégica para o desenvolvimento sustentável a longo prazo, bem como para o planejamento de programas de monitoramento da qualidade da água e do sedimento e para eventuais aplicações de procedimentos, caso o objetivo seja recuperar um corpo de água impactado.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a heterogeneidade espacial da qualidade do sedimento, com base nas concentrações de metais e em guias de qualidade, em três reservatórios paulistas, com uma categorização das regiões segundo os valores de referência regional (VRR), *Threshold effect level* (TEL) e *Probable effect level* (PEL).

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo

Nesta pesquisa, foram estudados três reservatórios empregados no abastecimento público, os reservatórios Rio Grande, do Complexo Billings, o Paiva Castro, do Sistema Cantareira, e o de Itupararanga (Fig. 1).

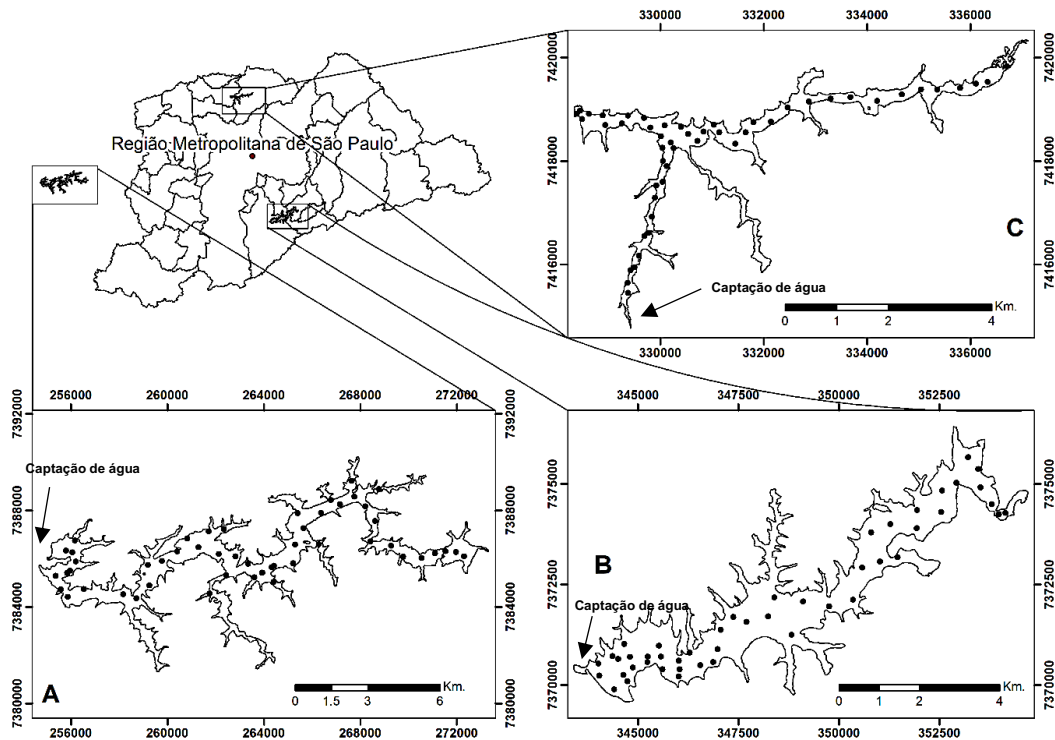


Figura 1: Mapa de localização dos reservatórios e dos pontos de coleta (●) em Itupararanga (A), Rio Grande (B) e Paiva Castro (C).

O reservatório Rio Grande (RG) ($46^{\circ}29'49''W$ $23^{\circ}45'46''S$) foi isolado do Complexo Billings pela barragem Anchieta em 1982, e é destinado ao abastecimento de água de 1,2 milhões de pessoas nos municípios de São Bernardo do Campo, Santo André e Diadema. A pressão urbana é muito grande ao redor desse reservatório e os efluentes dessas atividades antrópicas, são lançados *in natura* e até diretamente no reservatório. Visando o controle do crescimento fitoplanctônico, existem registros de aplicações de algicidas nesse reservatório, em especial do sulfato de cobre pentahidratado, baseado em metais, desde a década de 1980 (MARIANI; POMPÊO, 2008; BEYRUTH; PEREIRA, 2018).

Já o reservatório de Paiva Castro (PC) (46°39'27"W 23°20'5"S), pertence ao Sistema Cantareira, que faz a transposição entre duas bacias hidrográficas, importando água desde a bacia do Piracicaba para a bacia do Alto Tietê. Deste modo, o reservatório Paiva Castro recebe água dos reservatórios Jaguari, Jacareí, Atibainha, Cachoerinha, e mais recentemente do Igaratá, produzindo até 33 m³/s, abastecendo 9 milhões de pessoas (POMPÊO *et al.*, 2017; POMPÊO *et al.*, 2021). Este reservatório tem registros de aplicações de sulfato de cobre desde meados de 1990 (CARDOSO-SILVA *et al.*, 2016).

O reservatório de Itupararanga (ITU) (47°20'18"W 23°36'49"S) foi construído em 1912, pelo barramento dos rios Sorcabuçu, Sorocamirim e Uma. Tem sua área de drenagem compreendendo os municípios de Ibiúna, Piedade, São Roque, Cotia, Vargem Grande Paulista, Mairinque e Votorantim (TANIWAKI *et al.*, 2013). O reservatório faz parte da Área de Proteção Ambiental (APA) de Itupararanga desde 1998, e apresenta um tempo de residência de 250 dias. Neste reservatório não existe registro de aplicação de algicidas baseados em metais.

Coleta e processamento das amostras

A coleta de sedimento no reservatório RG foi realizada em 16 de novembro de 2017, em PC em 23 de novembro de 2017 e no reservatório ITU no dia 28 de setembro de 2017. Em todos eles as estações de coletas foram distribuídas ao longo dos reservatórios, com 47 amostras georeferenciadas em RG, 50 em PC e 52 pontos de amostragem em ITU (Fig. 1).

Para a coleta do sedimento superficial, foi empregado um coletor de sedimento Lenz de 225 cm². A porção superficial do sedimento foi armazenada em frascos coletores e estéreis de 100 ml, e guardados em bolsas térmicas e no escuro. No laboratório as amostras foram secas em estufa a 50 °C e trituradas em almofariz de vidro. Para a análise dos metais Cromo (Cr), Níquel (Ni), Chumbo (Pb) e Zinco (Zn), o sedimento foi preparado seguindo o método 3050B (USEPA, 1996). As amostras após a digestão foram armazenadas a 4 °C antes da análise no Espectrômetro de Emissão Atômica de Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-AES), utilizando um equipamento Agilent Série 720. O material de vidro utilizado no processamento das amostras para análise de metais foi deixado numa solução de 10% de ácido nítrico por 24 horas e depois lavadas com água ultrapura.

Ecotoxicologia do sedimento

A avaliação da concentração de metais e seu potencial de toxicidade foi baseada nos guias de qualidade de sedimento canadenses (ISQGs), como o *Threshold Effect Level* (TEL) e *Probable Effect Level* (PEL) (CCME, 1999); em conjunto com os valores de referência regional (VRR) (Tab. 1) de Cardoso-Silva *et al.* (2016), para PC, de Nascimento ; Mozeto (2008) para RG e de Cardoso-Silva *et al.* (2021) para ITU. As classificações associadas ao risco ecotoxicológico foram definidas em quatro categorias, segundo à qualidade do sedimento como Excelente, Bom, Regular e Ruim, adaptado de Leal *et al.* (2018) (Tab. 2).

Geoestatística

Neste trabalho o interpolador determinístico utilizado foi o Ponderador Pelo Inverso da Distância ou *Inverse Distance Weighting* (IDW). Para estimar os valores em locais não amostrados. O interpolador IDW utiliza valores próximos ao local de predição. Este algoritmo assume que zonas próximas aos pontos de avaliação são mais parecidas do que de regiões mais distantes. Deste modo, os valores estimados próximos aos locais de avaliação terão maior influência na interpolação que outros localizados mais distantes. A equação utilizada para calcular os valores desconhecidos foi:

$$\hat{Z}_j = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{Z_i}{d_{ij}^2}}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{d_{ij}^2}}$$

onde \hat{z}_j é o valor estimado para o ponto não amostrado; d é a distância de dado ponto conhecido; z é o valor de z do ponto conhecido i ; n é o número de pontos a serem incluídos na procura; e i é o número do ponto conhecido a ser tomado em conta.

A ponderação mais usada é o inverso do quadrado da distância euclidiana do ponto da grade à amostra considerada, sendo:

$$d_{ij} \sqrt{(x_i - x_j)^2 + (y_i - y_j)^2}$$

Tabela 1: Valores de referência regional, ISQG/TEL= Threshold effect level; PEL= Probable effect level.

METAL	RESERVATORIO	VRR	TEL	PEL
CROMO			37,3	90
	Paiva Castro	24*		
	Rio Grande	36**		
	Itupararanga	31***		
NÍQUEL			18	36
	Paiva Castro	33*		
	Rio Grande	23**		
	Itupararanga	7***		
CHUMBO			35	91.3
	Paiva Castro	27*		
	Rio Grande	61**		
	Itupararanga	25***		
ZINCO			123	315
	Paiva Castro	70*		
	Rio Grande	82**		
	Itupararanga	40***		

*Fonte: Cardoso-Silva *et al.* (2016)
 **Fonte: Nascimento e Mozeto (2008)
 ***Fonte: Cardoso-Silva *et al.* (2021)

Tabela 2: Classificação qualitativa do sedimento, adaptado segundo Leal *et al.* (2018), onde [M]= concentração do metal; VRR= Valor de referência regional, ISQG/TEL= Threshold effect level; PEL= Probable effect level.

Classes	Limites/Intervalos	Potencial ecotoxicológico
Excelente	$0 \mu\text{g/Kg} \leq [M] < \text{VRR}$	Região com mínimo risco ecotoxicológico. Concentração basal.
Bom	$\text{VRR} \leq [M] < \text{ISQG/TEL}$	Região com possível contaminação antrópica, mas com risco ecotoxicológico mínimo ou improvável.
Regular	$\text{ISQG/TEL} \leq [M] < \text{PEL}$	Região com contaminação antrópica e com risco ecotoxicológico incerto.
Ruim	$> \text{PEL}$	Região com contaminação antrópica e com risco ecotoxicológico provável

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Heterogeneidade espacial de metais no sedimento

Rio Grande

Para o reservatório Rio Grande a espacialização das concentrações de metais resultou em uma heterogeneidade ao longo do corpo de água (Fig. 2).

Para o Cr, as maiores concentrações, de 39,31 mg Cr/kg até 52,76 mg Cr/kg, estão localizadas na parte alta do reservatório, e os teores vão diminuindo em direção à barragem. A concentração elevada é intensificada na margem inferior (Sul), onde as atividades antrópicas estão distribuídas (áreas urbanas,

agrícolas e industriais). Os teores mais elevados do Cr (acima de 39,31 mg Cr/kg) estão presentes até aproximadamente a porção central do reservatório, perto de áreas urbanas e industriais. É provável que fontes de poluição urbanas exerçam uma alta influência na presença dos metais no sedimento (GUI *et al.*, 2019; SAIDI *et al.*, 2019). A parte baixa do reservatório apresenta valores abaixo de 39,31 mg Cr/kg, chegando até 32,59 mg Cr/kg perto da barragem. Porém, existe uma área na região da barragem, na frente do ponto de captação da SABESP que apresenta os menores teores de Cr (5,69 mg Cr/kg até 25,86 mg Cr/kg), o que também foi reportado por Mariani; Pompêo (2008).

Para o Ni, foram observadas concentrações acima dos 12 mg Ni/kg em grande parte do reservatório, estendendo-se desde regiões próximas à entrada até a região central, principalmente em áreas próximas às zonas urbanas. Como foi visto no caso do Cr, a porção que se encontra na margem contrária ao ponto de captação d'água da SABESP continua sendo o setor com a menor concentração, de 0,53 mg Ni/kg até 10,48 mg Ni/kg. Já no caso do Pb está presente desde a entrada do rio principal, com teores acima dos 26 mg Pb/kg, mas evidenciando uma diminuição da concentração em direção à barragem. A partir da metade do reservatório a maior parte do sedimento apresenta concentrações entre 20,83 mg Pb/kg e 26 mg Pb/kg. Na região da barragem, na margem contrária ao ponto de captação da SABESP apresenta, em todos os casos avaliados, baixos teores de metais. Este fenômeno é contrário ao comum de outros reservatórios como Guarapiranga (LEAL *et al.*, 2018) onde as maiores concentrações são observadas na região da barragem.

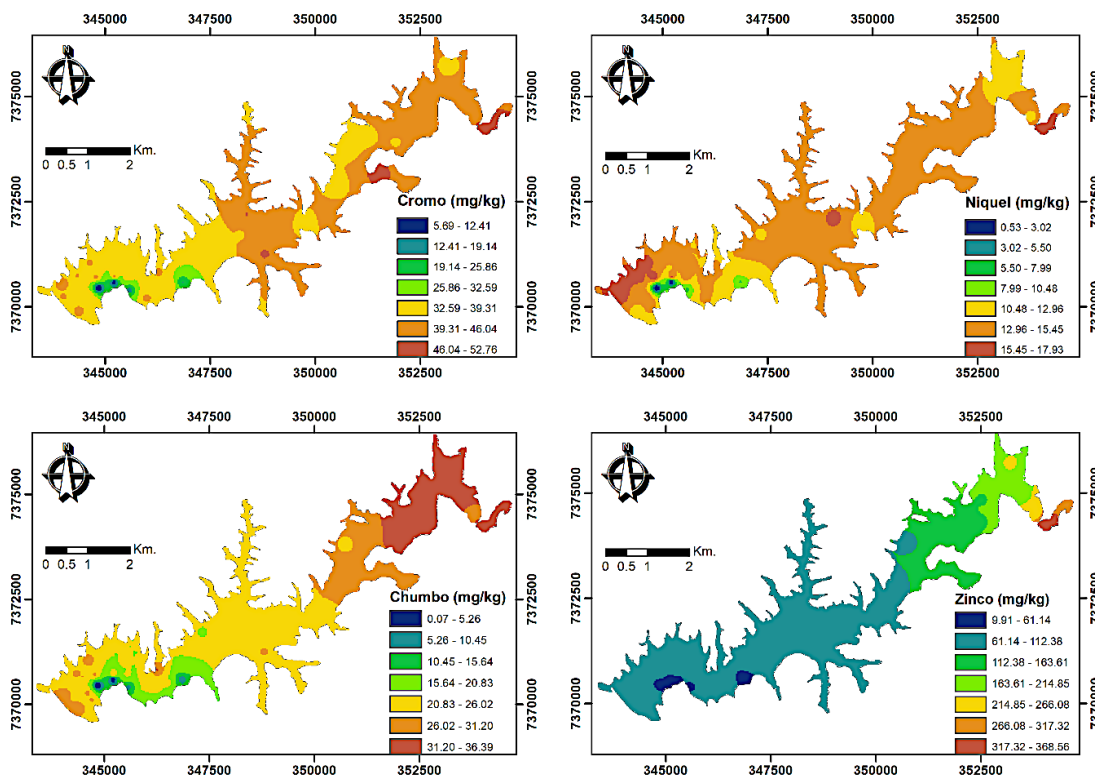


Figura 2: Distribuição espacial da concentração de Cromo, Níquel, Chumbo e Zinco o sedimento do reservatório Rio Grande.

O Zn foi o metal que apresentou a maior variação de concentrações, desde 9,91 mg Zn/kg até 368,56 mg Zn/kg. Na porção referente à entrada de água do rio principal, o sedimento apresentou valores acima dos 112 mg Zn/kg. A partir do meio do reservatório, a concentração diminui até 61,14 mg Zn/kg. Também para Zn é possível observar que a área na margem oposta do ponto de captação d'água exibe os menores teores desse elemento, de 9,91 mg Zn/kg até 61,14 mg Zn/kg.

De maneira geral, observou-se um gradiente de diminuição nos teores de metais no sentido montante-jusante, exceto para o Ni. Este padrão de maiores teores na entrada de RG pode estar associado à fatores como a entrada do rio principal que passa pelo município de Ribeirão Pires. Além disso, processos erosivos poderiam influenciar tal distribuição. Apesar dos maiores teores de Cr, Pb e Ni na entrada do reservatório, tais valores estão em conformidade com os valores de referência regional (VRR).

Paiva Castro

Para o Cr (Fig. 3), suas concentrações apresentaram variação de 5,7 mg Cr /kg até 24 mg Cr /kg. Na porção central o Cr apresentou valores acima de 24,5 mg Cr /kg, chegando a 37 mg Cr /kg, que se manteve até o ponto de captação da SABESP. Levando em conta o curso natural, deste ponto até à barragem, existe um aumento nos teores de Cr, chegando até 49,7 mg Cr/kg. Ao redor do reservatório especialmente na margem sul, há grandes áreas urbanas, mas não foi observada uma relação direta entre a presença de atividades humanas e as elevadas concentrações de Cr, como sugerido em RG. O acúmulo de Cr na região da barragem e em pontos isolados, provavelmente é devido ao fluxo d'água.

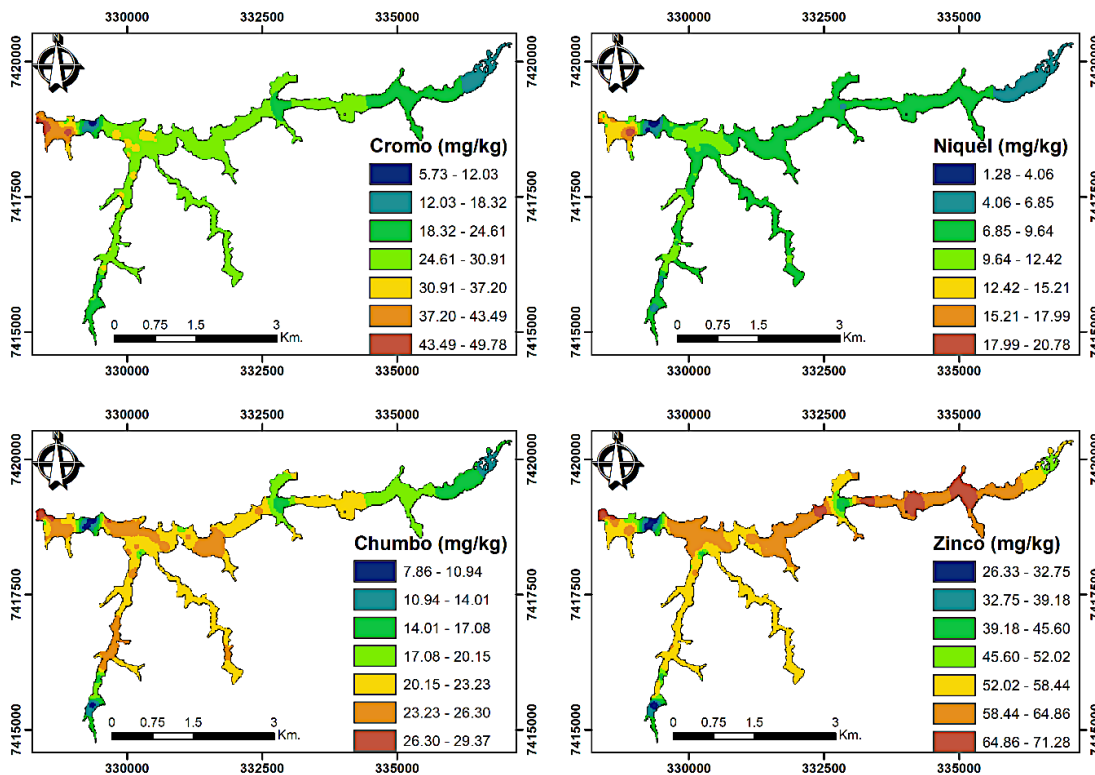


Figura 3: Distribuição espacial da concentração de Cromo, Níquel, Chumbo e Zinco no sedimento do reservatório Paiva Castro.

O Ni também segue o padrão de distribuição exibido pelo Cr, com teores baixos na região de entrada do rio principal, com uma amplitude entre 1 e 6 mg Ni /kg. Já na parte central, pode chegar a 9,84 mg Ni /kg ou acima desse valor. Em referencia à porção da barragem, os valores estão na casa de 20,78 mg Ni /kg, que pode ser resultado do fluxo d'água.

Já o Pb apresentou as menores concentrações na parte alta, na região de ingresso da água do rio principal, com concentrações de 7,8 mg Pb/kg até 17 mg Pb/kg. Na porção central e de uma forma similar ao observado para o Cr e Ni, a concentração vai aumentando em direção à barragem, chegando a 29,37 mg Pb/kg. Esse valor máximo é também evidenciado na região perto do ponto de captação da SABESP.

Para o Zn, na parte alta do reservatório e no braço do ponto de captação da SABESP, as concentrações variaram de 45,6 mg Zn/kg até 58 mg Zn/kg. Também é observado o mesmo fenômeno com aumento nos teores em direção à barragem. Na porção central essas concentrações chegam a 71,28 mg Zn/kg indicando, provavelmente, uma maior taxa de sedimentação desse metal.

Itupararanga

A distribuição das concentrações do Cr no sedimento de ITU encontra-se de forma heterogênea ao longo do reservatório (Fig. 4). Há baixas concentrações na parte alta do reservatório, com valores de até 22 mg Cr/kg. Entretanto, uma grande parte do reservatório apresenta valores entre 22,8 mg Cr/kg e 39,3 mg Cr/kg. Na confluência de afluentes na porção ao leste (parte alta do reservatório) e também na porção oeste, os valores chegaram a 64,1 mg Cr/kg. Na área da barragem foram registradas concentrações menores que 39,38 mg Cr/kg. Comparando as concentrações de Cr no ITU, PC e RG, os teores presentes em ITU são superiores aos valores observados nos reservatórios RG e PC.

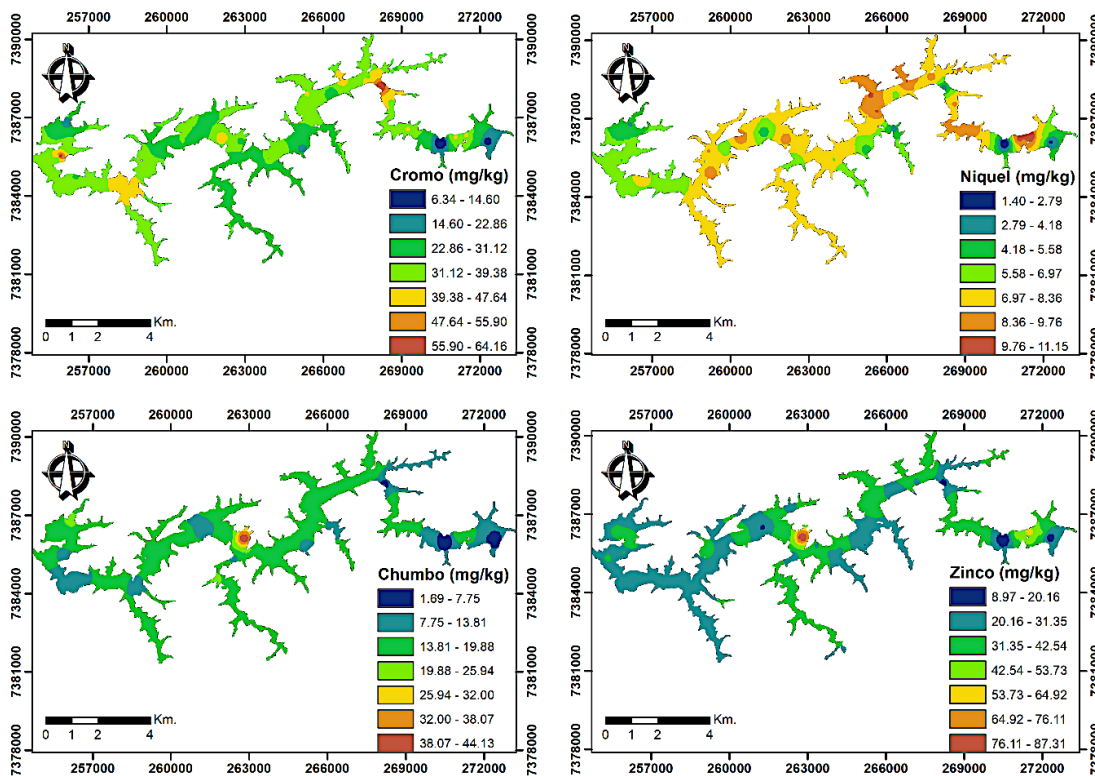


Figura 4: Distribuição espacial da concentração Cromo, Níquel, Chumbo e Zinco no sedimento do reservatório Itupararanga.

Na parte alta do reservatório, foram observadas baixas concentrações de Ni (Fig. 4), de 1,4 mg Ni/kg até 5,5 mg Ni/kg, mas aparecem como pontos isolados. É possível identificar numa zona adjacente e na zona central do reservatório, concentrações altas entre 8,3 mg Ni/kg até 11,15 mg Ni/kg. Deste modo, a maior parte do reservatório mostra valores entre 5,58 mg Ni/kg e 8,36 mg Ni/kg, chegando até a barragem. Já na área da barragem, são observadas as menores concentrações de Ni.

Para o Pb (Fig. 4), para grande parte do sedimento superficial, as concentrações variaram entre 1,6 mg Pb/kg a 19,8 mg Pb/kg. Já na região central é possível observar uma pequena região com a maior

concentração de Pb observada, chegando ao valor de 44,1 mg Pb/kg. Na região da barragem, há um setor que exhibe valores entre 19,8 mg Pb/kg e 25,9 mg Pb/kg.

Grande parte do reservatório apresenta concentrações de Zn entre 20,1 mg Zn/kg e 42,5 mg Zn/kg (Fig. 4). A forma do reservatório provavelmente faz com que a sedimentação ocorra nas porções que se localizam perto dos braços. Também podemos observar valores acima dos 42,5 mg Zn/kg na parte alta do reservatório, de até 64,9 mg Zn/kg. No corpo central do reservatório, e como observado para o Pb, há um ponto isolado que apresenta concentrações mais elevadas, chegando a 87,3 mg Zn/kg.

Análise comparativa

Considerando as concentrações de metais, ao comparar os valores, é possível observar que no caso do Cr, Ni, Pb e Zn, o reservatório RG apresentou valores similares, embora as médias calculadas nestes trabalhos sejam menores (Tab. 3). Para PC se observa um incremento nas concentrações do Ni, Pb e Zn, sugerindo uma acumulação destes metais. Finalmente para ITU, como também foi observado para o RG, as concentrações dos metais no sedimento são similares e as médias determinadas para os metais foram ligeiramente menores.

Tabela 3: Concentração de metais no sedimento dos reservatórios de Rio Grande, Paiva Castro, Itupararanga e outros reservatórios (mg/kg).

Reservatório / Lago	Cr	Ni	Pb	Zn	Tipo de uso	Referência
Rio Grande	37,98 ± 8,93	13,53 ± 3,48	25,21 ± 7,78	115,96 ± 68,14	Abastecimento	Este trabalho
Paiva Castro	27,12 ± 6,84	8,86 ± 2,92	20,85 ± 4,71	56,39 ± 10,36	Abastecimento	Este trabalho
Itupararanga	33,14 ± 9,32	7,12 ± 1,94	15,44 ± 5,61	32,27 ± 10,84	Uso Múltiplo	Este trabalho
Keban (Turquia)	143,63 ± 82,85	106,64 ± 46,04	10,64 ± 2,91	76,73 ± 19,89	Uso Múltiplo	Varol, 2020
Ross Barnett (EUA)	40,2 ± 26,6	-	13,5 ± 6,8	53,7 ± 36,0	Uso Múltiplo	Paul <i>et al.</i> , 2021
Barra Bonita (Brasil)	82,0	54,5	11,6	162,0	Energia elétrica	da Conceição <i>et al.</i> , 2020
Changshou (China)	99,1	50,8	35,7	149,0	Uso Múltiplo	Xie <i>et al.</i> , 2020
Rożnów (Polonia)	24,58	26,5	8,68	66,28	Energia elétrica	Szara <i>et al.</i> , 2020
Luhan (China)	59,17	26,65	201,1	187,07	Uso Múltiplo	Wang <i>et al.</i> , 2020
Rio Grande	46,37 ± 2,96	18,91 ± 3,33	32,85 ± 4,25	128,22 ± 26,49	Abastecimento	Frascarelli <i>et al.</i> , 2018
Paiva Castro	-	1,4 ± 1,6	13,5 ± 6,6	12,9 ± 7,7	Abastecimento	Cardoso-Silva <i>et al.</i> , 2016
Itupararanga	36,17 ± 1,67	7,82 ± 0,95	16,87 ± 1,01	33,24 ± 1,28	Uso Múltiplo	Frascarelli <i>et al.</i> , 2018

No contexto internacional, ao comparar reservatórios com características similares (Tab. 3), com todos os reservatórios recebendo despejos de esgotos tanto domésticos quanto industriais, é possível observar que a represa Keban apresenta as maiores concentrações de Cr (143,63 mg Cr/kg) e Ni (106,64 mg Ni/kg), no caso do Pb é o reservatório Changshou (35,7 mg Pb/kg) é o que apresenta o maior teor e finalmente para o caso do Zn o reservatório Barra Bonita (162,0 mg Zn/kg) e Changshou (149,0 mg Zn/kg).

Em um outro grupo, podemos comparar os reservatórios PC, Ross Barnett e Lulun, que são utilizados quase que exclusivamente para o abastecimento público. Entre estes três reservatórios, Lulun apresentou os maiores teores para todos os metais avaliados (Cr - 59,17 mg Cr/kg, Ni - 26,65 mg Ni/kg, Pb - 201,1 mg Pb/kg, Zn - 187,07 mg Zn/kg). Neste caso, para Lulun, essas maiores concentrações são explicadas, pois sua bacia hidrográfica é rica em minérios, incluindo a maior exploração de Molibdênio da China, assim como de Pb e Zn. No caso do reservatório Ross Barnett, as concentrações de Cr (40,2 mg Cr/kg), Pb (13,5 mg Pb/kg) e de Zn (53,7 mg Zn/kg), apresenta valores similares aos do PC.

Já os reservatórios de ITU e Rożnów, apresentam características similares, pois recebem despejos de esgoto doméstico e ficam numa bacia com atividade agrícola. O reservatório Rożnów apresenta valores de Cr da ordem de 24,58 mg Cr/kg, de Ni, de 26,5 mg Ni/kg e para Zn de 66,28 mg Zn/kg, mais elevados aos observados no PC. Somente para Pb (8,68 mg Pb/kg) o reservatório Rożnów apresentou concentração menor do que o observado no PC para esse elemento.

Classificação ecotoxicológica de metais no sedimento

Rio Grande

A categorização da toxicidade potencial dos metais no sedimento superficial dos reservatórios estudados, segundo guia de qualidade de sedimento canadense, como aplicado por Leal *et al.* (2018), demonstra que no caso do Cr existem três classes de sedimentos para RG (Fig. 5): Excelente (17,6%), Bom (8,2%) e Regular (74,2%). As porcentagens apresentadas em parênteses, se referem à respectiva área do sedimento em termos de porcentagem. Desta maneira, para RG, a maior porção do sedimento se encontrou na classe Regular. Observa-se que há um incremento na concentração do Cr no sedimento, acima do VRR e também acima do TEL. No caso do Ni, foram observadas as seguintes classes: Excelente (58,9%) e Bom (41,1%); para Pb de Excelente (99,1%) e Bom (0,9%). Embora estes valores indiquem que a toxicidade é improvável, para o caso do Ni o incremento da concentração em quase a metade do reservatório poderia indicar fontes antrópicas deste metal. Finalmente para o Zn, as classes foram: Excelente (23,2%), Bom (50,6%); Regular (25,3%) e Ruim (0,8%), com a parte alta do reservatório com as classes acima do TEL e PEL.

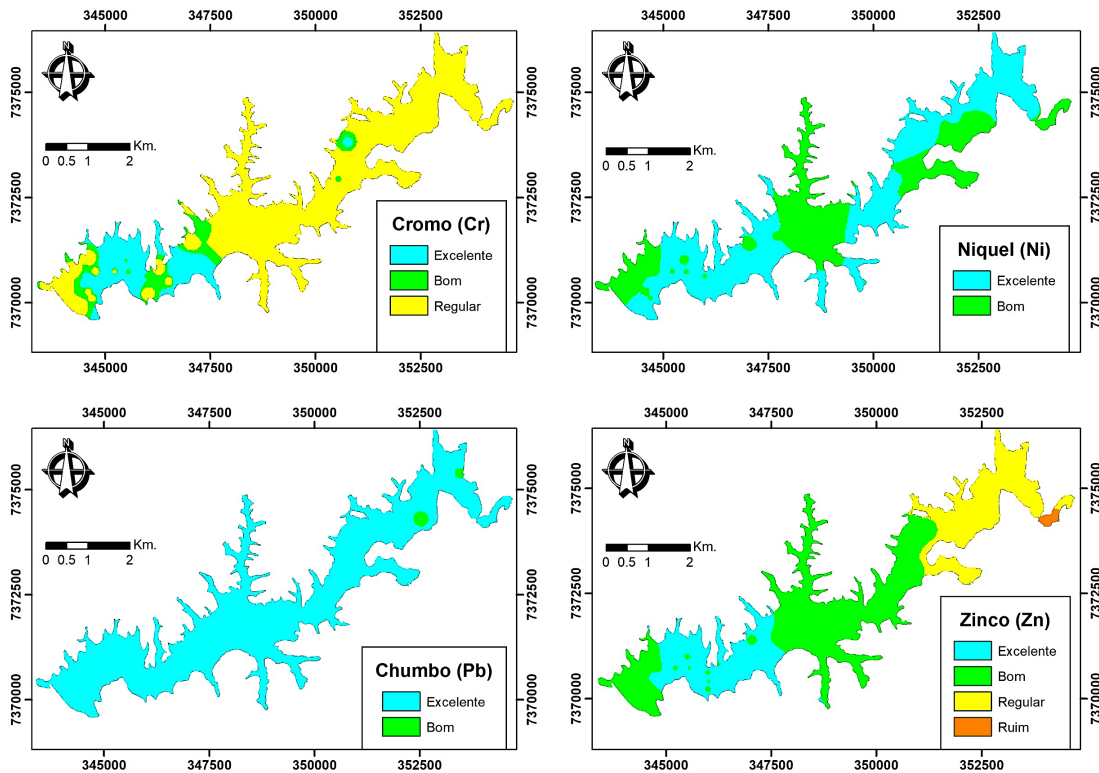


Figura 5: Categorização da qualidade do sedimento para Cromo, Níquel, Chumbo e Zinco no reservatório de Rio Grande.

Paiva Castro

A maior variação na classificação dos sedimentos no reservatório PC (Fig. 6), foi observada para os teores de Cr: Excelente (26,9%), Bom (67,7%) e Regular (5,4%). Neste caso em específico, a região do reservatório que está acima do nível do TEL localiza-se na proximidade da região da barragem e a maior parte do sedimento se apresentou com teores acima do VRR, indicando o ingresso deste metal de fontes artificiais. Para o caso de Ni, as classificações foram Excelente (99,5%) e Bom (0,5%), para Pb de

Excelente (99,2%) e Bom (0,8%) e para Zn de Excelente (99,9%) e Bom (0,1%). De maneira geral, para os metais Ni, Pb e Zn, as concentrações determinadas no sedimento superficial de PC mostram que não há um incremento do valor, acima do VRR para esse reservatório.

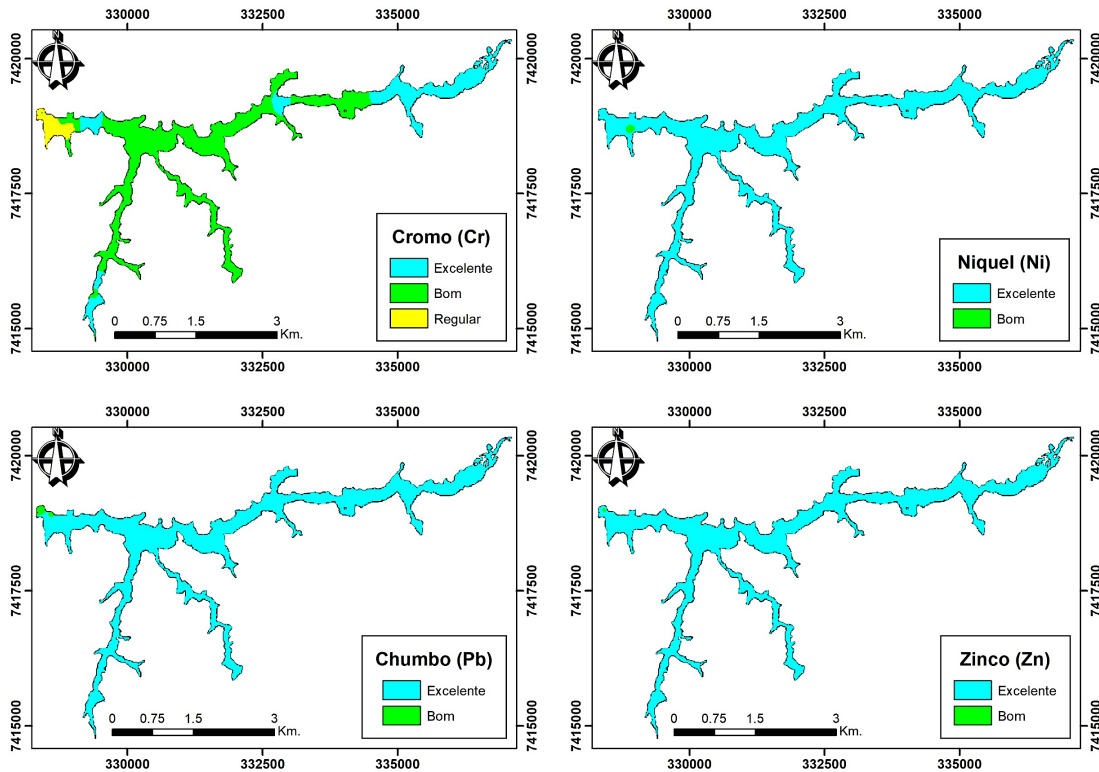


Figura 6: Categorização da qualidade do sedimento para Cromo, Níquel, Chumbo e Zinco no reservatório Paiva Castro.

Itupararanga

A categorização dos sedimentos no reservatório de Itupararanga (Fig. 7) indica que o Cr se apresentou com as seguintes classificações: Excelente (37,5%), Bom (42,4%) e Regular (20,1%), representando valores acima do TEL localizados no corpo central e em porções da parte alta do reservatório, indícios de aportes por atividades humanas. No caso do Ni, as classes foram: Excelente (37,4%) e Bom (62,6%), com o corpo central do reservatório com valores ligeiramente acima do VRR. Para o caso do Pb, as classes foram Excelente (98,6%), Bom (0,9%) e Regular (0,5%), com apenas uma pequena porção localizada no corpo central do reservatório, com valores acima de TEL. Finalmente para o Zn, as classes foram Excelente (94,2%) e Bom (5,8%), com a grande maioria do sedimento superficial do reservatório com valores similares ao VRR, particularmente para Pb e Zn.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como foi possível observar, nos reservatórios estudados há algumas semelhanças, mas também algumas diferenças.

No reservatório Rio Grande, ao comparar os teores dos metais, o Cr apresentou teores acima do VRR, desde a parte alta até a região central do reservatório. Embora, o Ni não exceda os valores do VRR em nenhuma região, há um acúmulo importante na área da barragem. O Pb exibiu os maiores teores em relação ao VRR na entrada do reservatório. Os teores de Zn, por sua vez, são maiores do que o VRR em

praticamente todo o reservatório. No que se refere à qualidade do sedimento, os quatro metais avaliados seguem um padrão onde os maiores teores foram observados na parte alta do reservatório e diminui em direção à barragem. Tanto Ni e Pb apresentaram qualidade categorizada como Excelente e Bom. No caso do Cr a maior parte do reservatório foi classificada como Regular e o Zn mostra um sedimento Ruim na região da entrada do reservatório.

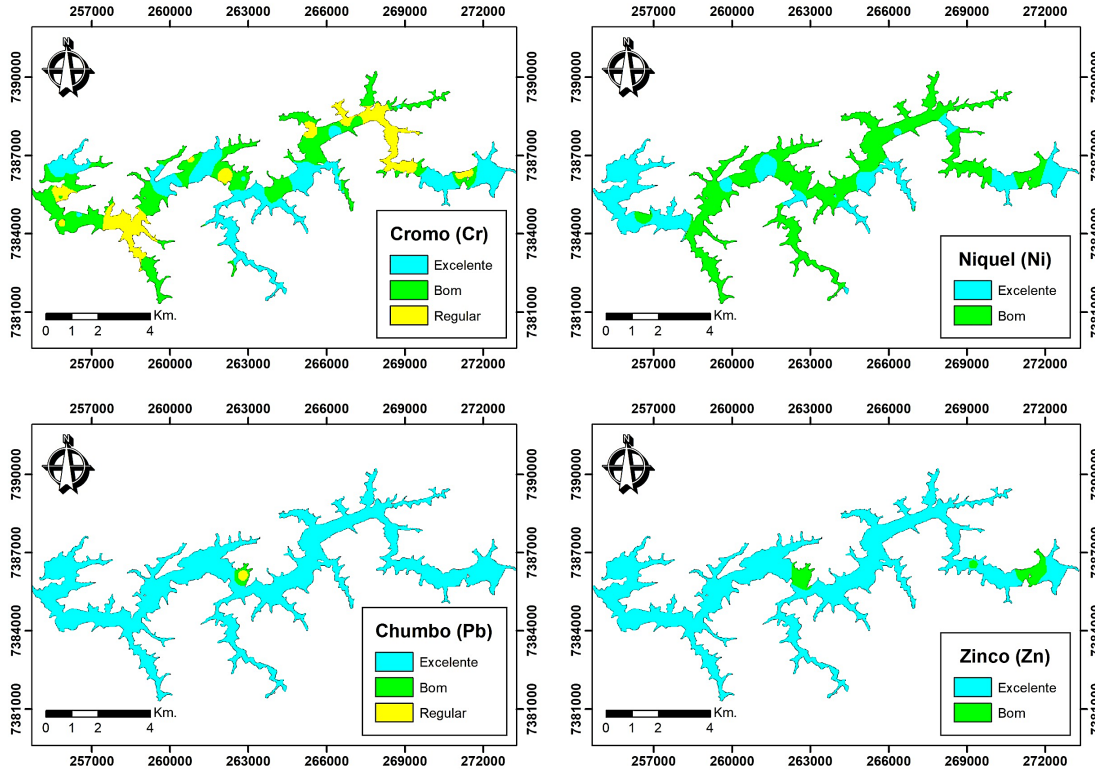


Figura 7: Categorização da qualidade do sedimento para Cromo, Níquel, Chumbo e Zinco no reservatório de Itupararanga.

Para o reservatório Paiva Castro, somente o Cr seguiu um padrão, que é contrário ao descrito no RG, com teores abaixo do VRR e que foi aumentando em direção à barragem do reservatório. Tanto o Ni quanto o Pb apresentaram concentrações abaixo do VRR ao longo de todo o reservatório. O Zn mostra um caso diferenciado, com pontos de maiores teores, quando comparado ao VRR, na região central do reservatório. Já no caso da qualidade do sedimento, para o Ni, Zn e Pb a classificação é Excelente em quase toda a extensão do reservatório. Já o Cr mostra o sedimento categorizado como Regular somente na região da barragem.

Já no reservatório de Itupararanga, tanto o Cr quanto o Ni apresentaram concentrações maiores em relação ao VRR em áreas isoladas, mas com uma característica importante, esses locais ficam em regiões de confluência dos braços e o corpo central do reservatório. Já no caso do Pb e Zn outra característica importante foi observada, os teores acima do VRR ficam num ponto específico na região central do reservatório, em frente a uma área urbana. Na qualificação do sedimento, para Ni e Zn, apresentaram áreas classificadas como Excelente e Bom, sendo que o Ni apresentou maiores porções do sedimento categorizadas como Bom. Na qualificação do Pb, este mostrou uma única região, no corpo central, classificada como Regular. O Cr apresentou maiores áreas categorizadas como Regular nas áreas de confluência dos braços e o corpo principal do reservatório.

Ao compararmos os reservatórios PC e RG, observamos que ambos estão localizados em zonas urbanas. Já ITU e PC, ambos fazem parte de uma Área de Proteção Ambiental (APA). Embora o PC esteja também inserido na RMSP e tenha a cidade de Mairiporã localizada logo na entrada do reservatório, os níveis de pressão das atividades agrícolas, industriais e urbanas, com base nas concentrações de metais e nas classes de toxicidade potencial empregadas neste trabalho, não chegam àqueles observados em RG. ITU e PC mostram valores aceitáveis para Ni, Pb e Zn, o que não acontece com o Cr, que apresenta o sedimento com possíveis efeitos negativos ao ambiente.

Em suma, a distribuição espacial e os valores guia de qualidade do sedimento empregados neste trabalho, mostraram que no caso do reservatório Rio Grande o Cr e Zn apresentaram concentrações acima do TEL e o Ni mostra zonas acima do VRR. Em PC unicamente o Cr exibiu áreas classificadas acima do TEL na porção da barragem. Em ITU, Cr mostrou o maior acúmulo do metal, com valor acima do TEL e VRR, principalmente na convergência dos braços com o corpo principal. Portanto, o Cr foi o metal com maior potencial de risco nos três reservatórios avaliados. No entanto, para todos os reservatórios e metais estudados, apenas para o elemento Zn e em uma pequena porção do Rio Grande, há níveis de toxicidade potencial para a biota, com concentrações acima de PEL. Também com base nesses metais, o reservatório Paiva Castro se apresentou com os menores níveis de toxicidade potencial, com apenas uma pequena porção na zona da barragem com valores entre TEL e PEL, o que confere toxicidade potencial incerta. Comparativamente o reservatório de Itupararanga se mostrou com características intermediárias, com maiores porções do sedimento superficial com qualidade Regular, enquanto que o Rio Grande para Cr e Zn apresentou grandes porções do sedimento superficial com valores entre TEL e PEL. Desta maneira, do ponto de vista da toxicidade potencial, os dados levantados sugerem toxicidade potencial para grande porção do sedimento do Rio Grande, seguido de Itupararanga e o Paiva Castro, como o reservatório com o sedimento superficial mais preservado.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (ANA). **Atlas Brasil: abastecimento urbano de água: resultados por estado**. Brasília: ANA: Engecorps/Cobrape, 2010.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (ANA). **Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas**. Brasília: Agência Nacional de Águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, 2017.
- BEYRUTH, Z.; PEREIRA, H. A.; SANTOS, L. The isolation of rio grande from Billings Reservoir, São Paulo, Brazil: effects on the phytoplankton. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 28, n. 2, p. 111-123, 2018.
- CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME). **Protocol for the derivation of Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life**. Winnipeg: CCME, 1999. (Report CCME EPC-98E).
- CARDOSO-SILVA, S.; LIMA FERREIRA, P. A.; MOSCHINI-CARLOS, V.; FIGUEIRA, R. C. L.; POMPÊO, M. Temporal and spatial accumulation of heavy metals in the sediments at Paiva Castro Reservoir (São Paulo, Brazil). **Environmental Earth Sciences**, v. 75, p. 1-16, 2016.
- CARDOSO-SILVA, S.; MIZEL, J. O.; FRASCARELI, D.; FERREIRA P. A. L.; ROSA, A. H.; VICENTE, E.; POMPÊO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V. Paleolimnological evidence of environmental change in seven subtropical reservoirs based on metals and sedimentation rate. **Catena**, v. 26, 105432, 2021.
- CRESPO-LOPEZ, M. E; AUGUSTO-OLIVEIRA, M.; LOPES-ARAÚJO, A.; SANTOS-SACRAMENTO, L.; TAKEDA, P. Y.; MACCHI, B. N.; NASCIMENTO, J. L. M; MAIA, C. S. F.; LIMA, R. R.; ARRIFANO, G. P. Mercury: what can we learn from the Amazon? **Environment International**, v. 146, 106223, 2021.
- DA CONCEIÇÃO, F. T.; FERNANDES, A. M.; HISSLER, C.; LUPINACCI, C. M.; MENEGÁRIO, A. A.; MORUZZI, R. B. Multi-tracer analysis to estimate the historical evolution of pollution in riverbed sediment of subtropical watershed, the lower course of the Piracicaba River, São Paulo, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 743, 140730, 2020.
- DEFARGE, N.; SPIROUX DE VENDÔMOIS, J.; SÉRALINI, G. E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. **Toxicology Reports**, v. 5, p. 156-163, 2018.

FRASCARELI, D.; CARDOSO-SILVA, S.; OLIVEIRA SOARES-SILVA MIZAE, J.; ROSA, A. H.; POMPÊO, M.; LÓPEZ-DOVAL, J. C.; MOSCHINI-CARLOS, V. Spatial distribution, bioavailability, and toxicity of metals in surface sediments of tropical reservoirs, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, 199, 2018.

GARCÍA-ORDIALES, E.; ESBRI, J. M.; COVELLI, S.; LÓPEZ-BERDONCES, M. A.; HIGUERAS, P. L.; LOREDO, J. Heavy metal contamination in sediments of an artificial reservoir impacted by long-term mining activity in the Almadén mercury district (Spain). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 6024-6038, 2016.

GUI, L.; PENG, S.-C.; CHEN, T.-H.; WANG, J.-Z. Evaluation of sediment-associated heavy metal pollution in Chaohu Lake, Eastern China. **Water Resources**, v. 46, p. 614-623, 2019.

KAWAI, H.; BRANCO, S. M. Estudo sobre as relações entre despejos domésticos e industriais da Região da Grande São Paulo e a eutrofização do reservatório Billings. **Revista DAE**, v. 71, p. 57-58, 1969.

LEAL, P. R.; MOSCHINI-CARLOS, V.; LÓPEZ-DOVAL, J. C.; CINTRA, J. P.; YAMAMOTO, J. K.; BITENCOURT, M. D.; SANTOS, R. F.; ABREU, G. C.; POMPÊO, M. Impact of copper sulfate application at an urban Brazilian reservoir: a geostatistical and ecotoxicological approach. **Science of the Total Environment**, v. 618, p. 621-634, 2018.

LUOMA, S. N.; RAINBOW, P. S. **Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management**. Cambridge: Cambridge University, 2008.

MAGALHÃES, D. P.; MARQUES, M.R.C.; BAPTISTA, D. F.; BUSS, D. F. Metal bioavailability and toxicity in freshwaters. **Environmental Chemistry Letters**, v. 13, p. 69-87, 2015.

MARIANI, C. F.; POMPÊO, M. Potentially bioavailable metals in sediment from a tropical polymictic environment-Rio Grande Reservoir, Brazil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 8, p. 284-288, 2008.

MORTVEDT, J. J. Heavy metal contaminants in inorganic and organic fertilizers. **Fertilizer Research**, v. 43, p. 55-61, 1995.

NASCIMENTO, M. R. L.; MOZETO, A. A. Reference values for metals and metalloids concentrations in bottom sediments of Tietê River basin, Southeast of Brazil. **Soil & Sediment Contamination**, v. 17, n. 3, p. 269-278, 2008.

PAUL, V.; SANKAR, M. S.; VATTIKUTI, S.; DASH, P.; ARSLAN, Z. Pollution assessment and land use land cover influence on trace metal distribution in sediments from five aquatic systems in southern USA. **Chemosphere**, v. 263, 128243, 2021.

POMPÊO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V. O abastecimento de água e o esgotamento sanitário: propostas para minimizar os problemas no Brasil. In: ROSA, A. H.; FRACETO, L. F.; MOSCHINI-CARLOS, V. (org.). **Meio ambiente e sustentabilidade**. Porto Alegre: Bookman, 2012.

POMPÊO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V. (orgs.) **Reservatórios que abastecem São Paulo: problemas e perspectivas**. São Paulo: Instituto de Biociências, 2020. 136 p.

POMPÊO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V.; BITENCOURT, M. D.; SÒRIA-PERPINYÀ, X.; VICENTE, E.; DELEGIDO, J. Water quality assessment using Sentinel-2 imagery with estimates of chlorophyll a, Secchi disk Depth, and Cyanobacteria cell number: The Cantareira System Reservoirs (São Paulo, Brazil). **Environmental Science and Pollution Research**, 04 mar. 2021.

POMPÊO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V.; LÓPEZ-DOVAL, J. C.; MARTINS, N. A.; CARDOSO-SILVA, S.; HERLON, R.; BEGHELLI, F. G. S.; BRANDIMARTE, A. L.; ROSA, A. H.; LÓPEZ, P. Nitrogen and phosphorus in cascade multi-system tropical reservoirs: water and sediment. **Limnological Review**, v. 17, p. 133-150, 2017.

SAIDI, I.; SAID, O. B.; ABDELMALEK, J. B.; JOUILI, S.; CHICHARO, L.; BEYREM, H. Impact of heavy metals of industrial plant wastewater on benthic communities of Bizerte Lagoon (Tunisia). **Chemistry and Ecology**, v. 35, n. 8, p. 746-774, 2019.

SERVIÇO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO DE SOROCABA (SAEE). **Mananciais de abastecimento**. Sorocaba: SAEE, 2020. Disponível em: <https://www.saaesorocaba.com.br/agua>. Acesso em: 01 out. 2020.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO (SNIS). **Diagnóstico dos serviços de água e esgoto - 2018**. Brasília: Ministério do Desenvolvimento Regional, 2019, 180 p.

SZARA, M.; BARAN, A.; KLIMKOWICZ-PAWLAS, A.; TARNAWSKI, M. Ecotoxicological and chemical properties of the rożnów reservoir bottom sediment amended with various waste materials. **Journal of Environmental Management**, v. 273, 111176, 2020.

TANIWAKI, H. R.; ROSA, A. H.; DE LIMA, R.; RODRIGUES MARUYAMA, C.; FERRARI SECCHIN, L.; CALIJURI, M. C.; MOSCHINI-CARLOS, V. A influência do uso e ocupação do solo na qualidade e genotoxicidade da água no reservatório de Itupararanga, São Paulo, Brasil. **Interciência**, v. 38, p. 164-170, 2013.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **EPA method 3050B**: acid digestion of sediments, sludges, and soils. 2. rev. Washington, DC: EPA, 1996.

VAROL, M. Environmental, ecological and health risks of trace metals in sediments of a large reservoir on the Euphrates River (Turkey). **Environmental Research**, v. 187, 109664, 2020.

WANG, M.; SONG, G.; ZHANG, C.; ZHAI, F.; WANG, W.; SONG, Z. Chemical fractionation and risk assessment of surface sediments in Lulun reservoir, Luoyang city, China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 35319-35329, 2020.

XIE, Q.; QIAN, L.; LIU, S.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; WANG, D. Assessment of long-term effects cage culture practices on heavy metal accumulation in sediment and fish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 194, p. 110433, 2020.

CAPÍTULO 4

CONTAMINANTES EMERGENTES EM RESERVATÓRIOS: FÁRMACOS, DESREGULADORES ENDÓCRINOS E DROGAS ILÍCITAS

Bárbara Rani-Borges¹

Julio Cesar López-Doval²

Marcelo Pompêo³

1- Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

2- BAC Engineering Consultancy Group, S.L., Barcelona, Espanha

3- Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Diversos fármacos, desreguladores endócrinos e drogas ilícitas são encontrados em águas superficiais. Essas substâncias podem produzir uma série de efeitos adversos e alterações metabólicas, no sistema endócrino, no sistema reprodutivo e imunológico, causar deficiências neurológicas, induzir padrões de crescimento anormais e atrasos no desenvolvimento humano e em outros organismos expostos. Assim, podem contribuir para piora da qualidade de água de abastecimento, constituindo uma externalidade negativa sob a perspectiva ambiental. Devido à ocorrência, persistência e potencial deletério à saúde humana e aos ecossistemas, apresentamos aqui um compilado dos conceitos e elementos necessários ao entendimento geral desta questão.

INTRODUÇÃO

São inúmeros os fatores que levam a poluição hídrica, mas uma nova categoria de poluentes que tem estado atualmente em evidência no contexto ambiental é a de fármacos e de desreguladores endócrinos. À medida que a população consome, de forma crescente, diversos tipos de medicamentos, essas substâncias tem se tornado uma ameaça emergente à integridade ecológica (MUTIYAR *et al.*, 2018). Embora o seu uso seja essencial para o bem-estar e manutenção da saúde humana, a constante entrada desses compostos químicos no ambiente, faz deles uma verdadeira fonte de contaminação ambiental.

Em 2016 a Agência Ambiental Alemã publicou estudo mostrando que mais de 600 produtos farmacêuticos foram detectados em águas superficiais de 71 países (BEEK *et al.*, 2016). Os produtos farmacêuticos mais comumente encontrados no ambiente são da classe dos analgésicos, antiinflamatórios, antibióticos, reguladores de lipídios, betabloqueadores, antineoplásicos, meios de contraste para raios X e cafeína (ALMEIDA; WEBER, 2005; COUTO; LANGE; AMARAL, 2019). Com relação aos desreguladores endócrinos, estes referem-se à compostos capazes de imitar, interferir ou induzir respostas hormonais (COMBARNOUS; NGUYEN, 2019), sejam eles de origem natural ou sintética (LECOMTE *et al.*, 2017; ZOELLER, 2005).

Os desreguladores endócrinos pertencem a uma classe muito variada, dentre os mais comuns estão: agrotóxicos; alguns metais; Estrona (E1); 17 β -estradiol (E2); 17 α -etinilestradiol (EE2); Nonilfenol (NP); Octilfenol (OCT); bisfenol A (BPA) e Ftalatos; surfactantes (nonilfenol); Ibuprofeno (IBP); o Naproxeno (NPX), Diclofenaco (DCF), Paracetamol (PCT); e Genfibrozila (GFB) (LIMA *et al.*, 2017; MONNERET, 2017).

Os fármacos e os desreguladores endócrinos acabam atingido os corpos de água através de deficientes tratamento de esgoto doméstico, de efluentes industriais e hospitalares, do aumento irregular de imóveis, pelo desmatamento no entorno dos cursos d'água e pelo despejo irregular de efluentes agrícolas e de resíduos sólidos (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2010; BARROS *et al.*, 2018). As estações de tratamento de esgoto (ETE) não são equipadas para proceder com o tratamento e remoção dessas substâncias de forma eficiente (GÓMEZ-MORTE *et al.*, 2021), já que não existe sistema de monitoramento vigente ou qualquer resolução estabelecendo níveis de concentrações máximos permitidos. O mesmo ocorre nas estações de tratamento de água (ETA), empregadas para o abastecimento público, pois muitos desses compostos não são retidos nos processos de tratamento normalmente empregados nas ETAs, e até mesmo drogas ilícitas podem ser encontradas na água de abastecimento, mesmo após a passagem por eficientes ETAs.

Considerando que essas substâncias podem induzir respostas que podem acarretar danos e alterações nos organismos, principalmente na função reprodutiva e sexual, além de ser favorável ao surgimento de microrganismos resistentes a antibióticos (YOKOTA *et al.*, 2015), torna-se necessário a investigar a presença, origem e meios para evitar a exposição a estas substâncias tanto para biota quanto ao homem.

PRODUTOS FARMACÊUTICOS E DESREGULADORES ENDÓCRINOS EM RESERVATÓRIOS

No Brasil, os sistemas de tratamento de esgoto sanitário são deficientes e não atendem grande parte da população (ARAÚJO *et al.*, 2018). Segundo dados de 2017 (SNIS), 48% da população não possui acesso ao sistema de saneamento básico e apenas 46,3% de todo esgoto produzido é encaminhado para uma estação de tratamento. Os domicílios sem coleta de esgotos, geralmente direcionam seus resíduos diretamente no ambiente, principalmente em sistemas aquáticos (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO, 2017). Quando o domicílio possui atendimento sanitário, os resíduos são conduzidos à ETE, e, após as diversas etapas de tratamento, a água retorna para o curso do rio mais próximo. Levando em consideração que parte das substâncias químicas consumidas por humanos e por animais não são completamente absorvidas e metabolizadas pelo organismo e em seguida são excretadas (GREENHAM *et al.*, 2019), e que as ETEs não fazem o monitoramento e remoção de fármacos, estas

substâncias são eventualmente introduzidas em corpos d'água, especialmente em sistemas de água doce, da mesma forma que drogas ilícitas (CAMPESTRINI; JARDIM, 2017).

Outra questão que deve ser apontada, para além do déficit de atendimento dos serviços de esgotamento sanitário no Brasil, é que as ETEs se encontram muitas vezes em situação de sobrecarga, recebendo volume de efluente maior do que foi dimensionada para tratar (OLIVEIRA; SPERLING, 2005), fato este que pode contribuir para a redução do desempenho e eficiência da qualidade do sistema (BRAZ *et al.*, 2019). A combinação desses fatores, favorecem a contaminação de corpos d'água com volume significativo de carga poluidora rica em diversas classes de compostos químicos.

Apesar das ETEs no país não serem assistidas por tecnologias eficientes para a remoção de fármacos, não se pode afirmar que os efeitos dos tratamentos empregados sejam completamente nulos. A carga de compostos químicos é diminuída após passagem pela ETE, enquanto que os esgotos sem tratamento algum apresentam maior potencial poluidor. De toda forma, esses compostos estão sendo bioacumulados e disponibilizados tanto na fase líquida como nos sedimentos (ALMEIDA; WEBER, 2005). O mesmo processo incompleto ocorre nas ETAs, que acabam conduzindo água com presença de contaminantes químicos aos domicílios ou drogas ilícitas (MONTAGNER; JARDIM, 2011; CAMPESTRINI; JARDIM, 2017).

Um dos primeiros relatos da presença de compostos farmacêuticos em reservatórios no Brasil, foi publicado em 2005 por Almeida; Weber. Neste estudo realizado no reservatório Billings, um reservatório destinado ao consumo humano para além de outras funções, foram encontrados 8 compostos após análise de amostras de água por cromatografia. As concentrações variaram entre 0,3 a 394,5 ng/L⁻¹.

Amostras de água bruta do reservatório Guarapiranga foram analisadas por López-Doval *et al.* (2017), para presença de cafeína, antiinflamatórios não esteróides, desreguladores endócrinos, antibióticos, plastificantes, droga ilícita e outros compostos. Os autores encontraram concentrações entre 0,6 e 4700 ng/L⁻¹, sendo a cafeína o composto com maior concentração. Os compostos considerados de maior potencial de risco ambiental e para saúde pública, de acordo com esses autores, foram a cafeína e o bisfenol A. Os altos teores de contaminantes emergentes observados foram imputados a falta ou ao ineficiente tratamento de esgoto sanitário da região.

Os antibióticos não se restringem apenas ao uso humano, mas também à aplicação veterinária, produção de alimentos e na agricultura, onde desempenha papel de aditivo e biocida nas lavouras (CANIÇA *et al.*, 2015; GARCIA-ALVAREZ *et al.*, 2012). O uso constante de antibióticos e, portanto, a introdução desses compostos no ambiente, tem sido motivo crescente de preocupação, já que a sua presença é capaz de induzir mecanismos de resistência microbiana (GILLINGS, 2013).

Segundo dados publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), o consumo de antibióticos no Brasil em 2016 foi de 22,8 doses por 1000 hab/dia, o maior índice da América do Sul (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Ainda de acordo com o mesmo relatório, amoxicilina e a amoxicilina + ácido clavulânico são os antibióticos mais utilizados em todo o mundo, o que nos leva à acreditar que, provavelmente, estas são as substâncias antimicrobianas mais encontradas no ambiente aquático.

Alguns estudos realizados em reservatórios e em águas de superfície, usadas como fonte de água para o abastecimento público, em diversos países, como Alemanha (VOIGT *et al.*, 2020), Brasil (ALMEIDA; WEBER, 2005; AMÉRICO-PINHEIRO *et al.*, 2017; BARROS *et al.*, 2018; LÓPEZ-DOVAL *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2020), China (LI *et al.*, 2019), Espanha (OSORIO *et al.*, 2016; RODIL *et al.*, 2012); Índia (MUTIYAR *et al.*, 2018), Romênia (GHEORGHE *et al.*, 2016); Suécia (LINDIM *et al.*, 2016) e Quênia (NGUMBA *et al.*, 2016), tem mostrado que grandes quantidades de fármacos e antibióticos em rios, acabam se acumulando em reservatórios e podem se constituir em sério risco para a biota e aos usos múltiplos.

A escolha do procedimento analítico utilizado para detecção desses diferentes compostos em matrizes ambientais depende essencialmente das características químicas do composto a ser investigado e das características da amostra ambiental. Dentre os principais procedimentos empregados estão:

extração em fase sólida, cromatografia líquida de alta eficiência, espectrometria de massa, espectrometria de massa em série, detector na faixa do ultravioleta, detector de arranjo de diodos, detector de fluorescência, espectrometria de massa de tempo de voo e cromatografia gasosa bidimensional altamente sensível (BISOGNIN *et al.*, 2017).

ENSAIOS TOXICOLÓGICOS COM FÁRMACOS, DESREGULADORES ENDÓCRINOS E ORGANISMOS DE ÁGUA DOCE

Os ambientes limnológicos possuem biodiversidade bastante rica e variada, dentro de um ecossistema dinâmico, onde os seus elementos abióticos e as comunidades de animais e microrganismos interagem constantemente uns com os outros (JØRGENSEN *et al.*, 2012). Assim, fica evidente a importância em estudar diferentes classes de organismos e bioindicadores.

Em sistemas aquáticos, fármacos estrogênicos podem interferir em uma série de processos biológicos, como, por exemplo, na diferenciação sexual, reduzindo ou aumentando a fertilidade de organismos (SPINA *et al.*, 2013). Além disso, os fármacos são persistentes, não sofrendo degradação rápida em condições normais, e são facilmente bioacumulados em organismos vivos (VERLICCHI *et al.*, 2012). Em virtude dessas características, ensaios toxicológicos tem sido realizados por diversos pesquisadores para investigar as concentrações tóxicas e os efeitos prováveis em organismos aquáticos, bem como compreender os mecanismos de ação e prever o comportamento dessas substâncias.

Ressalta-se, entretanto, que apesar da relevância e do considerável número de estudos toxicológicos com organismos isolados, existe uma grande deficiência de estudos transgeracionais, que poderiam indicar as respostas de populações a exposição a esses contaminantes ao longo de diferentes gerações (ARAÚJO *et al.*, 2018). Também é importante notar o baixo volume de estudos de natureza mais complexa, onde organismos de diferentes níveis tróficos são expostos a diferentes combinações de compostos, cenário este que se aproximaria mais da realidade.

ENSAIOS TOXICOLÓGICOS COM MICROALGAS

As microalgas estão no nível mais baixo da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos e são um dos principais organismos para monitorar a qualidade da água. Estudos com a *Chlamydomonas mexicana* mostraram que a ciprofloxacino (antibiótico de amplo espectro) foi capaz de induzir alterações nas características bioquímicas das células algais e que a EC50 em 96 h foi de 65 mg/L⁻¹ (XIONG *et al.*, 2017a). Os autores também relataram que ao aumentar a concentração do fármaco, foi observado efeito inibitório no crescimento dos organismos. Em um estudo com o antibiótico levofloxacino e *Chlorella vulgaris*, a EC50 foi de 58.6 mg/L⁻¹ e o mesmo padrão na taxa de crescimento com *C. mexicana* foi observada em *C. vulgaris* (XIONG *et al.*, 2017b).

Tong *et al.* (2020) e Yang *et al.* (2013) investigaram o efeito de tetraciclinas em *Coelastrella* sp. e *Microcystis aeruginosa*, respectivamente, e ambos obtiveram resultados similares, onde as algas apresentaram alta sensibilidade quanto expostas a este composto, com evidente redução de crescimento. Apesar disso, conforme houve aumento do tempo de exposição em concentrações baixas, também houve aumento de biomassa, indicando, provavelmente, a existência de um processo adaptativo. Esta relação precisa ser melhor investigada, já que esta característica pode ser aplicada para fins biotecnológicos. Tong *et al.* (2020) também demonstraram que na presença de ácidos húmicos, a toxicidade da tetraciclina ocorre em menos tempo e com maior intensidade.

A toxicidade de ibuprofeno, um dos fármacos mais utilizados no mundo, foi investigada em diatomáceas da espécie *Navicula* sp (DING *et al.*, 2017). Quando expostas à altas doses do composto (50 mg/L⁻¹), a *Navicula* sp. teve crescimento inibido, com taxa de inibição do crescimento de até 100% após 2 dias de cultivo a esta mesma concentração, e atividade fotossintética reduzida. O ibuprofeno também inibiu significativamente a taxa de crescimento de *C. vulgaris* com valor de EC50 de 82,25 mg/L⁻¹ em 48 horas (GEIGER *et al.*, 2016).

As microalgas *Raphidocelis subcapitata* e *C. vulgaris* foram expostas ao composto antibacteriano claritromicina e após o período de 7 dias constatou-se que *R. subcapitata* (EC₅₀ de 20 µg/L⁻¹) é mais sensível que *C. vulgaris* quando expostas às mesmas concentrações, sendo completamente inibida na presença de 80 µg/L⁻¹, a mesma concentração onde os efeitos iniciais de inibição de *C. vulgaris* são observados (GUO *et al.*, 2020). O estresse oxidativo também foi avaliado e mais uma vez os efeitos nas duas espécies mostraram tendência bastante diferente. Em *C. vulgaris* o estresse oxidativo não foi tão expressivo. Já em *R. subcapitata*, as atividades de antioxidantes enzimáticas foram significativamente aumentadas e foi observado considerável aumento nos níveis na produção de pigmentos.

ENSAIOS TOXICOLÓGICOS COM *Daphnia*

Daphnia são cladóceros amplamente encontrados em ecossistemas aquáticos e usualmente empregados como bioindicadores de qualidade ambiental. O uso como bioindicadores se dá em razão de diversas vantagens, como a disponibilidade do completo sequenciamento do genoma de algumas espécies, a posição filogenética do gênero, a facilidade de manutenção e manipulação em laboratório, ao ciclo de vida curto e de reprodução acelerada, bem como pela transparência corporal (facilitando o estudo de observação) e as rápidas respostas às alterações ambientais (SMIRNOV, 2017).

O efeito tóxico de oito fármacos mais frequentemente usados pela população mundial foi avaliado no microcrustáceo *Daphnia magna* (GHEORGHE *et al.*, 2016). Dentre os componentes testados, seis eram analgésicos, um antiepilético e um estimulante nervoso: diclofenaco, paracetamol, cetoprofeno, indometacina, naproxeno, ibuprofeno, carbamazepina e cafeína, respectivamente. Os valores de toxicidade para esses compostos variaram de 11,02 mg/L⁻¹, para paracetamol, a 162,18 mg/L⁻¹, para cafeína.

Kim *et al.* (2018) também realizou bioensaios com *D. magna* e paracetamol, visando identificar o modo de ação desse fármaco nos organismos através de análise de expressão gênica do citocromo P450. Os resultados mostraram que a expressão do gene TrxR de *D. magna* foi induzida, mas a atividade enzimática não sofreu alterações, sugerindo que a expressão desse gene é desencadeada como um mecanismo de defesa ao estresse oxidativo provocado pelo metabolismo do paracetamol.

Em outro estudo com *D. magna*, Grzesiuk *et al.* (2020) investigaram deformações morfológicas após exposição crônica, em concentrações ambientalmente relevantes (4 µg/L⁻¹), de ibuprofeno em embriões. Os autores analisaram a resposta da primeira à quinta geração dos indivíduos testados, em um total de 10 semanas. Diante das condições testadas, poucos efeitos foram observados nos organismos, contudo, deformações morfológicas apresentaram tendência de se elevar a cada nova geração. Dentre os tipos de deformidades, foram registrados embriões não vitais e subdesenvolvidos (que pararam de se desenvolver no sexto estágio de desenvolvimento do ovo), além de neonatos com má formação nas antenas e na carapaça e faltando um olho. A maioria dessas deformidades mostraram-se letais.

A *D. magna* quando exposta à 0,24 µg/L⁻¹ de cetoprofeno, apresentou valores da capacidade antioxidante total aumentados, entretanto, o fármaco não afetou as taxas de alimentação durante a exposição ou durante o período de recuperação, assim como não alterou o sistema reprodutivo (ALKIMIN *et al.*, 2020). Em neonatos, as taxas de alimentação foram reduzidas quando *D. magna* foi exposta ao diclofenaco em concentrações entre 5 e 100 µg/L⁻¹ (NKOOM *et al.*, 2019), o que demonstra que mesmo dentro da mesma classe farmacológica (analgésicos) as respostas biológicas são diferentes.

As espécies *Daphnia pulex* e *Daphnia pulicaria* foram avaliadas em ensaios toxicológicos com dois antineoplásicos: ciclofosfamida e cisplatina, em concentrações encontradas ambientalmente em estudos anteriores (GRZESIUK *et al.*, 2019). Por conta da alta toxicidade desses agentes, esperava-se que os animais fossem significativamente afetados, o que de fato foi observado, com redução nos índices de sobrevivência, número de ovos, taxa de crescimento dos organismos e taxa de crescimento populacional.

ENSAIOS TOXICOLÓGICOS COM PEIXES

Os organismos teste mais utilizados para observar os impactos da exposição à fármacos e desreguladores endócrinos, são espécies de peixes. O que se dá por conta da sua posição no topo da

cadeia trófica e, portanto, funcionam como indicadores de substâncias com propriedades acumulativas e de magnificação trófica (THIELE *et al.*, 2019). De acordo com Connors *et al.* (2013) e Nakamura *et al.* (2008), os peixes podem absorver compostos farmacológicos através das guelras, pele e através da alimentação.

Testes laboratoriais com *Cyprinus carpio* (carpa) mostraram que efeitos agudos não foram observados com as substâncias testadas: diclofenaco, paracetamol, cetoprofeno, indometacina, naproxeno, ibuprofeno, carbamazepina e cafeína. Todavia, após a realização de avaliação de risco, classificaram diclofenaco e ibuprofeno com risco moderado para espécie (GHEORGHE *et al.*, 2016).

Os efeitos dos impactos causados por efavirenz, um antirretroviral usado para tratamento da imunodeficiência humana (HIV), em *Oreochromis mossambicus* foram testados na África do Sul, região que concentra o maior número de portadores do vírus causador da aids no planeta (ROBSON *et al.*, 2017). Devido à esta particular condição, os teores de antirretrovirais tendem a ser mais elevados neste país. Os peixes foram expostos por 96 h com duas concentrações diferentes: 10,3 ng/L⁻¹, a concentração encontrada em amostras do rio local, e 20,6 ng/L⁻¹, e em seguida foram realizadas análises histológicas com tecidos de diferentes órgãos. Após teste de exposição aguda com a menor concentração testada, os autores observaram danos graves ao fígado e redução nos níveis de leucócitos. Já a uma concentração de 20,6 ng/L⁻¹, o efavirenz teve a capacidade de impactar em todo o organismo do peixe e não apenas em órgãos isolados.

Um estudo multigeracional e transgeracional com embriões de peixes da espécie *Menidia beryllina* (peixe-rei) expostos a quatro desreguladores endócrinos: bifentrina, etinilestradiol (EE2), levonorgestrel e trembolona (DECOURTEN *et al.*, 2020), mostraram que os efeitos dos compostos eram visíveis após a segunda geração, através da observação de alterações genéticas nos organismos. Crescimento e expressão gênica mostraram-se muito sensíveis à exposição direta, enquanto alterações no padrão de produção de ovos, deformidades de desenvolvimento e imunidade foram mais impactados após exposição parental. Esse tipo de estudo mostrou-se bastante promissor no que diz respeito ao entendimento de respostas à exposição a doses baixas por longos períodos. Além disso, os resultados obtidos são alarmantes pois demonstram que efeitos extensos podem ser os efeitos de desreguladores endócrinos na biota.

Ondarza *et al.* (2019) coletaram espécies de peixes em rios da Argentina e verificaram a ocorrência de fármacos bioacumulados em diversos tecidos. Vários antibióticos alvo foram detectados em peixes, incluindo em áreas de proteção ambiental, com concentrações totais variando de 1,3 a 13,4 µg/kg com os níveis mais elevados no músculo (média: 9,7 µg/kg), seguidos por guelras e fígado, sem diferenças significativas. De forma semelhante, Pico *et al.* (2019) coletaram peixes de quatro bacias hidrográficas representativas da Espanha. A frequência de detecção de fármacos variou entre 17% a 44% das amostras, dependendo das Bacias Hidrográficas, com concentrações até 15 ng/g. Os compostos detectados incluíram antiinflamatórios (diclofenaco), psicofármacos (citalopram, carbamazepina e venlafaxina) e β-bloqueadores (clopidogrel, carazolol, sotalol e propranolol), sendo o mais detectado o diclofenaco, em 16,6% das amostras.

REMOÇÃO DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS E DESREGULADORES ENDÓCRINOS

A ingestão de fármacos e de desreguladores endócrinos pode ser evitado pelo uso de métodos e da aplicação de técnicas especificamente voltadas para a remoção dessas substâncias em sistemas de tratamento de esgotos e no sistema de tratamento de água potável (ALMEIDA; WEBER, 2005). Dentre as opções disponíveis para remoção de produtos farmacêuticos, a seguir, apresentam-se alguns deles.

Couto *et al.* (2020) testaram três técnicas para remoção de 28 compostos farmacêuticos diluídos em água, foram eles: nanofiltração, osmose reversa e destilação por membrana. Após a realização das análises, ficou comprovada a eficiência e a aplicabilidade dessas tecnologias de etapa única para tratamento de água de superfície visando obter melhor qualidade de água potável. A destilação por membrana foi a mais eficiente para a remoção dos compostos, contudo, apesar da eficiência apresentada os custos dessa técnica é o mais elevado, o que torna a sua aplicação inviável do ponto de vista econômico.

A eficiência entre nanofiltração e osmose reversa foi comparada em experimentos de bancada com amostras de águas superficiais com baixas concentrações de diferentes compostos, e ao final constatou-se que esses dois métodos resultaram em taxas de remoção de fármacos bastante similares (FOUREAUX *et al.*, 2019). Apesar disso, os autores apontaram para a vantagem energética da nanofiltração. A nanofiltração também foi aplicada para remoção do antibiótico norfloxacin em amostras de efluente farmacêutico (SOUZA *et al.*, 2018). De 87 a 95% do antibiótico foi removido pela membrana, a depender das características da solução e da membrana utilizada, comprovando a eficiência do método. Ainda outra alternativa no campo da nanofiltração, é a biodegradação de compostos farmacológicos por meio de microrganismos presentes em filtros biológicos de carvão. Esta metodologia mostrou-se eficiente durante testes para remoção de cefalexina, diclofenaco e paracetamol, podendo ser considerada uma possível aliada no tratamento de água potável (MINILLO *et al.*, 2009).

Sistemas por Terras Úmidas Construídas, também conhecidos por Wetlands construídos, foram testados como uma tecnologia para remoção de fármacos através da absorção pelas raízes de macrófitas presentes no sistema. Durante o estudo de Ávila *et al.* (2021), a eficiência do sistema foi colocada à prova diante da presença de 49 antibióticos e 11 genes de resistência antimicrobiana em sistemas de fluxo subsuperficial vertical, um insaturado e outro parcialmente saturado. O sistema de Wetland parcialmente saturado apresentou desempenho médio superior a 50% para todos os antibióticos, exceto para clindamicina cuja remoção foi negativa, com remoção maior que 90% alcançada para sulfametoxazol, ofloxacina, ácido pipemídico, metronidazol e trimetoprim. O sistema insaturado não mostrou a mesma eficiência, apresentando concentrações mais altas no efluente do que no afluente para 4 antibióticos. Por conta da eficiência demonstrada, da necessidade de uma infraestrutura simples, dos custos de manutenção serem bem menores do que tratamentos convencionais e ser uma tecnologia ecológica, o uso de Wetland construído parcialmente saturado assume posição bastante relevante para gestores públicos.

A fotólise é um processo químico onde ocorre a degradação de poluentes orgânicos após absorção de radiação, ocorrendo a quebra de ligações químicas e a geração de novos produtos (WARDLE, 2009). O processo de remoção de drogas antivirais (aciclovir, zidovudina e lamivudina) por fotólise foi estudada em um reator fotoquímico, comparando a eficiência em amostras de água ultrapura e amostra de água provenientes de rio (ZHOU *et al.*, 2015). O estudo mostrou que a degradação das drogas pode variar em função das características químicas da água. Segundo esses autores, o aciclovir sofreu fotodegradação lenta em amostras de água de rio, enquanto que o zidovudina se degradou rapidamente tanto em amostras de água pura quanto em água do rio. Já a lamivudina manteve-se fotoestável em ambas as condições testadas.

Gómez-Morte *et al.* (2021) investigou a eficiência e aplicabilidade de um tratamento combinado com a primeira etapa composta pela absorção por um polímero, a ciclodextrina, seguida pela degradação por fotólise por luz pulsada. A ciclodextrina diminuiu a concentração de fármacos em 77% após 30 min de tratamento, sendo o sucesso do tratamento diretamente dependente das características das moléculas do composto a ser tratado. Após a aplicação de fotólise a degradação do poluente aumentou para 91%.

Enquanto a fotólise faz uso apenas de radiação ultravioleta, fotocatalise é o processo onde combina-se a radiação com uma substância catalisadora, que tem a função de aumentar a velocidade da reação. Isecke *et al.* (2018) realizaram um estudo visando aplicar os tratamentos de fotólise e fotocatalise com TiO₂, na degradação de etinilestradiol, para investigar as diferenças entre os processos. Ao final, os dois tratamentos se mostraram eficientes, visto que os processos conseguiram degradar uma quantidade significativa do hormônio. Entretanto, a fotocatalise apresentou uma maior eficiência para remoção de etinilestradiol, com índice de 98% em 40 minutos, já a fotólise degradou entre 66% e 75% do composto.

A composição dos fármacos caracterizada pela presença de íons inorgânicos, principalmente cloretos os torna potencialmente adequados para a realização de oxidação eletroquímica (JOJOA-SIERRA *et al.*, 2017). A degradação do antibiótico norfloxacin foi avaliada com ânodos IrO₂. Durante a aplicação desta tecnologia, o processo degradativo é evidenciado através da transferência de elétrons do antibiótico para o ânodo utilizado, o qual ocorreu em todos os tratamentos realizados, apesar da cinética das vias diretas ter sido muito lenta.

Uma metodologia para remoção de produtos farmacológicos que tem sido amplamente estudada é a degradação por microalgas, onde o cultivo desses microrganismos é induzido artificialmente no meio contaminado ou em escala laboratorial. Experimentos com *C. mexicana* mostraram que esta espécie é capaz de remover até 13% de ciprofloxacino após 11 dias de cultivo (XIONG *et al.*, 2017a). *Nannochloris* sp apresentou resultados ainda mais promissores ao remover 100% de triclosan em 7 dias de cultura (BAI; ACHARYA, 2016). A mesma alga foi testada com os antibióticos trimetoprima e sulfametoxazol, porém os resultados não foram bem sucedidos, o que demonstrou que as características de hidrofobicidade da molécula desempenha grande influência durante o processo de degradação por microalgas. Resultados positivos também foram verificados com *C. vulgaris* quando expostas à flutamida (droga antineoplásica) com propriedades citotóxicas (HABIBZADEH *et al.*, 2018). A bioissorção da droga foi testada e observou-se que em determinadas condições a *C. vulgaris* é capaz de absorver até 98,5% da droga.

DROGAS ILÍCITAS

Da mesma forma como ocorre com os fármacos, as drogas ilícitas não são completamente metabolizadas pelo organismo, sendo em parte eliminadas nos fluidos biológicos, os quais não são completamente removidos nas ETEs (CAMPESTRINI; JARDIM, 2017). Esta categoria de contaminantes emergentes também não se encontra incluída em diretrizes nacionais para qualidade ambiental ou de água para consumo.

Os estudos com drogas ilícitas estão em seus anos iniciais e por esta razão os dados são bastante limitados, focando principalmente em cocaína e nos seus metabólitos por se tratar de uma das substâncias mais difundidas no mundo. Poucos estudos foram realizados até o presente momento no Brasil sobre o assunto, não sendo, portanto, possível proceder com uma análise e avaliação rigorosa e fiel à real situação, além deste ser mais um empecilho para o estabelecimento de políticas públicas.

Campestrini; Jardim (2017) investigaram a ocorrência de cocaína e seu principal metabólito, benzoilecgonina, em águas superficiais e potáveis em diferentes áreas do Estado de São Paulo. Os diversos corpos d'água estudados abastecem mais de 10 milhões de pessoas, e os pontos amostrados estavam localizados nas bacia do Ribeirão do Pinhal, Limeira, Campinas, Jaguariúna, Cosmópolis, Reservatório Guarapiranga, Rio Claro, Piracicaba, Indaiatuba, Mogi-Guaçu, Mogi-Mirim, Espírito Santo do Pinhal, São Paulo, Piracicaba, Capivari e Jundiaí. Os resultados das análises mostraram que as concentrações mais altas de cocaína e benzoilecgonina foram observadas em amostras de áreas que recebem grandes cargas de esgoto. As amostras de água potável com maiores concentrações dos dois compostos eram de água provenientes de rios com maiores concentrações de cocaína e benzoilecgonina, apresentando as concentrações mais altas de 22 ng/L⁻¹ e 652 ng/L⁻¹, respectivamente.

Amostras de água bruta do reservatório Guarapiranga foram analisadas por López-Doval *et al.* (2017) para presença de cocaína e benzoilecgonina. Os autores encontraram concentrações entre 3 a 12 ng/L⁻¹ para cocaína e de 3,2 a 179 ng/L⁻¹, para benzoilecgonina. A diferença nas concentrações observadas foi atribuída, principalmente, às variações sazonais, as quais interferem no processo de degradação dos compostos por irradiação solar ou por atividade microbiana.

Em 2019, o primeiro estudo responsável por identificar drogas ilícitas em peixes de água doce da América do Sul foi realizado em dois rios da Argentina (ONDARZA *et al.*, 2019), em uma região próxima à fronteira com o Brasil. Os resultados mostraram a ocorrência de benzoilecgonina em diversos tecidos de peixes, como no músculo da traíra e nas brânquias de bagres do rio Acaraguá, bem como no fígado e brânquias de fêmeas de corimba do rio Paraná. Esses achados indicam que mesmo em concentrações baixas, esses compostos podem se bioacumular em organismos expostos e provocar alterações ou danos aos mesmos.

A toxicidade de concentrações ambientalmente relevantes, ou seja, concentrações usualmente encontradas no sistema aquático em todo o mundo, foi testada em embriões de *Danio rerio* (PAROLINI *et al.*, 2018). As concentrações utilizadas foram de 0,3 µg/L⁻¹ e 1 µg/L⁻¹ de cocaína e de dois metabólitos. Ao final do estudo, constatou-se que houve baixa mortalidade dos organismos assim como não foram observadas alterações morfológicas significativas, porém as concentrações testadas foram capazes de

alterar o perfil proteico dos embriões, modulando a quantidade de proteínas envolvidas no transporte de lipídios, estrutura do olho, metabolismo lipídico e energético, estrutura do citoesqueleto e resposta ao estresse oxidativo.

Diante da questão colocada, fica evidente a importante tarefa para determinar a extensão da ocorrência de drogas ilícitas em reservatórios e na água tratada ofertada à população. É fundamental compreender os fatores que desencadeiam os processos degradativos, bem como estimar os níveis de toxicidade dessas substâncias para biota e do ponto de vista de saúde pública, aos quais a biota e o ser humano podem se expor, seja pelo consumo dos animais e de água contaminados ou mesmo durante períodos de recreação nesses ambientes, principalmente de contato primário.

CONCLUSÃO

O desenvolvimento de técnicas analíticas cada vez mais eficientes e sensíveis, tem possibilitado cada vez mais a detecção de contaminantes cuja presença antes eram desconhecidas. Mesmo em concentrações muito baixas, alguns compostos, como produtos farmacêuticos, desreguladores endócrinos e drogas ilícitas, tem sido constantemente identificados em amostras ambientais com o uso dessas técnicas. Os perigos associados à exposição a estas substâncias, demonstrados principalmente através de estudos toxicológicos, indicam o quanto se faz necessária uma maior atenção voltada a estes poluentes, tanto do ponto de vista ambiental quanto para garantia da saúde pública.

Devido às dificuldades inerentes a questão dos fármacos são poucos os estudos focados em reservatórios, e a gestão de risco dessa classe de químicos ainda não está em pauta no Brasil, com poucos estudos desenvolvidos. Mas em reservatórios voltados ao abastecimento público, onde os recursos naturais e a manutenção dos serviços ecossistêmicos são essenciais para sociedade, o estudo de contaminantes emergentes deve ser fundamentalmente considerado para a elaboração de novas leis, diretrizes e políticas ambientais.

Todos os dias novas classes de contaminantes emergentes surgem e são inevitavelmente introduzidas nos sistemas aquáticos. O monitoramento de todos os contaminantes emergentes é tarefa impossível para qualquer sistema de tratamento de esgoto ou de água, por isso, o uso de substâncias indicadoras de qualidade é uma ferramenta que pode ser empregada para trazer maior eficiência a estes sistemas, e contribuir na construção de normativas ambientais, visando a sustentabilidade.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (ANA). **Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas**. Brasília: Agência Nacional de Águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, 2017. 88 p.

ALKIMIN, G. D.; SOARES, A. M. V. M.; BARATA, C.; NUNES, B. Evaluation of ketoprofen toxicity in two freshwater species: effects on biochemical, physiological and population endpoints. **Environmental Pollution**, v. 265, 114993, 2020.

ALMEIDA, G. A. D.; WEBER, R. R. Fármacos na represa Billings. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 6, n. 2, p. 7-13, 2005.

AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P.; ISIQUE, W. D.; TORRES, N. H.; MACHADO, A. A.; CARVALHO, S. L. DE; VALÉRIO FILHO, W. V.; FERREIRA, L. F. R. Ocorrência de diclofenaco e naproxeno em água superficial no município de Três Lagoas (MS) e a influência da temperatura da água na detecção desses anti-inflamatórios. **Revista Engenharia Sanitária**, v. 22, n. 3, p. 429-435, 2017.

ARAÚJO, R. K.; WOLFF, D. B.; CARISSIMI, E. Fármacos em águas residuárias: efeitos ambientais e remoção em wetlands construídos. **Revista DAE**, v. 218, n. 67, p. 137-155, 2018.

ÁVILA, C.; GARCÍA-GALÁN, M. J.; BORREGO, C. M.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; GARCÍA, J.; BARCELÓ, D. New insights on the combined removal of antibiotics and ARGs in urban wastewater through the use of two configurations of vertical subsurface flow constructed wetlands. **Science of the Total Environment**, v. 755, p. 142554, 2021.

- BAI, X.; ACHARYA, K. Removal of trimethoprim, sulfamethoxazole, and triclosan by the green alga *Nannochloris* sp. **Journal of Hazardous Materials**, v. 315, p. 70-75, 2016.
- BARROS, A. L. C. DE; SCHMIDT, F. F.; AQUINO, S. F. DE; AFONSO, R. J. DE C. F. Determination of nine pharmaceutical active compounds in surface waters from Paraopeba River Basin in Brazil by LTPE-HPLC-ESI-MS/MS. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 19962-19974, 2018.
- BEEK, T. AUS DER; WEBER, F.A.; BERGMANN, A. 2016. **Pharmaceuticals in the environment: global occurrence and potential cooperative action under the Strategic Approach to International Chemicals Management (SAICM)**. Dessau-Roßlau: German Environment Agency, 2016. 94 p. Disponível em: https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/1968/publikationen/iww_abschlussbericht_saicm_arzneimittel_final.pdf. Acesso em: 10 out. 2020.
- BISOGNIN, R. P.; WOLFF, D. B.; CARISSIMI, E. Revisão sobre fármacos no ambiente. **Revista DAE**, v. 210, n. 66, p. 78-95, 2017.
- BRAZ, G. H. R.; FERNANDEZ-GONZALEZ, N.; LEMA, J. M.; CARBALLA, M. Organic overloading affects the microbial interactions during anaerobic digestion in sewage sludge reactors. **Chemosphere**, v. 222, p. 323-332, 2019.
- CAMPESTRINI, I.; JARDIM, W. F. Occurrence of cocaine and benzoylecgonine in drinking and source water in the São Paulo State region, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 576, p. 374-380, 2017.
- CANIÇA, M.; MANAGEIRO, V.; JONES-DIAS, D.; CLEMENTE, L.; GOMES-NEVES, E.; POETA, P.; DIAS, E.; FERREIRA, E. Current perspectives on the dynamics of antibiotic resistance in different reservoirs. **Research in Microbiology**, v. 166, p. 594-600, 2015.
- COMBARNOUS, Y.; NGUYEN, T. M. D. Comparative overview of the mechanisms of action of hormones and endocrine disruptor compounds. **Toxics**, v. 7, n. 1, p. 5, 2019.
- CONNORS, K.; DU, B.; FITZSIMMONS, P.; HOFFMAN, A.; CHAMBLISS, K.; NICHOLS, J.; *et al.* Comparative pharmaceutical metabolism by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver S9 fractions. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 32, p. 1810-1818, 2013.
- COUTO, C. F.; LANGE, L. C.; AMARAL, M. C. S. Occurrence, fate and removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) in water and wastewater treatment plants: a review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 32, 100927, 2019.
- COUTO, C. F.; SANTOS, A. V.; AMARAL, M. C. S.; LANGE, L. C.; ANDRADE, L. H. DE; FOUREAUX, A. F. S.; FERNANDES, B. S. Assessing potential of nanofiltration, reverse osmosis and membrane distillation drinking water treatment for pharmaceutically active compounds (PhACs) removal. **Journal of Water Process Engineering**, v. 33, 101029, 2020.
- DECOURTEN, B. M.; FORBES, J. P.; ROARK, H. K.; BURNS, N. P.; MAJOR, K. M.; WHITE, J. W.; LI, J.; MEHINTO, A. C.; CONNON, R. E.; BRANDER, S. M. Multigenerational and transgenerational effects of environmentally relevant concentrations of endocrine disruptors in an estuarine fish model. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 21, p. 13849-13860, 2020.
- DING, T.; YANG, M.; ZHANG, J.; YANG, B.; LIN, K.; LI, J.; GAN, J. Toxicity, degradation and metabolic fate of ibuprofen on freshwater diatom *Navicula* sp. **Journal of Hazardous Materials**, v. 330, p. 127-134, 2017.
- FOUREAUX, A. F. S.; REIS, E. O.; LEBRON, Y.; MOREIRA, V.; SANTOS, L. V.; AMARAL, M. S.; LANGE, L. C. Rejection of pharmaceutical compounds from surface water by nanofiltration and reverse osmosis. **Separation and Purification Technology**, v. 212, p. 171-179, 2019.
- GARCIA-ALVAREZ, L.; DAWSON, S.; COOKSON, B.; HAWKEY, P. Working across the veterinary and human health sectors. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, p. 37-49, 2012.
- GEIGER, E.; HORNEK-GAUSTERER, R.; SACAN, M.T. Single and mixture toxicity of pharmaceuticals and chlorophenols to freshwater algae *Chlorella vulgaris*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 129, p. 189-198, 2016.

- GHEORGHE, S.; PETRE, J.; LUCACIU, I.; STOICA, C.; NITA-LAZAR, M. Risk screening of pharmaceutical compounds in Romanian aquatic environment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, p. 379, 2016.
- GILLINGS, M. R. Evolutionary consequences of antibiotic use for the resistome, mobilome and microbial pangenome. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 4, 2013.
- GÓMEZ-MORTE, T.; GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; LUCAS-ABELLÁN, C.; MARTÍNEZ-ALCALÁ, I.; AYUSO, M.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, S.; MONTEMURRO, N.; PÉREZ, S.; BARCELÓ, D.; FINI, P.; COSMA, P.; CERÓN-CARRASCO, J. P.; FORTEA, M. I.; NÚÑEZ-DELICADO, E.; GABALDÓN, J. A. Removal and toxicity evaluation of a diverse group of drugs from water by a cyclodextrin polymer/pulsed light system. **Journal of Hazardous Materials**, v. 402, n. 15, 123504, 2021.
- GREENHAM, R. T.; MILLER, K. Y.; TONG, A. Removal efficiencies of top-used pharmaceuticals at sewage treatment plants with various technologies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, 103294, 2019.
- GRZESIUK, M.; BEDNARSKA, A.; MIELECKI, D.; GARBICZ, D.; MARCINKOWSKI, M.; PILŹYS, T.; MALINOWSKA, A.; ŚWIDERSKA, B.; GRZESIUK, E. Anticancer agents found in environment affect *Daphnia* at population, individual and molecular levels. **Aquatic Toxicology**, v. 215, 105288, 2019.
- GRZESIUK, M.; PIJANOWSKA, J.; MARKOWSKA, M.; BEDNARSKA, A. Morphological deformation of *Daphnia magna* embryos caused by prolonged exposure to ibuprofen. **Environmental Pollution**, v. 261, 114135, 2020.
- GUO, J.; PENG, J.; LEI, Y.; KANERVA, M.; LI, Q.; SONG, J.; GUO, J.; SUN, H. Comparison of oxidative stress induced by clarithromycin in two freshwater microalgae *Raphidocelis subcapitata* and *Chlorella vulgaris*. **Aquatic Toxicology**, v. 219, 105376, 2020.
- HABIBZADEH, M.; CHAIBAKHSH, N.; NAEEMI, A. S. Optimized treatment of wastewater containing cytotoxic drugs by living and dead biomass of the freshwater microalga, *Chlorella vulgaris*. **Ecological Engineering**, v. 111, p. 85-93, 2018.
- ISECKE, B. G.; OLIVEIRA NETO, J. R.; SALAZAR, V. C. R.; CUNHA, L. C.; VIEIRA, R. P.; NUNES, E. S.; SOUZA, K. M.; TERAN, F. J. C. Estudo da degradação de etinilestradiol por meio de fotólise e fotocatalise heterogênea. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 4, p. 963-976, 2018.
- JOJOA-SIERRA, S. D.; SILVA-AGREDO, J.; HERRERA-CALDERON, E.; TORRES-PA, R. A. Elimination of the antibiotic norfloxacin in municipal wastewater, urine and seawater by electrochemical oxidation on IrO₂ anodes. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 1228-1238, 2017.
- JØRGENSEN, S.; TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Handbook of inland aquatic ecosystem management**. Flórida: CRC Press, 2012. 452 p.
- KIM, R.; JO, M.; SONG, J.; KIM, I.; YOON, S.; KIM, W. Novel approach for evaluating pharmaceuticals toxicity using *Daphnia* model: analysis of the mode of cytochrome P450-generated metabolite action after acetaminophen exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 196, p. 35-42, 2018.
- LECOMTE, S.; DEMAY, F.; FERRIERE, F.; PAKDEL, F. Phytochemicals targeting estrogen receptors: beneficial rather than adverse effects? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 7, p. 1381, 2017.
- LI, S.; SHI, W.; YOU, M.; ZHANG, R.; KUANG, Y.; DANG, C.; SUN, W.; ZHOU, Y.; WANG, W.; NI, J. Antibiotics in water and sediments of Danjiangkou Reservoir, China: spatiotemporal distribution and indicator screening. **Environmental Pollution**, v. 246, p. 435-442, 2019.
- LI, W. C. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. **Environmental Pollution**, v. 187, p. 193-201, 2014.
- LIMA, D. R. S.; TONUCCI, M. C.; LIBÂNIO, M.; AQUINO, S. F. DE. Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 1043-1054, 2017.
- LINDIM, C.; GILS, J. VAN; GEORGIEVA, D.; MEKENYANC, O.; COUSINS, I. T. Evaluation of human pharmaceutical emissions and concentrations in Swedish river basins. **Science of the Total Environment**, v. 572, p. 508-519, 2016.

LÓPEZ-DOVAL, J. C.; MONTAGNER, C. C.; ALBURQUERQUE, A. F. DE; MOSCHINI-CARLOS, V., UMBUZEIRO, G.; POMPÊO, M. Nutrients, emerging pollutants and pesticides in a tropical urban reservoir: Spatial distributions and risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 1307-1324, 2017.

MINILLO, A.; ISIQUE, W. D.; PRADO, H. F. A. DO; TANGERINO, E. P. Biodegradação de fármacos na água por microrganismos associados em filtros biológicos de carvão. **Revista DAE**, v. 179, p. 42-49, 2009.

MONNERET, C. What is an endocrine disruptor? **Comptes Rendus Biologies**, v. 340, n. 9-10, p. 403-405, 2017.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 1452, 2011.

MUTIYAR, P. K.; GUPTA, S. K.; MITTAL, A. K. Fate of pharmaceutical active compounds (PhACs) from River Yamuna, India: an ecotoxicological risk assessment approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 150, p. 297-304, 2018.

NAKAMURA, Y.; YAMAMOTO, H.; SEKIZAWA, S.; KONDO, T.; HIRAI, N.; TATARAZAKO, N. The effects of pH on fluoxetine in Japanese medaka (*Oryzias latipes*): acute toxicity in fish larvae and bioaccumulation in juvenile fish. **Chemosphere**, v. 70, p. 865-873, 2008.

NGUMBA, E.; GACHANJA, A.; TUHKANENA, T. Occurrence of selected antibiotics and antiretroviral drugs in Nairobi River Basin, Kenya. **Science of the Total Environment**, v. 539, p. 206-213, 2016.

NKOO, M.; LU, G.; LIU, J.; DONG, H.; YANG, H. Bioconcentration, behavioral, and biochemical effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac in *Daphnia magna*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 5704-5712, 2019.

OLIVEIRA, S. M. A. C.; SPERLING, M. Avaliação de 166 ETES em operação no país, compreendendo diversas tecnologias. Parte 2: influência de fatores de projeto e operação. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 358-368, 2005.

ONDARZA, P. M.; HADDAD, S. P.; AVIGLIANO, E.; MIGLIORANZA, K. S. B.; BROOKS, B. W. Pharmaceuticals, illicit drugs and their metabolites in fish from Argentina: Implications for protected areas influenced by urbanization. **Science of the Total Environment**, v. 649, n.1, p. 1029-1037, 2019.

OSORIO, V.; LARRAÑAGA, A.; ACEÑA, J.; PÉREZ, S.; BARCELÓ, D. Concentration and risk of pharmaceuticals in freshwater systems are related to the population density and the livestock units in Iberian Rivers. **Science of the Total Environment**, v. 540, p. 267-277, 2016.

PAROLINI, M.; BINI, L.; MAGNI, S.; RIZZO, A.; GHILARDI, A.; LANDI, C.; *et al.* Exposure to cocaine and its main metabolites altered the protein profile of zebrafish embryos. **Environmental Pollution**, v. 232, p. 603-614, 2018.

PICO, Y.; BELENGUER, V.; CORCELLAS, C.; DIAZ-CRUZ, M. S.; ELJARRAT, E.; FARRÉ, M.; GAGO-FERRERO, P.; HUERTA, B.; NAVARRO-ORTEGA, A.; PETROVIC, M.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; SABATER, L.; SANTÍN, G.; BARCELO, D. Contaminants of emerging concern in freshwater fish from four Spanish Rivers. **Science of the Total Environment**, v. 659, p. 1186-1198, 2019.

ROBSON, L.; BARNHOORN, I. E. J.; WAGENAAR, G. M. The potential effects of efavirenz on *Oreochromis mossambicus* after acute exposure. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 56, p. 225-232, 2017.

RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; CONCHA-GRAÑA, E.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, v. 86, p. 1040-1049, 2012.

RODRIGUES, K. L. T.; SANSON, A. L.; QUARESMA, A. DE V.; GOMES, R. DE P.; SILVA, G. A. DA; FRANCO AFONSO, R. J. DE C. F. Chemometric approach to optimize the operational parameters of ESI for the determination of contaminants of emerging concern in aqueous matrices by LC-IT-TOF-HRMS. **Microchemical Journal**, v. 117, p. 242-249, 2014.

SANTOS, A. V.; COUTO, C. F.; LEBRON, Y. A. R.; MOREIRA, V. R.; FOUREAUX, A. F. S.; REIS, E. O.; SANTOS, L. V. DE S.; ANDRADE, L. H. DE; AMARAL, M. C. S.; LANGE, L. C. Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in water supply systems in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 746, 141011, 2020.

SMIRNOV, N. N. 2017. **Physiology of the cladocera**. London: Elsevier, 2017. 402 p.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO (SNIS). **Diagnóstico dos serviços de água e esgotos 2017**. Brasília, DF: SNIS, 2017. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/diagnostico-anual-agua-e-esgotos/diagnostico-ae-2017>. Acesso em: 03 out. 2020.

SOUZA, D. I. DE; DOTTEIN, E. M.; GIACOBBO, A.; RODRIGUES, M. A. S.; PINHO, M. N. DE; BERNARDES, A. M. Nanofiltration for the removal of norfloxacin from pharmaceutical effluent. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, p. 6147-6153, 2018.

SPINA, F.; CORDERO, C.; SGORBINI, B.; SCHILIRÓ, T.; GILLI, G.; BICCHI, C.; VARESE, G. Endocrine disrupting chemicals (EDCs) in municipal wastewaters: effective degradation and detoxification by fungal laccases. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 32, p. 391-396, 2013.

THIELE, C. J.; HUDSON, M. D.; RUSSELL, A. E. Evaluation of existing methods to extract microplastics from bivalve tissue: adapted KOH digestion protocol improves filtration at single-digit pore size. **Marine Pollution Bulletin**, v. 142, p. 384-393, 2019.

TONG, M.; LI, X.; LUO, Q.; YANG, C.; LOU, W.; LIU, H.; DU, C.; NIE, L.; ZHONG, Y. Effects of humic acids on biotoxicity of tetracycline to microalgae *Coelastrrella* sp. **Algal Research**, v. 50, 101962, 2020.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Treating contaminants of emerging concern: a literatura review database**. Washington, DC: EPA, 2010. Disponível em: <https://nepis.epa.gov/>. Acesso em: 17 jun. 2021.

VERLICCHI, P.; AUKIDY, M. A.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment: a review. **Science of the Total Environment**, v. 429, p. 123-155, 2012.

VOIGT, A. M.; CIORBA, P.; DÖHLA, M.; EXNER, M.; FELDER, C.; LENZ-PLET, F.; SIB, E.; SKUTLAREK, D.; SCHMITHAUSEN, R. M.; FAERBER, H.A. The investigation of antibiotic residues, antibiotic resistance genes and antibiotic-resistant organisms in a drinking water reservoir system in Germany. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 224, 113449, 2020.

XIONG, J.; KURADE, M. B.; KIM, J. R.; ROH, H.; JEON, B. Ciprofloxacin toxicity and its co-metabolic removal by a freshwater microalga *Chlamydomonas mexicana*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 323, p. 212-219, 2017a.

XIONG, J.; KURADE, M. B.; JEON, B. Biodegradation of levofloxacin by an acclimated freshwater microalga, *Chlorella vulgaris*. **Chemical Engineering Journal**, v. 313, p. 1251-1257, 2017b.

WARDLE, B. **Principles and applications of photochemistry**. Wiley, 2009. 264 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO report on surveillance of antibiotic consumption: 2016 – 2018: early implementation**. Geneva: WHO, 2018. 127 p.

YANG, W. .; TANG, Z.; ZHOU, F.; ZHANG, W.; SONG, L. Toxicity studies of tetracycline on *Microcystis aeruginosa* and *Selenastrum capricornutum*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 35, p. 320-324, 2013.

YOKOTA, H.; EGUCHI, S.; HASEGAWA, S.; OKADA, K.; YAMAMOTO, F.; SUNAGAWA, F.A.; TANAKA, M.; YAMAMOTO, R.; NAKANO, E. Assessment of in vitro antiovarial activities of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and comparison with in vivo reproductive toxicities of medaka (*Oryzias latipes*). **Environmental Toxicology**, v. 31, p. 1710-1719, 2015.

ZHOU, C; CHEN, J.; XIE, Q.; WEI, X.; ZHANG, Y.; FU, Z. Photolysis of three antiviral drugs acyclovir, zidovudine and lamivudine in surface freshwater and seawater. **Chemosphere**, v. 138, p. 792-797, 2015.

ZOELLER, R. T. Environmental chemicals as thyroid hormone analogues: New studies indicate that thyroid hormone receptors are targets of industrial chemicals? **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 242, p. 10-15, 2005.

CAPÍTULO 5

MICROCISTINA – A TOXINA MAIS COMUM PRODUZIDA POR CIANOBACTÉRIAS: ASPECTOS GERAIS, BIOSÍNTESE E TOXICIDADE

Stella Bortoli¹

Ernani Pinto²

1- Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

2- Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo - Campus da ESALQ/USP

RESUMO

As microcistinas são produtos do metabolismo de diferentes gêneros de cianobactérias e consideradas toxinas, uma vez que têm o potencial de causar danos ao homem e a outros organismos. Reportadas em todos os continentes do planeta, compõem um grande grupo de heptapeptídeos cíclicos com mais de 200 variantes conhecidas. Este capítulo descreve características gerais dessas toxinas, sua estrutura química, biossíntese e explora o que até hoje se conhece sobre seus efeitos tóxicos sobre os organismos. Inclui ainda relatos de casos de intoxicações humanas em diferentes características de exposição como forma de exemplificar o potencial toxicológico desses compostos e a necessidade constante do monitoramento ambiental, a fim de proteger a saúde dos ecossistemas e da população.

MICROCISTINA: A TOXINA MAIS COMUM PRODUZIDA POR CIANOACTÉRIAS

A microcistina é uma toxina peptídica cíclica, hepatotóxica e potencialmente carcinogênica que ocorre com frequência em ambientes aquáticos em todo o mundo. Sua presença cada vez mais comum nesses habitats ameaça seriamente o ecossistema e a saúde pública, além de representar um grande desafio para a produção de água potável (SIVONEN; JONES, 1999; ZHOU *et al.*, 2021).

Referidas anteriormente na literatura como cianoginosina, com o prefixo 'ciano' derivado de cianobactéria e 'ginosina' de aeruginosa, ou cianoviridinas, derivadas do nome da espécie *Microcystis viridis*, ou "fast death factor" ou ainda toxina de *Microcystis*, hoje são chamadas somente de microcistinas (BOUAÏCHA *et al.*, 2019; CARMICHAEL *et al.*, 1988). As microcistinas compõem um grande grupo de cianotoxinas produzidas por diversos gêneros de cianobactérias, como *Microcystis*, *Dolichospermum* (*Anabaena*), *Oscillatoria*, *Anabaenopsis*, *Nostoc*, *Hapalosiphon*, *Synechocystis* e *Lyngbya* (DAWSON, 1998; MSAGATI; SIAME; SHUSHU, 2006; SIVONEN, 2006). Entre as espécies produtoras cabe destacar a *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846 como particularmente dominante em inúmeras florações ao redor do planeta (ZHOU *et al.*, 2021). Identificada inicialmente por Hughes e colaboradores em 1958 ao injetar em camundongos via intraperitoneal uma cultura de *M. aeruginosa* e observar sintomas similares aos descritos em numerosos eventos de florações tóxicas (HUGHES; GORHAM; ZEHNDER, 1958). A primeira microcistina foi isolada e caracterizada somente em meados de 1978 por Elleman e colaboradores, também da espécie *M. aeruginosa*. Foi descrita como um heptapeptídeo cíclico com massa molecular variando entre 800 a 1100 (ELLEMAN *et al.*, 1978; SIVONEN; JONES, 1999). Desde então, novas variantes da molécula foram reportadas no mundo todo. Até o momento são conhecidas mais de 100 variantes naturais da molécula (BORTOLI; VOLMER, 2014; BOUAÏCHA *et al.*, 2019).

Populações de cianobactérias produtoras e não-produtoras de microcistinas podem coexistir no mesmo ecossistema e são indistinguíveis por microscopia ótica. Entre os métodos mais comumente usados para detectar e principalmente identificar as toxinas destacam-se a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com diferentes detectores e as técnicas de espectrometria de massas (MS). Outros métodos, como ensaio de inibição das fosfatases, ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* ou ensaio de imunabsorção enzimática) e ensaios moleculares são bastante úteis para a detecção, mas não tão seletivos para a identificação ou sensíveis para a quantificação quanto os anteriormente mencionados (BORTOLI; PINTO, 2015).

A microcistina é extremamente estável em diversas condições. São solúveis em metanol e em água, mas insolúveis em solventes apolares (VAN APELDOORN *et al.*, 2007). Em ambientes naturais, principalmente na ausência de luz, as microcistinas podem permanecer estáveis por meses e até anos. A hidrólise ou oxidação em pH neutro não ocorrem. São estáveis a altas temperaturas, não sendo degradadas com a fervura da água. A hidrólise rápida ocorre apenas em condições extremas, como quando expostas a HCl 6M em temperatura elevada. As microcistinas podem ser oxidadas pelo ozônio e outros agentes oxidantes fortes. São degradadas por exposição intensa a luz ultravioleta. Tais processos têm relevância para o tratamento da água, sendo lenta a degradação no ambiente natural. A incidência da luz solar promove a degradação fotoquímica e isomerização lenta da microcistina. Tais reações têm suas taxas aumentadas na presença de pigmentos celulares hidrossolúveis, como as ficobiliproteínas. A degradação das microcistinas pela radiação solar no ambiente natural também sofre influência do carbono orgânico dissolvido, profundidade na coluna d'água, turbidez e condições de insolação, principalmente as estações do ano (SIVONEN; JONES, 1999).

Esse grupo de cianotoxinas são os mais encontrados na natureza e a estrutura básica da microcistina é denominada de ciclo (D-Ala1-X2-D-MeAsp3-Z4-Adda5-D-Glu6-Mdha7). São cinco aminoácidos praticamente invariáveis, D-alanina (1), D-MeAsp (ácido D-metilaspártico) (3), Adda (ácido 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenil-4,6dienóico) (5), ácido D-glutâmico (6) e Mdha (N-metildiidroalanina) (7). E dois L-aminoácidos variáveis X e Z (2 e 4). Além de diferentes radicais nos aminoácidos das posições (3) e (7), R1 e R2 que podem ser H (hidrogênio) ou CH3 (grupo metil) (SIVONEN, 2006; SIVONEN; JONES, 1999). Como pode ser observado na Fig. 1.

Uma alteração bastante comum a essas moléculas é na posição 7. Normalmente nesta posição está o grupo Mdha (N-metildiidroalanina) ou ainda esse mesmo radical desmetilado, o Dha (diidroalanina). Em algumas variantes é encontrado o radical Dhb (diidrobutirina). Outros aminoácidos podem ocupar esta posição, como o D- e L- Alanina e N-MeAla (N- metil alanina) ou ainda L-Ser (serina) (KAYA *et al.*, 2001).

Outra posição que comumente sofre modificação é a posição 3. Esta posição é geralmente ocupada pelo D-MeAsp, porém, a desmetilação desse aminoácido, o D-Asp (ácido aspártico) é uma substituição frequente (HARADA *et al.*, 1990). Além disso, outras variações como desmetilação ou acetilação no carbono 9 do aminoácido ADDA podem ocorrer (FUREY *et al.*, 2008)

A nomenclatura atual ainda estabelece que as duas letras do sufixo indiquem os aminoácidos que se ligam às posições X e Z (2 e 4) da molécula (CARMICHAEL *et al.*, 1988). Essas posições são as que apresentam mais variações, podendo ser ocupadas por diferentes aminoácidos, como: arginina, leucina, alanina, tirosina, fenilalanina e triptofano (FUREY *et al.*, 2008).

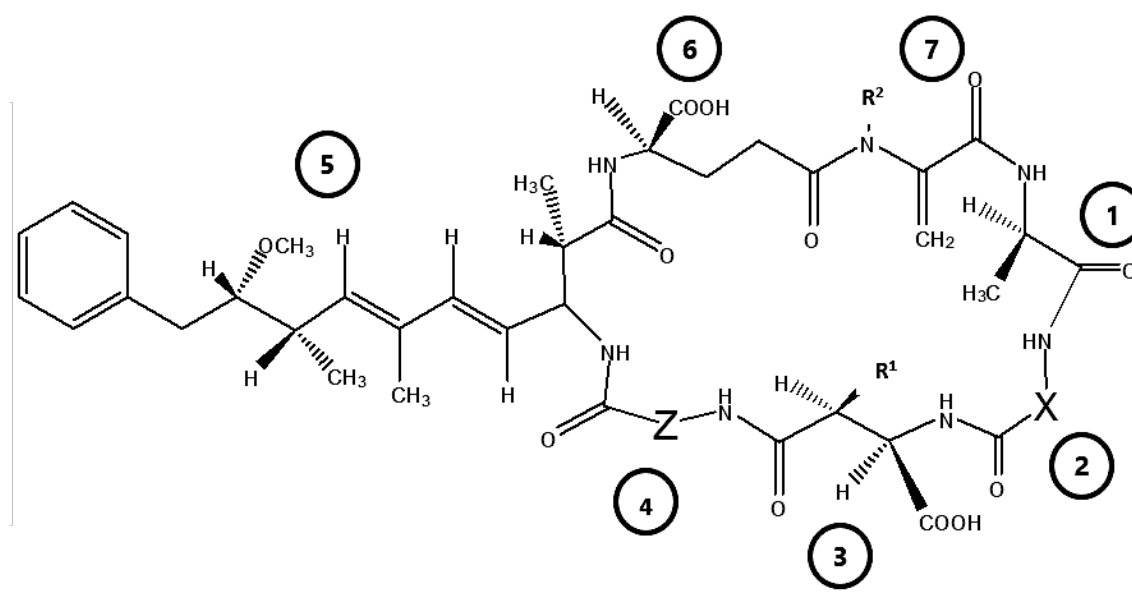


Figura 1: Esquema da estrutura molecular da microcistina. (Desenhada com o software ChemDraw ® versão 11.0)

As estruturas de alguns desses análogos foram definitivamente elucidadas após o isolamento químico usando uma combinação de técnicas, incluindo ressonância magnética nuclear, análise de aminoácidos e espectrometria de massa sequencial (em inglês: *tandem*; MS/MS). Outros foram apenas provisoriamente identificados por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) sem isolamento químico prévio. Recentemente, Bouaïcha e colaboradores descreveram em um artigo de revisão 279 análogos da microcistina, sendo muitos desses resultados de transformações químicas e bioquímicas que podem ocorrer durante o manuseio da amostra e processos de extração, incluindo produtos de oxidação, ésteres metílicos ou metabólitos pós-biossintéticos (BOUAÏCHA *et al.*, 2019).

BIOSSÍNTESE DE MICROCISTINAS E TRANSCRIÇÃO GÊNICA

Os recentes avanços das técnicas de biologia molecular promoveram a compreensão mais detalhada da produção dos metabólitos secundários produzidos pelas cianobactérias. Possibilitaram estudos que envolvem a descoberta dos genes e vias biossintéticas envolvidas na produção da cianotoxina microcistina a partir de espécies de *Microcystis sp.* Isto foi possível a partir da elucidação da organização estrutural dos genes relacionados com a síntese dessa toxina. A biossíntese de microcistinas pela via não ribossomal foi descrita em detalhes nas cepas de *Microcystis aeruginosa* PCC-7806 (TILLET *et al.*, 2000);

Planktothrix (CHRISTIANSEN *et al.*, 2003) e *Anabaena* Strain 90 (ROUHIAINEN *et al.*, 2004), o que permitiu explorar a potencialidade dos genes envolvidos na produção dessa toxina.

O genoma completo da *Microcystis aeruginosa* já foi totalmente elucidado. É um único cromossomo circular que contém 5.842.795 pares de base, compreendendo 6.312 genes codificadores de proteínas. Sequências insercionais e elementos de transposição representam 11,8% do genoma e conferem à espécie grande plasticidade através de mecanismos que envolvem recombinações homólogas mediante elementos repetitivos de DNA. Três agrupamentos de genes responsáveis pela síntese não ribossômica de peptídeos foram encontrados durante a caracterização do genoma da *Microcystis aeruginosa* – NIES-843. Um deles é responsável pela síntese de microcistinas (*mcyA-J*) outro pela síntese de cianopeptolinas e o último ainda com função desconhecida (KANEKO *et al.*, 2007).

A síntese de microcistinas ocorre fora dos ribossomos, através de um grande complexo enzimático multifuncional, o qual consiste de vários módulos de síntese de peptídeos não ribossomais e síntese de policetídeos, denominados NRPS (*non-ribosomal peptide synthase*) e PKS (*polyketide synthase*), respectivamente. Esses complexos enzimáticos constituem uma classe de proteínas multifuncionais que regem complexas reações enzimáticas com mecanismos muito interessantes e de grande apelo comercial pela possibilidade de sintetizarem uma infinidade de metabólitos secundários, muitos dos quais são fármacos utilizados na terapêutica, como antibióticos e imunossupressores. Essas enzimas representam algumas das maiores proteínas conhecidas e por consequência desta característica multifuncional, uma única proteína pode catalisar dezenas de reações bioquímicas (HUTCHINSON, 2003).

Na biossíntese da microcistina, os módulos de síntese de peptídeos individuais catalisam a ativação de amino/hidroxi ácidos e reações de formação de tioésteres na mesma razão na qual seus resíduos são incorporados nas cadeias heptapeptídicas em formação. O alongamento desta cadeia é catalisado pelo cofator de enzima de ligação, a 4-fosfopanteteína. É proposto que a síntese de policetídeos esteja envolvida na produção do ácido graxo presente em um dos lados da cadeia do aminoácido Adda, cuja presença confere toxicidade (KAEERNICK *et al.*, 2002; KAEERNICK; NEILAN, 2001).

Estudos genéticos sobre sínteses não ribossômicas de peptídeos, via enzimas multifuncionais, não são exclusivos de cianobactérias. Ao contrário, foram primeiramente estudados em vários gêneros de bactérias, fungos e actinomicetos. Os genes envolvidos na síntese de peptídeos estão geralmente relacionados à biossíntese de antibióticos, exotoxinas e outros compostos bioativos. Acredita-se que a regulação destes genes seja um controle primário do início da transcrição, possivelmente via sistema duplo de componentes bacterianos que estão envolvidos na transdução de informações referentes a condições ambientais através de um ativador (sensor quinase) e uma proteína receptora, via fosforilação (KAEERNICK; NEILAN, 2001). Genes codificadores da síntese de peptídeos das cianobactérias estão geralmente agrupados em unidades funcionais do genoma com domínios repetidos onde os núcleos sequenciais bem conservados foram identificados (BOUAÏCHA *et al.*, 2019).

A elucidação do agrupamento gênico (*mcy*) responsável pela síntese da microcistina tornou possível o desenvolvimento de técnicas moleculares capazes de estudar diferentes gêneros produtores de microcistina. O agrupamento *mcy* é significativamente diferente entre os diferentes gêneros produtores de microcistinas, como *Microcystis*, *Anabaena* e *Planktothrix*; as diferenças encontradas dizem respeito à organização e à presença dos genes *mcy* envolvidos, bem como na sequência de nucleotídeos (BOUAÏCHA *et al.*, 2019). O agrupamento *mcyA-J* foi identificado e sequenciado na espécie *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 (BOUAÏCHA *et al.*, 2019) e na cepa também de *M. aeruginosa* NIES-843 (KANEKO *et al.*, 2007). Ele é composto por 55kb em 10 quadros de leitura ou *open reading frames* (ORFs), são módulos arranjados em duas prováveis unidades funcionais - operons (*mcyA-C* e *mcyD-J*), o que também revelou ser uma estrutura bidirecional. Sabe-se, portanto que o gene *mcy* é modular e cada um dos módulos que o compõem ativa e incorpora à molécula diferentes constituintes do heptapeptídeo. Pode ser dividido da seguinte maneira: os genes *mcyA-C* são responsáveis pela síntese dos heptapeptídeos, ativação e incorporação do N-metildiidoalanina (MdhA), D-alanina, arginina (X/Z) e D-Metil-aspartato durante a biossíntese da microcistina e também pela ciclização final do heptapeptídeo. Enquanto os genes *mcyD-J* são responsáveis pela síntese tanto dos peptídeos quanto dos policetídeos, catalisando a formação do Adda e sua ligação ao glutamato (KURMAYER; KUTZENBERGER, 2003).

De um total de 48 reações sequenciais envolvidas na biossíntese da microcistina, 45 foram atribuídas aos domínios catalíticos com seis grandes multienzimas de síntese (*mcyA-E, G*), as quais incorporam à molécula precursores do fenilacetato, malonil-coenzimaA, S-adenosil-L-metionina, serina e leucina. O gene *mcyJ* está envolvido na O-metilação, *mcyF* na epimerização, *mcyI* na desidratação e o *mcyH* na localização (TILLET *et al.*, 2000).

A mutagênese insercional de alguns desses genes (*mcyA, B e D*) produzem cepas não produtoras de toxina, evidenciando ainda mais o envolvimento deste gene na síntese de microcistinas (KAEBERNICK; NEILAN, 2001). Portanto, cepas que não produzem MCs podem resultar de inativação por mutação pontual ou por deleção parcial ou completa dos genes *mcy* (BOUAÏCHA *et al.*, 2019).

O *mcyB* codifica a síntese para um peptídeo de 242,334 Da, composto por dois módulos que possuem domínios de adenilação, tiolação e condensação. É provável que o *mcyB* esteja envolvido na ativação dos dois aminoácidos que podem variar nas posições X/Z da molécula (BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2003). O esquema do grupamento gênico responsável pela síntese das microcistinas pode ser visto na figura a seguir (Fig. 2).

MECANISMO DE AÇÃO E TOXICIDADE

A maioria das variantes das microcistinas são consideradas extremamente tóxicas para corpos de água doce, ecossistema marinho e do ponto de vista de saúde pública. Elas ainda podem ser acumuladas em organismos aquáticos e plantações que se utilizam de águas contaminadas para irrigação, deste modo, representam um grande risco aos seres humanos e outros animais através das cadeias alimentares (MASSEY *et al.*, 2018; SIVONEN; JONES, 1999).

Existem várias formas que os seres humanos podem se expor às microcistinas, seja pelo contato direto com as células das cianobactérias produtoras ou pela toxina já dissolvida na água, uma vez que as microcistinas são endotoxinas e liberadas para o meio quando há a lise da membrana da cianobactéria. A ingestão de água contaminada é a rota mais frequentemente investigada, principalmente nas exposições crônicas, quando se tem ingestão de água com baixas concentrações da toxina por longos períodos de tempo. Outra maneira de exposição a partir da água contaminada por toxinas é a ingestão recreacional acidental, quando o indivíduo ao se banhar acaba também ingerindo a água. Atividades como recreação aquática, natação, canoagem ou esqui aquático em áreas contaminadas, pode levar à exposição principalmente dérmica e ocular resultando em irritação, reações alérgicas e erupções cutâneas. Tais atividades também podem proporcionar a inalação de gotículas, sendo essa outra via de exposição. Consumo de alimentos contaminados, seja por irrigação direta com água contendo toxinas ou pelo processo de bioacumulação (MASSEY *et al.*, 2018).

A capacidade das microcistinas de se acumularem em organismos aquáticos, que são uma fonte de alimento para muitos outros organismos e animais, é conhecido da literatura. Esta bioacumulação de microcistinas em cadeias alimentares é uma preocupação maior para a saúde pública. Há diversos estudos da detecção das microcistinas em diferentes organismos, tais como no fitoplâncton, zooplâncton, gastrópodes, copépodes e larvas de caranguejo. Bem como em mexilhões, caramujos e várias espécies de peixes (VAN APELDOORN *et al.*, 2007).

Muitos estudos para elucidar o mecanismo de ação destas moléculas têm sido conduzidos *in vitro* - nas preparações de células isoladas, *in situ* - em sistemas e órgãos isolados e também *in vivo* - em animais de laboratório.

Exceto para algumas microcistinas hidrofóbicas, a maioria não penetra diretamente a membrana lipídica animal, vegetal ou das bactérias. Sua entrada nas células ocorre através dos transportadores de membrana, como exemplo o transportador de ácido biliar em hepatócitos (OATP – *Organic anion-transporting polypeptide*). Este é o motivo pelo qual o fígado é o órgão primário para exposição e intoxicação por microcistinas. Nas administrações de doses sub-letais de microcistina radioativamente marcada, feitas por via intravenosa e intraperitoneal em ratos, observa-se que rapidamente cerca de 70% da toxina é encontrada no fígado do animal (SIVONEN; JONES, 1999). Por via oral, microcistina-LR em

mamíferos é transportado através do íleo para a corrente sanguínea através do sistema de transporte de ácido biliar presente nos hepatócitos e células que revestem o intestino delgado. Acabam concentradas no fígado como resultado da absorção ativa pelos hepatócitos. Algumas variantes mais hidrofóbicas do que microcistinas- LR podem cruzar membranas por outros mecanismos, incluindo difusão (VAN APELDOORN *et al.*, 2007).

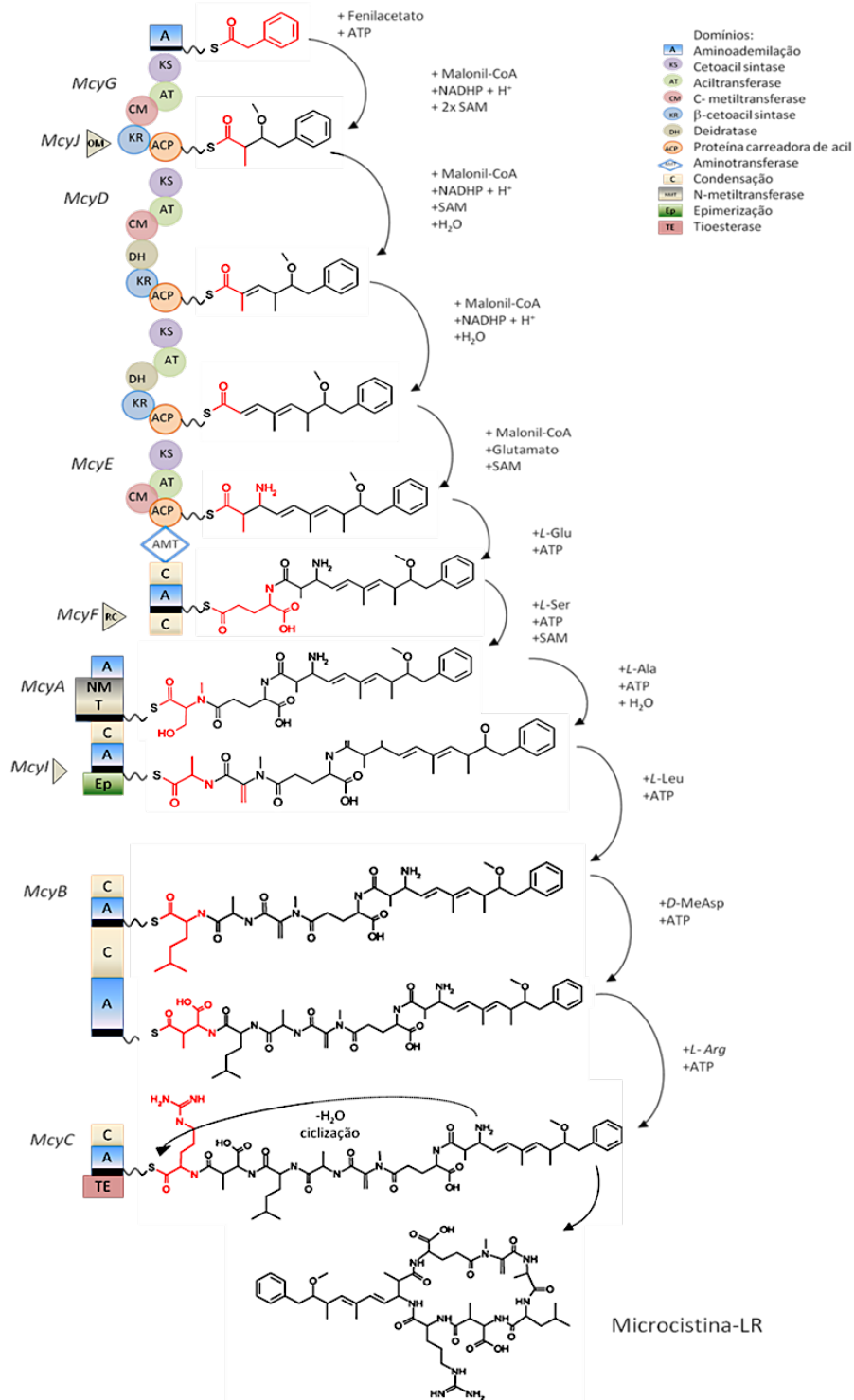


Figura 2: Representação esquemática da organização do gene cluster *mcy*. Adaptada de (TILLET *et al.*, 2000).

O principal mecanismo de ação da microcistina sobre os organismos é a inibição das proteínas fosfatases 1 e 2A (PP1 e PP2A). Essas proteínas têm o papel importante na manutenção da homeostase celular (VAN APELDOORN *et al.*, 2007). O radical Mdha das microcistinas se liga covalentemente a cisteína das enzimas fosfatases (cys-237 das PP1 e cys-266 das PP2A), enquanto o aminoácido raro, ADDA, é responsável pela inibição específica das PPs (DITTMANN; WIEGAND, 2006). A inibição dessas enzimas é resultado de uma interação inicialmente não-covalente mediada pelo Adda com a parte apolar do triptofano das PPs (VAN APELDOORN *et al.*, 2007). A ligação do Mdha oferece estabilidade adicional ao complexo formado, entretanto não é necessária para a inibição enzimática (DITTMANN; WIEGAND, 2006). Sendo portanto, a presença do aminoácido Adda essencial para a expressão da atividade biológica dessa cianotoxina e de outros peptídeos cíclicos, como as nodularinas (SIVONEN; JONES, 1999).

Como resultado da inibição das fosfatases, há o aumento da fosforilação das proteínas celulares. Esta é a principal causa de mudanças na morfologia celular, principalmente dos hepatócitos. Os danos às células hepáticas incluem desorganização de citoesqueleto, peroxidação lipídica, perda da integridade da membrana, fragmentação de DNA, apoptose, dilaceração celular, necrose e sangramento intra-hepático, os quais podem levar a morte por choque hemorrágico (DITTMANN; WIEGAND, 2006; SIVONEN; JONES, 1999; VAN APELDOORN *et al.*, 2007).

A hiperfosforilação também é um dos mecanismos responsáveis pela promoção de tumores devido a: (i) formação de nódulos nos hepatócitos associados às mudanças morfológicas e (ii) inativação dos produtos dos genes supressores de tumor (retinoblastoma e P53) (CAMPOS; VASCONCELOS, 2010; DITTMANN; WIEGAND, 2006).

Outro processo importante da toxicidade às microcistinas é o estresse oxidativo que elas promovem pela formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). As ERO podem ser os radicais superóxido, hidroxila e radicais de compostos orgânicos celulares, que participam de reações como a peroxidação lipídica, a oxidação de proteínas e também do DNA ou ainda por espécies reativas, como o H₂O₂, peróxidos orgânicos e o oxigênio singlete. A formação das ERO pode estar relacionada com a desorganização do citoesqueleto e conseqüente hepatotoxicidade, além disso, o aumento da sua produção pode ocorrer pela ruptura da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial. A formação de ERO pela MC-LR em cultura de hepatócitos de ratos, também está relacionada com alterações na concentração de glutatona. Um estudo observou que mesmo em concentrações mais baixas do que as recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para exposição crônica, a microcistina afeta leucócitos polimorfonucleares (PMN) humanos. O efeito da microcistina sobre os PMN é um incremento para sua atividade tóxica. Os PMN se deslocam da corrente sanguínea até a área de maior concentração da toxina, o fígado. O efeito direto da microcistina nos hepatócitos causa dano citoplasmático, necrose, hemorragia hepática e fibrose é a causa do influxo das células inflamatórias, além do efeito quimiotático exercido pelas microcistinas nos PMN (KUJBIDA *et al.*, 2006).

A biotransformação ocorre por conjugação da microcistina e da glutatona intracelular, pela ação da enzima glutatona-S-transferase. Este complexo conjugado permanece ativo e ainda é capaz de inibir as PPs. É então metabolizado pelas enzimas gama glutamil transferase e peptidases e forma a MC-cisteína-S conjugada. Essa biotransformação é comum aos humanos e outros organismos aquáticos, como peixes, mexilhões, dáfias e macrófitas, bem como em roedores e aves (DITTMANN; WIEGAND, 2006)

As microcistinas e a microcistina-conjugada são levadas pela corrente circulatória até outros órgãos, músculos e cérebro. Os rins são afetados e podem sofrer apoptose celular e degeneração morfológica das cápsulas de Bowman e dos túbulos renais (SIVONEN, 2006). A meia vida de eliminação da microcistina em ratos é de cerca de 30 min. A excreção em camundongos se dá principalmente pelas fezes (15%) e urina (9%), e sua maior parte não é metabolizada e detectada até seis dias após exposição (VAN APELDOORN *et al.*, 2007).

Numa exposição aguda, quando o indivíduo, por exemplo, ingere água contaminada com altas concentrações de microcistinas, os efeitos observados são inicialmente no trato digestivo, como diarreia e náusea, posteriormente se observam os efeitos do dano e possível hemorragia hepática, podendo, em casos mais graves levar à morte por choque hemorrágico (SIVONEN; JONES, 1999). Estudos

epidemiológicos mais recentes sugerem que as intoxicações crônicas estão relacionadas à evolução do dano hepático e alterações nas concentrações das principais enzimas hepáticas, como a AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), ALP (fosfatase alcalina) e GGT (gama glutamil transferase) e também ao desenvolvimento de câncer hepático. Esse fato corrobora os estudos toxicológicos que demonstram que as microcistinas podem afetar a expressão da oncogênese através da ativação de vias de proliferação e diferenciação celular, tais como as vias MAPK (*mitogen-activated protein kinase* ou proteína quinase ativada por mitógeno) e AKT (proteína quinase) que é uma proteína efetora central chave em múltiplas vias de regulação e transdução de sinal, essencial para a sobrevivência e proliferação celular, promovendo dessa forma a ocorrência e desenvolvimento de câncer (SHI *et al.*, 2021).

Essas descobertas e comprovações científicas levaram a classificação da microcistinas-LR como possivelmente cancerígeno para humanos (grupo 2B) pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) em 2010 (IARC, 2010).

Apesar do fígado ser claramente o órgão alvo da ação deletéria das microcistinas no organismo, essas toxinas atingem outros órgãos a partir da corrente circulatória e exercem outros efeitos tóxicos. Por exemplo, podem ocasionar mudanças estruturais e funcionais dos rins, causar dano patológico e perturbação dos níveis de hormônios sexuais nas gônadas, levando a destruição do citoesqueleto de células germinativa, apoptose e indução de tumor. Foram também reportados efeitos tóxicos no baço, sobre o sistema imunológico e ainda sobre o metabolismo da glicose e lipídeos (SHI *et al.*, 2021).

A toxicidade das microcistinas representada em DL50 varia entre 50µg/kg a 1.200µg/kg de peso corpóreo, dependendo da variante da molécula. A toxicidade da microcistina-LR pela via intraperitoneal é de 50µg/kg em ratos e por via oral é de 5.000µg/kg a 10.000µg/kg dependendo da espécie de ratos ou camundongos que foi exposta. A toxicidade de outras microcistinas (MC), como MC-LA, MC-YR, e MC-YM é semelhante à MC-LR, mas outras como a MC-RR por via intraperitoneal o DL50 é dez vezes maior que a MC-LR. Outro exemplo da variação da atividade biológica é a 6(E)-Adda-microcistina que é bastante tóxica. Na presença de radiação ultra violeta, esta variante torna-se o isômero não tóxico 6(Z)-Adda-microcistina e vice-versa (SIVONEN; JONES, 1999). A rapidez com que a microcistina pode causar um dano grave ao fígado é muito superior quando comparadas a outras cianotoxinas hepatotóxicas, assim sendo, uma administração intraperitoneal em rato demora entre 1h a 3h para levar o animal ao óbito (VAN APELDOORN *et al.*, 2007).

A comparação da toxicidade de algumas variantes da microcistina, comumente encontradas na natureza pode ser observada na Tab. 1, na forma de DL50 e também os valores da massa monoisotópica neutra exata.

Tabela 1: Toxicidade de algumas variantes de microcistina e sua massa exata. Adaptado. (BOUAÏCHA *et al.*, 2019; FUREY *et al.*, 2008; SIVONEN; JONES, 1999).

Microcistina	DL ₅₀ ^a	Massa ^b
MC-LR	50	994.5488
[D-Asp³] MC-LR	160 - 300	980.5331
[Dha⁷] MC-LR	250	980.5331
[(6Z)-Adda⁵] MC-LR	>1.200	994.5488
[DMAdda⁵] MC-LR	100	980.5331
MC-RR	600	1037.5658
[D-Asp³] MC-RR	250	1023.5502
[Dha⁷] MC-RR	180	1023.5502
MC-LA	50	909.4848
MC-YR	70	1044.5280

^a Toxicidade determinada por via intraperitoneal em ratos (µg de toxina/Kg de peso corpóreo). A DL₅₀ representa a dose de toxina letal a 50% dos animais expostos.

^b Massa monoisotópica neutra exata.

Cabe ressaltar, que no entanto, os desafios encontrados na identificação, isolamento e purificação de variantes da microcistina continuam a ser as principais restrições para realizar uma completa avaliação toxicológica e associação de efeitos de todos os análogos da molécula já identificados, resultando em muitas lacunas ainda nos estudos dessa toxina, mecanismo de toxicidade entre outros.

Também é importante pontuar que as microcistinas e outras toxinas frequentemente coexistem e influenciam umas às outras, desde a dinâmica dos organismos produtores até a somatória de efeitos nos organismos expostos. A exposição combinada das microcistinas e outros fatores de risco podem aumentar significativamente os efeitos no organismo, principalmente os danos hepáticos. A crescente expansão demográfica e industrial observada nas últimas décadas causaram o lançamento de inúmeras novas substâncias potencialmente tóxicas no meio ambiente. O desconhecimento de todas essas substâncias não permite uma correta avaliação de risco, nem a estimativa de potencial aditivo ou sinérgico para os efeitos nos organismos. Essas substâncias, o lançamento de dejetos agrícolas e urbanos que tanto influenciam nas florações, bem como a presença das cianotoxinas nos corpos d'água são importantes *hotspots* para pesquisa, saúde e políticas públicas de fronteiras até mesmo internacionais das questões ecológicas e ambientais.

RELATOS DE CASO DE EXPOSIÇÕES HUMANAS E MORTES ASSOCIADAS ÀS MICROCISTINAS

É difícil apurar a primeira ocorrência de floração de cianobactéria, justamente por elas estarem entre os primeiros organismos vivos do planeta. Apesar da falta de evidências, existe uma forte especulação sobre a primeira das dez pragas do Egito: “e todas as águas do rio se transformaram em sangue” [Exodus, 7:20] (BÍBLIA, 2002). Uma possível explicação a este fato é a ocorrência de uma floração de fitoplâncton (maré vermelha) que explicaria as pragas seguintes (NORTON; LYONS, 2002).

O primeiro relato de intoxicação de animais por cianobactérias data de 1878, no sul da Austrália, no lago Alexandrina (FRANCIS, 1878). Outros casos relacionados com cianotoxinas em todo o mundo foram relatados e abrangem intoxicação de animais que bebem diretamente da água contaminada, sofrendo os sintomas ou óbito. Há casos relacionados às exposições de origem recreativa, quando as pessoas entram em contato direto com as cianotoxinas ao se banharem em águas com altas concentrações das cianobactérias (SIVONEN; JONES, 1999).

No Brasil, as florações de cianobactérias provocadas pelo aumento de nutrientes nas águas têm causado problemas para a saúde pública e eventos de intoxicação. Em fevereiro de 1996, em Caruaru, no Estado de Pernambuco, 116 dos 131 pacientes de uma clínica de hemodiálise apresentaram sintomas como distúrbios visuais, náuseas, vômitos e fraqueza muscular após o tratamento de rotina. Desses, 100 evoluíram para insuficiência hepática aguda e 52 deles morreram. As análises do sistema de tratamento de água da clínica e material biológico coletado das vítimas, como sangue e tecido hepático conseguiram identificar a presença de duas cianotoxinas: microcistina e cilindrospermopsina. A comparação dos sintomas das vítimas e os achados patológicos concluíram que o principal agente causador foi a exposição intravenosa de microcistinas, sendo três variantes identificadas: microcistina-LR, -YR e -AR. A partir da concentração encontrada no fígado das vítimas e o volume de exposição, foi estimada a concentração de 19,5µg/L de microcistinas na água utilizada para sessão de hemodiálise (AZEVEDO *et al.*, 2002; CARMICHAEL *et al.*, 2001).

Outra grave ocorrência no Brasil, relacionada a presença de cianobactérias na água utilizada para consumo humano, aconteceu em 1988 na recém construída represa de Itaparica, região de Paulo Afonso na Bahia. Cerca de 2.000 casos de gastroenterite foram relatados, com sintomas que variavam entre náusea, vômito, diarreia, cólica e dor abdominal. Em decorrência disso, ocorreram muitas internações, culminando na morte de 88 pessoas num período de 42 dias. Várias análises de inúmeros agentes tóxicos foram realizadas e descartadas. Foram registradas concentrações consideráveis em números de célula por mililitro dos gêneros *Dolichospermum* (*Anabaena*) e *Microcystis* em valores até 30 vezes maiores que os níveis máximos aceitáveis para uso da água pela legislação da época. Este caso alertou para o fato de que construções de barragens e inundações associadas ao longo dos rios podem alterar os ecossistemas e representar sérias ameaças ao bem-estar e à saúde das populações locais (TEIXEIRA *et al.*, 1993).

Uma intoxicação aguda ocorreu em janeiro de 2007 na Argentina, na barragem de Salto Grande, onde florações de cianobactérias com a presença de microcistinas geralmente ocorrem no verão, constituindo um problema sanitário e ambiental. Acidentalmente, um jovem de 19 anos que praticava esqui aquático foi imerso em uma intensa floração de *Microcystis spp.* A análise da água revelou a concentração de 48,6 µg/L de microcistina-LR. Quatro horas após a exposição, o paciente apresentou náusea, dor abdominal e febre. Três dias depois, foram relatados dispneia e dificuldade respiratória. O paciente foi internado em terapia intensiva com diagnóstico de pneumonia atípica. Finalmente, uma semana após a exposição, o paciente desenvolveu hepatotoxicose com aumento significativo de enzimas hepáticas, revelando dano hepático. Dosagens de aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e gama glutamil transferase atingiram picos superiores a 300 UI/L. Também foi observado aumento nos valores de ureia e creatinina, demonstrando alteração da função renal. A recuperação completa ocorreu em 20 dias. Este é o primeiro estudo a mostrar uma intoxicação aguda pela exposição a uma floração de cianobactérias produtoras de microcistina em águas recreativas (GIANNUZZI *et al.*, 2011).

Em agosto de 2014, um aviso de "não beba ou ferva" foi emitido para cerca de 500.000 residentes de Toledo (Ohio, EUA). Este aviso pedia que membros da comunidade não deveriam beber, ferver ou usar a água para cozinhar ou escovar os dentes. Isso ocorreu porque o nível de microcistinas na água potável atingiu 3,19 µg/L ultrapassando o limite máximo permitido na legislação local, que é de 1,0 µg/L. Mesmo assim, muitos moradores da região relataram sintomas de doença gastrointestinal, irritação da pele, dor nos olhos, dor de cabeça e dificuldades respiratórias (CARMICHAEL; BOYER, 2016).

Entre 2005 e 2009, água e outras fontes de alimentos advindos de três regiões do reservatório de Gorges na China foram analisados quanto a presença de microcistinas. Diferentes variantes foram detectadas na maioria das amostras. Um total de 1.322 crianças (entre 7 e 15 anos de idade) que viviam e utilizavam água e alimentos dessa região responderam questionários e forneceram amostras de sangue para análise de enzimas hepáticas e microcistinas. Com os resultados, os pesquisadores calcularam a ingestão diária estimada de microcistina de até 2,03µg, um valor muito acima do tolerável e proposto pela Organização Mundial de Saúde, que é de 0,4µg para crianças. Valores mais altos de AST e ALT foram encontrados nas crianças mais expostas (LI *et al.*, 2011).

Também na China, um estudo em 2009 no Lago Chaohu, que é fonte de água e alimentos para população, mostrou um aumento expressivo nas concentrações de microcistinas. Análise de sangue de pescadores da região confirmou a presença de microcistina no soro, numa concentração de até 0,39 ng/mL, valor 87 vezes inferior à concentração encontrada nas vítimas fatais da tragédia de Caruaru. A ingestão diária estimada ficou entre 2,2 a 3,9 µg/Kg de microcistinas. Foram realizadas dosagens das enzimas hepáticas e houve forte correlação estatística entre as concentrações de microcistinas e o aumento dos níveis de aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e lactato desidrogenase afetando a função hepática. Este estudo reforçou o risco dos efeitos deletérios na saúde da população cronicamente exposta às microcistinas (CHEN *et al.*, 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme descrito neste capítulo, as microcistinas são, do ponto de vista químico, estruturalmente fascinantes, pois apresentam aminoácidos incomuns, estrutura cíclica, com biossíntese via NRPS e exclusivas em cianobactérias. Os aminoácidos Adda e análogos da alanina (Mdha e Dha), além da variante metilada do ácido aspártico e ligações peptídicas pela cadeia lateral são algumas características peculiares. Contudo, também é notável a toxicidade dessa classe de compostos, que compõem uma categoria de toxinas muito potentes, com LD50 baixos e muito tóxicas para espécies distintas, incluindo mamíferos.

Vários gêneros de cianobactérias foram descritos como produtores dessas toxinas. O problema das florações e riscos a saúde causam preocupação mundial. As microcistinas estão incluídas em diversos guias para o monitoramento de água e em nossa legislação de potabilidade da água (BRASIL, 2021).

Ressaltamos os riscos e impactos ambientais, já que as microcistinas atuam como potente inibidoras de fosfatases do tipo 1 e 2A em diversas classes de organismos aquáticos. De modo similar, são

igualmente motivos de cuidado e atenção, os estudos que mostram o acúmulo de microcistinas em espécies dos diferentes níveis tróficos e possível intoxicação acidental pelo consumo de peixes.

Infelizmente fomos protagonistas, como o primeiro país onde ocorreu um acidente de intoxicação em humanos por contato direto com água de um açude com floração de cianobactérias. Como ocorreu na cidade de Caruaru-PE em 1996, em pacientes hospitalizados que realizavam hemodiálise e entraram em contato com microcistinas via água contaminada nos equipamentos do hospital.

Embora não tenha sido abordado neste capítulo, a qualidade da água dos mananciais vem se deteriorando ano a ano e o aumento de florações de cianobactérias é um fenômeno mundial. Por essas razões, destacamos que os riscos ao ambiente e à saúde humana são altos, e reforçamos que o monitoramento de cianobactérias e microcistinas devem ser constantes.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, S. M. F. O. *et al.* Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru - Brazil. **Toxicology**, v. 181-182, p. 441-446, 2002.

BÍBLIA. Português. **Exodus**. São Paulo: Paulus, 2002.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. D. C. Detection of potential microcystin-producing cyanobacteria in Brazilian reservoirs with a mcyB molecular marker. **Harmful Algae**, v. 2, n. 1, p. 51-60, 2003.

BORTOLI, S.; PINTO, E. Cianotoxinas: características gerais, histórico, legislação e métodos de análises. *In*: POMPEO, M. *et al.* (eds.). **Ecologia de reservatórios e interfaces**. São Paulo: IB/USP, 2015. p. 163-164.

BORTOLI, S.; VOLMER, D. A. Account: characterization and identification of microcystins by mass spectrometry. **European Journal of Mass Spectrometry**, v. 20, n. 1, p. 1-19, 2014.

BOUAÏCHA, N. *et al.* Structural diversity, characterization and toxicology of microcystins. **Toxins**, v. 12, n. 11, p. 714, 2019.

BRASIL. Portaria GM/MS nº 888, de 04 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017. para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 07 maio 2021. Seção 1.

CAMPOS, A.; VASCONCELOS, V. Molecular mechanisms of microcystin toxicity in animal cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 11, 2010.

CARMICHAEL, W. W. *et al.* Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 7, p. 663-668, 2001.

CARMICHAEL, W. W. *et al.* Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). **Toxicon**, v. 26, n. 11, p. 971-974, 1988.

CARMICHAEL, W. W.; BOYER, G. L. Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: implications for the North American Great Lakes. **Harmful Algae**, v. 54, p. 194-212, 2016.

CHEN, J. *et al.* First Identification of the hepatotoxic microcystins in the serum of a chronically exposed human population together with indication of hepatocellular damage. **Toxicological Sciences**, v. 108, n. 1, p. 81-89, 2009.

CHRISTIANSEN, G. *et al.* Microcystin biosynthesis in planktothrix: genes, evolution, and manipulation. **Journal of Bacteriology**, v. 185, n. 2, p. 564-572, 2003.

DAWSON, R. M. The toxicology of microcystins. **Toxicon**, v. 3, n. 7, p. 953-962, 1998.

DITTMANN, E.; WIEGAND, C. Cyanobacterial toxins--occurrence, biosynthesis and impact on human affairs. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 50, n. 1, p. 7-17, 2006.

ELLEMAN, T. C. *et al.* Isolation, characterization and pathology of the toxin from a microcystis aeruginosa (=Anacystis cyanea) bloom. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 31, p. 209-218, 1978.

- FRANCIS, G. Poisonous Australian Lake. **Nature**, v. 18, p. 2, 1878.
- FUREY, A. *et al.* Hepatotoxins: context and chemical determination. In: BOTANA, L. M. (ed.). **Seafood and freshwater toxins: pharmacology, physiology, and detection**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008.
- GIANNUZZI, L. *et al.* An acute case of intoxication with cyanobacteria and cyanotoxins in recreational water in Salto Grande Dam, Argentina. **Marine Drugs**, v. 9, p. 2164-2175, 2011.
- HARADA, K. I. *et al.* Isolation and characterization of the minor components associated with microcystins LR and RR in the cyanobacterium (blue-green algae). **Toxicon**, v. 28, n. 1, p. 55-64, 1990.
- HUGHES, E. O.; GORHAM, P. R.; ZEHNDER, A. Toxicity of a unialgal culture of *Microcystis Aeruginosa*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 225-236, 1958.
- HUTCHINSON, C. R. Polyketide and non-ribosomal peptide synthases: falling together by coming apart. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 6, p. 3010-3012, 2003.
- INTERNATION AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). World health organization international agency for research on cancer. **IARC Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans**. Lyon: WHO/IARC, 2010. v. 94, 464 p.
- KAEBERNICK, M. *et al.* Multiple alternate transcripts direct the biosynthesis of microcystin, a cyanobacterial nonribosomal peptide. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 2, p. 449-455, 2002.
- KAEBERNICK, M.; NEILAN, B. A. Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 35, n. 1, p. 1-9, 2001.
- KANEKO, T. *et al.* Complete genomic structure of the bloom-forming toxic cyanobacterium *microcystis aeruginosa* NIES-843. **DNA Research**, v. 14, n. 6, p. 247-256, 2007.
- KAYA, K. *et al.* Selective determination of total normal microcystin by colorimetry, LC/UV detection and/or LC/MS. **Analytica Chimica Acta**, v. 450, n. 1-2, p. 73-80. 2001.
- KUJBIDA, P. *et al.* Effects of microcystins on human polymorphonuclear leukocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 341, n. 1, p. 273-277, 2006.
- KURMAYER, R.; KUTZENBERGER, T. Application of real-time PCR for quantification of microcystin genotypes in a population of the toxic cyanobacterium *microcystis* sp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 11, p. 6723-6730, 2003.
- LI, Y. *et al.* A cross-sectional investigation of chronic exposure to microcystin in relationship to childhood liver damage in the three Gorges Reservoir Region, China. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, n. 10, p. 1483-1488, 2011.
- MASSEY, I. Y. *et al.* Exposure routes and health effects of microcystins on animals and humans: a mini-review. **Toxicon**, v. 151, p. 156-162, 2018.
- MSAGATI, T. A. M.; SIAME, B. A.; SHUSHU, D. D. Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterial hepatotoxins. **Aquatic Toxicology**, v. 78, n. 4, p. 382-397, 2006.
- NORTON, S. A.; LYONS, C. Blister beetles and the ten plagues. **Lancet**, v. 359, n. 9321, p. 1950, 2002.
- ROUHIAINEN, L. *et al.* Genes coding for hepatotoxic heptapeptides (microcystins) in the cyanobacterium *anabaena* strain 90. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 2, p. 686-692, 2004.
- SHI, L. *et al.* Update on the adverse effects of microcystins on the liver. **Environmental Research**, v. 195, 110890, 2021.
- SIVONEN, K. Cyanobacterial toxins and toxin production. **Phycologia**, v. 35, n. 6, p.12-24, 2006.
- SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J. (eds.). **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. 3. ed. London: WHO, 1999. p. 401.

TEIXEIRA, M. G. *et al.* Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. **Bull. Pan Am. Health Organ.**, v. 27, n. 3, p. 244-53, 1993.

TILLETT, D. *et al.* Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system. **Chemistry and Biology**, v. 7, n. 10, p. 753-764, 2000.

VAN APELDOORN, M. E.; VAN EGMOND, H. P.; BAKKER, G. J. Toxins of cyanobacteria. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 51, n. 1, p. 7-60, 2007.

ZHOU, C. *et al.* Microcystin biosynthesis and toxic effects. **Algal Research**, v. 55, 102277, 2021.

CAPÍTULO 6

PHYSIOLOGICAL TOOLS IN TELEOSTS FOR STUDIES OF ANTHROPIC IMPACTS IN RESERVOIRS

Marcela Muñoz-Peñuela¹

Giovana Souza Branco²

João Paulo Silva Pinheiro²

1- Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX, Instituto de Acuicultura de los Llanos - IALL, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales - FCARN, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia
2- Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos – LAMEROA, Instituto de Biociências - IB, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, Brazil.

Contact emails: marce8407@gmail.com; giovana_branco@hotmail.com; joaopaulospinheiro@yahoo.com.br

ABSTRACT

Pollution is a threat to the aquatic ecosystem because different chemicals, such as metals and drugs, are discarded and can interfere with the metabolism and physiology of aquatic organisms. Among these environments affected by anthropic action, municipal water reservoirs can be highlighted. Faced with this problem, this chapter presents different ecotoxicological tools (biomarkers) to assess the impact of pollution on freshwater fish from municipal water reservoirs. We highlight the following biomarkers: biotransformation, metal sequestration, oxidative stress, genotoxic effects, cellular integrity, cell/tissue damage, neurotoxicity, and reproductive (endocrine disruption and seminal quality). It is observed that some of these biomarkers are widely used in field studies to evaluate the impact of the mixture of pollutants on different physiological processes, such as the generation of oxidative stress. However, other biomarkers are still little explored in these studies, such as cell integrity and seminal quality analysis.

INTRODUCTION

Economic expansion and population growth brought about an increase in the demand for water, leading to the construction of dams on rivers to supply reservoirs that help satisfy the needs for water and electricity by industrial, agricultural, and urban development (MARIANI *et al.*, 2006; LÓPEZ-DOVAL *et al.*, 2016; LENNOX; SUSKI; COOKE, 2018). However, these social and industrial activities contribute to the deterioration of water quality, because dams also serve as receptors for domestic and industrial sewage (MARIANI *et al.*, 2006; LÓPEZ-DOVAL *et al.*, 2017), which, in a few cases, have adequate treatments to eliminate toxic substances (SHIHOMATSU *et al.*, 2017). Unlike lotic water bodies, reservoirs are more vulnerable to pollution, as they do not have the capacity for self-purification, so they accumulate pollutants quickly, mainly in sediments; thus, they also function as environmental sinks (KARMAKAR; MUSTHAFA, 2013).

Many pollutants are found in low concentrations (ng L^{-1} to $\mu\text{g L}^{-1}$), which, assuming chronic exposure, they can have significant effects on the health of aquatic organisms (COLIN *et al.*, 2016). The constant exposure of aquatic biota to these toxic substances can trigger multiple changes in organisms, which can unbalance the dynamics of populations, communities, and even the ecosystem as a whole, depending on the degree of contamination and the time of exposure (JESUS; CARVALHO, 2008).

Therefore, it is necessary to develop monitoring programs for assessing the quality of water in such a way as to identify not only whether the water is suitable for human consumption, but if it is appropriate as a habitat for aquatic organisms, which in many cases they serve as a food source for human consumption (KARMAKAR; MUSTHAFA, 2013).

Usually, environmental agencies use the measurement of physical and chemical variables to monitor water quality; however, these provide only specific information at the time of collection. Ecosystems are exposed to mixtures of many pollutants that constantly change concentration, in addition to interactions with water's chemical and physical variables, such as temperature, pH, oxygen, and turbidity, among others (HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014). Even so, it happens that the concentrations of contaminants are so low that traditional tools do not have the power to detect them; or, it is also common that not all environmental monitoring studies (whether carried out by academic institutions or environmental agencies) have the resources to measure all chemical compounds that can be present in the water.

Some studies use a variety of biological indices as tools, where the abundance and distribution of aquatic organisms are considered indicators of water quality (MARIANI *et al.*, 2006; FRANCISCO *et al.*, 2019). The presence, absence, or abundance of a population are late indicators of the state of a body of water; thus, for several decades, ecotoxicologists have been using physiological biomarkers as early signs of the presence of contaminants (HOYMACK, 2010; HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014; COLIN *et al.*, 2016; LENNOX; SUSKI; COOKE, 2018). In this way, physiological biomarkers have been considered useful tools to complement environmental monitoring, as they show changes in organisms as a result of small variations in the environment (BAINY *et al.*, 1996; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; COLIN *et al.*, 2016; LENNOX; SUSKI; COOKE, 2018).

Biomarkers are measurable responses at the molecular, cellular, histological, physiological, or behavioral levels to one or more stressors (COLIN *et al.*, 2016). One of the biggest dilemmas in conducting an ecotoxicological study is the selection of biomarkers that are sensitive and ecologically relevant so that the mechanistic knowledge of the organism's physiology can be related to the effects at the population level (HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014; COLIN *et al.*, 2016). Among the main biomarkers used in natural environments are those of responses to stress, oxidative stress, endocrine disruption, genotoxic effects, and histopathological changes, among others (HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014; COLIN *et al.*, 2016).

Likewise, for water quality monitoring, it is also essential to select the sentinel species, for which modifications of biological parameters in one or several levels of organization (molecular, cellular, physiological, organism, or behavioral) can be used to estimate the risks associated with the presence of contaminants (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). Fish are commonly used as a model for biomonitoring in reservoirs (GOMES *et al.*, 2015, 2016, 2021; TOLUSSI *et al.*, 2018; ESCALANTE-ROJAS

et al., 2021) because they occupy different trophic positions and are generally a link between the aquatic ecosystem and human populations (BRITO *et al.*, 2012). Moreover, species in this group occupy both the water column and sediments and soils, the latter being the leading stocks for the vast majority of contaminants that enter the environment (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013).

In this chapter, we present the main biomarkers of biotransformation, metal sequestration, oxidative stress, genotoxic effects, cellular integrity, cell/tissue damage, neurotoxicity, and reproductive biomarkers (endocrine disruption and seminal quality), which can be applied in ecotoxicological studies to evaluate the physiological effects ahead of exposure to pollutants found in reservoirs. In each topic, we synthesize the concept, the mechanisms involved in each biomarker, mention the protocols adopted, and show some studies that use such methods.

BIOTRANSFORMATION

Living beings have response and defense mechanisms that allow them to survive in degraded environments. Among these, many enzymes, metabolites, and biotransformation pathways of xenobiotic compounds stand out, which are usually rapidly induced after being exposed to one or more stressors, and the responses related to these mechanisms are widely used as early signs of health deterioration of organisms (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014; COLIN *et al.*, 2016).

The biotransformation process is divided into two phases (Fig. 1), in which, through enzymatic reactions, xenobiotic compounds (non-polar lipophilic) are changed into polar substances, which are soluble in water and therefore easily eliminated from the body (LISKA, 1998; SCHLENK *et al.*, 2008).

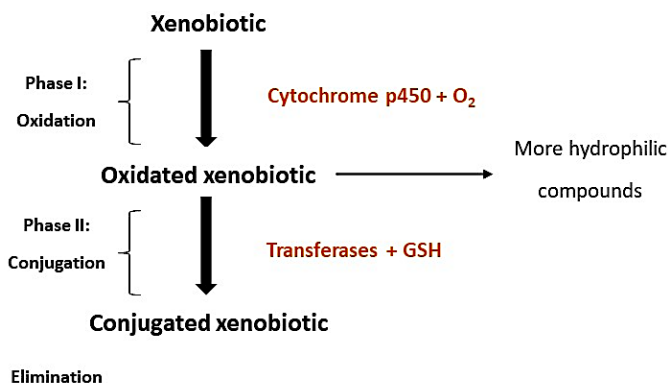


Figure 1: Biotransformation process of xenobiotics.

The phase I detoxification system is mainly composed of enzymes from Cytochrome P450, commonly known as CYP (CYP for the gene that encodes them), and is the first line of defense against xenobiotic compounds (LISKA, 1998). The CYP family is extensive, and there are many enzymes in charge of oxidizing xenobiotic compounds. However, the most studied and used biomarkers in ecotoxicological studies in fish are the expression of the *CYP1A* gene and the activity of the enzyme Ethoxyresorufin O-deethylase (EROD). These biomarkers are evaluated mainly in the liver tissue and are used as indicators of the presence of compounds that may be inducing the organism's detoxification system (SCHLENK *et al.*, 2008; HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2018).

The products of phase I reactions can be for detoxification and toxification, where, in detoxification, the effect includes the formation of compounds that are rapidly excreted from the body, while in toxification, are produced highly reactive compounds, which can react with important molecules such as DNA, proteins, and lipids, among others, and cause damage (COPPOCK; DZIWENKA, 2014). However, when the latter occurs, these toxic intermediate products generated from phase I can be converted into even more polar

compounds by phase II enzymes, combining highly reactive substances with endogenous polar molecules, to be excreted from the organism and preventing damage to macromolecules (SCHLENK *et al.*, 2008). In parallel, phase II reactions can also protect against bioactivation to prevent the formation of these more toxic intermediate substances (SCHLENK *et al.*, 2008).

In phase II, several types of conjugation reactions can occur, including glucuronidation, sulfation, and conjugation of glutathione and amino acids (LISKA, 1998). In ecotoxicological studies, the activity of glutathione S-transferase (GST) is widely used as an indicator of activation or inhibition of phase II biotransformation system, whose primary function is to combine reduced glutathione (GSH) with the compounds resulting from the reactions of the phase I, producing substances that are easily excreted in bile or urine (STOREY, 1996; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013).

The activities of phase I and phase II enzymes are considered defense biomarkers (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013) because when the body is faced with a high xenobiotic load, these enzymes involved in the detoxification of these compounds can be induced or inhibited (LISKA, 1998). The inhibition can occur by competition between two or more compounds for the same detoxifying enzyme or by overloading the systems (LISKA, 1998). However, it is important to clarify that defense biomarkers are not associated with higher-level biological effects, so they are great as quick indicators of the presence of some chemical environmental stressors (HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014).

The genetic expression of *CYP1A* and the activity of EROD have been widely used in ecotoxicological studies to evaluate the initial effects of environmental pollution on different bodies of water because they are considered sensitive to a wide variety of pollutants; although its activity is usually related to the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014), it has also been shown that they are not exclusive to the process of biotransformation of substances derived from oil (COPPOCK; DZIWENKA, 2014). Several studies have used these biomarkers to assess contamination in general. Rocha-e-Silva *et al.* (2004), for example, concluded that these biomarkers are suitable for assessing the effect of pollution on fish in reservoirs. The authors when evaluating the activity of various enzymes involved in the biotransformation phase I of xenobiotic compounds (including EROD) in tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the Guarapiranga and Billings reservoirs (São Paulo - Brazil), reporting a greater activity of these enzymes in Billings fish, which historically has been considered more polluted and impacted than the Guarapiranga reservoir. Likewise *et al.* (2018), in the Funil reservoir (Rio de Janeiro - Brazil), observed greater activities of EROD in bagre-pintado (*Pimelodus maculatus*) organisms collected after the entry of a large source of pollutants from domestic and industrial sewage, corroborating the usefulness of these biomarkers.

Despite this, the adaptation of certain organisms to polluted environments has been reported, in which it is not possible to observe any variation in the activity of the enzymes of the first phase of biotransformation (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013), for that reason, the activity of the GST enzyme is commonly measured as a complement in environmental studies. GST, in addition to participating in the biotransformation of xenobiotic compounds, is involved in the mechanisms of detoxification of lipid hydroperoxides and some aldehydes resulting from lipid peroxidation, contributing to the defense mechanisms against damage to other macromolecules (BRITO *et al.*, 2012). Therefore it is also considered a biomarker of the antioxidant defense system and is often analyzed together with enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx) in various organs, such as the liver, gills, brain, and muscle mainly (STOREY, 1996; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013, HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014).

METAL SEQUESTRATION

Metallothionein (MT) consists of a non-enzymatic protein with high cysteine content (Cys), which is found in different organisms and may complex with various metals (ISANI; CARPENÉ, 2014). MT is in different tissues of aquatic vertebrates, such as the liver, gills, kidney, testis, and nervous system (WANG *et al.*, 2014; FABRIN *et al.*, 2018). This protein plays a vital role in protecting cells against toxic agents (like metals and free radicals, among others) and is widely used as a biomarker related to contamination by metals, as well as to study the presence of metals, for example, copper and cadmium, and metalloids in

organisms (HAUSER-DAVIS; COMARÚ; LOPES, 2020). Generally, the higher concentration of metals in the environment triggers greater synthesis of MTs by the organism (LIVINGSTONE, 1993; HAUSER-DAVIS *et al.*, 2017). The detoxification of metals occurs via metal-mediated transcriptional activation of MT genes, increasing the synthesis of MTs, and thus free metals are bound to these molecules (LIVINGSTONE, 1993). In addition to acting on homeostasis (and detoxification) of metal ions, MTs act on neuroprotective mechanisms, favor increased cell survival and tissue regeneration, metabolic activity, interfere with inflammatory and apoptotic responses, and can also act on the elimination of reactive oxygen species, becoming the second line of antioxidant defense; that is, it acts right after reduced glutathione (GSH) (CHIAVERINI; DE LEY, 2010; SWINDELL, 2010; WANG *et al.*, 2014).

Laboratory studies evaluating the effects of metals on aquatic organisms frequently use this biomarker; on the other hand, this analysis in freshwater fish is still little adopted in field studies (CARVALHO *et al.*, 2012; BERVOETS *et al.*, 2013; KIM; JUNG, 2016; PASCHOALINI *et al.*, 2019) and even less in reservoirs (SAKURAGUI *et al.*, 2013; SEVCIKOVA *et al.*, 2013; FALFUSHYNSKA *et al.*, 2019), being more common in invertebrates, such as in mollusks. Different methods can be applied in the quantification of MTs, such as reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), spectrophotometry, chromatography, electrophoresis, electrochemical, and immunological methods, among others (SHARIATI; SHARIATI, 2011; ISANI; CARPENÈ, 2014).

OXIDATIVE STRESS

Among the most widely used biomarkers for monitoring in natural environments are those related to oxidative stress, which is an imbalance in the pro-oxidant - antioxidant balance, favoring oxidant events that can cause damage to macromolecules (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). When organisms are exposed to different stressors, greater production of reactive oxygen species (ROS) is triggered, which can induce or inhibit the antioxidant defense system (LIVINGSTONE, 2001; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; LENNOX; SUSKI; COOKE, 2018). In the first case, it can be observed that the organism is facing environmental changes, while in the second, the toxicity of pollutants leads to damage (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). Therefore, oxidative stress biomarkers include those that measure the amount of ROS, as well as the levels of compounds in the antioxidant system, and finally, those that show damage when the defense system is not sufficient to combat xenobiotic compounds, including the oxidation of molecules such as lipids, proteins, and DNA (LIVINGSTONE, 2001; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; COLIN *et al.*, 2016).

The antioxidant defense system is in charge of rapidly decomposing ROS to prevent them from causing damage to the body and is composed of non-enzymatic and enzymatic antioxidants. The first group includes vitamins A, C, and E, as well as bioflavonoids, carotenoids, uric acid, and glutathione, among others (NIMSE; PAL, 2015); however, the most used in ecotoxicological studies with fish is glutathione in its reduced state (GSH), which is the primary line of defense against excess ROS, in addition to being closely related to the activities of some antioxidant enzymes, such as GPx and GST, which depend on GSH concentrations to perform their antioxidant function (MATÉS, 2000; LIVINGSTONE, 2001; (NIMSE; PAL, 2015).

Among the enzyme antioxidants most used as biomarkers, there are mainly the activities of the enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx) (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014; COLIN *et al.*, 2016), which have a synergistic effect on the elimination of ROS (Fig. 2) (NIMSE; PAL, 2015). The key function of these antioxidant enzymes is to block and disable the ROS generated primarily in the process of metabolizing xenobiotic compounds to avoid oxidative damage in the body (LIVINGSTONE, 2001; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; ATLI *et al.*, 2016). SOD, for example, is the first enzyme that acts, converting the superoxide anion into hydrogen peroxide, which is used as a substrate for the enzymes GPx and CAT (MATÉS, 2000; LIVINGSTONE, 2001; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). GPx, unlike CAT, uses reduced glutathione (GSH) to reduce different types of peroxide, so its activity is related to another enzyme, glutathione reductase, which generates GSH from oxidized glutathione (GSSG) (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). CAT, on the other hand, does not need GSH, so it acts when there is more severe damage and there is a higher concentration of ROS, decomposing hydrogen peroxide into

water and oxygen (MATÉS, 2000; LIVINGSTONE, 2001; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; ATLI *et al.*, 2016). Finally, the GST enzyme is also considered an antioxidant, in addition to detoxifying, and is commonly evaluated along with the three previously mentioned enzymes (STOREY, 1996; ; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013).

When aquatic organisms suffer an excess production of ROS as a consequence of the exposure of some environmental stressor, the answer to be expected is an activation of the antioxidant defense system, observing, in general, a greater activity of the enzymes SOD, GPx, CAT, and GST, and a decrease in the concentration of GSH due to its use in the detoxification and antioxidant processes. In some cases, it can be observed that inhibition of antioxidant enzymes occurs as a consequence of the excess of ROS, which can denature these enzymes or saturate the system (RUAS *et al.*, 2008). In either case, the enzyme responses are evidencing an oxidative stress process, so the activities of these enzymes have been widely used in monitoring the natural environment for several decades.

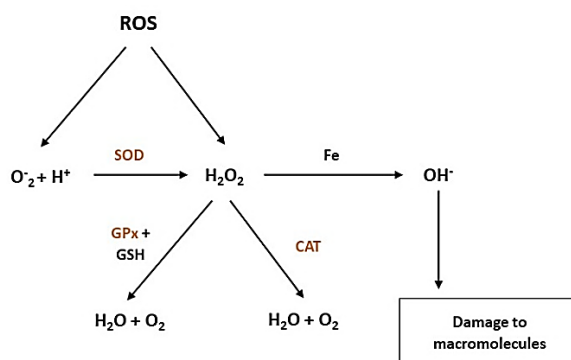


Figure 2: Defense system for some antioxidant enzymes (Modified from Storey, 1996).

Bainy *et al.* (1996), for example, using this battery of biomarkers, observed that tilapia in the Billings reservoir (State of São Paulo - Brazil), which has a strong anthropic pressure, presented oxidative stress. They came to this conclusion by finding increased activities of SOD enzyme in erythrocytes, liver, and kidney, as well as a decrease in CAT activity in erythrocytes, gills, liver, and kidney, and a decrease in GSH in the kidney, compared to organisms raised in a fish farm. These biomarkers are usually used along with some biomarkers that indicate damage, because when stress levels overtake the organism's defense systems, damage to molecules of great biological importance such as lipids, proteins, and DNA occurs (LIVINGSTONE, 2001; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). Thus, the measurement of lipoperoxidation (LPO) and protein oxidation levels, along with genotoxicity biomarkers, is a practice commonly used in ecotoxicological studies (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014; COLIN *et al.*, 2016). Among them, lipid peroxidation is the most common.

Lipoperoxidation involves the breakdown of polyunsaturated fatty acids, inducing structural and chemical damage to cell membranes (LIVINGSTONE, 2001; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). It can be analyzed mainly by two methods, since during the process of lipid peroxidation, the formation of different compounds occurs, and the damage to the membrane can be assessed in the intermediate phase of the process (FOX method; HERMES-LIMA; WILLMORE; STOREY, 1995) or in the final stage of the process (TBARS method; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013).

An example of studies that used antioxidant defense biomarkers with damage biomarkers is that of Karadag; Firat; Firat (2014) who, in a study in the Ataturk reservoir (Turkey), used the activities of the enzymes SOD and CAT, as well as the concentrations of GSH and the levels of LPO, in carpa (*Cyprinus carpio*) present in two locations of the reservoir, one being more polluted (Sitiłce, Turkey) than the other (Samsat, Turkey). In this study, they observed lower values of SOD and GSH, as well as higher values of CAT and LPO in the fish collected in Sitiłce, concluding a potential adverse effect of the pollution of the reservoir on the aquatic fauna. Another example is the study by Javed *et al.* (2017), who evaluated

parameters such as SOD, CAT, GST, and LPO, among others, in individuals of *Channa punctatus* in the Panethi reservoirs (India), considered to be polluted, and the Sumera reservoir (India), considered as a reference when presenting less anthropic impact (India). The results of this study showed greater activity of antioxidant enzymes in animals collected in the most polluted reservoir. Consequently, in the fish collected in Panethi, they observed the lowest concentrations of GSH and the highest values of LPO.

On the other hand, protein oxidation is less used in studies with fish. In general, this biomarker is used mainly in ecotoxicological studies of exposure to xenobiotic compounds in the laboratory, making it difficult to find studies in a natural environment that assess protein oxidation. However, because proteins are abundant in the body and react quickly with oxidizing compounds, they are also highly susceptible to oxidative damage (HAWKINS; DAVIES, 2019); indicating that they are a suitable complement to be used with other oxidative stress biomarkers. The oxidation of these macromolecules can generate proteolytic degradation affecting the structure, function, and integrity of proteins (PARVEZ; RAISUDDIN, 2005).

GENOTOXIC EFFECTS

Genetic damage is associated with oxidative stress because since there is damage to lipid membranes as a consequence of LPO, the genetic material in cells is more vulnerable to oxidative damage due to the increased permeability of cell membranes (VIEIRA *et al.*, 2016; PÉREZ-COYOTL *et al.*, 2017; PÉREZ *et al.*, 2018). The most commonly used methods to assess DNA damage are the single-cell gel electrophoresis assay (also known as the comet assay), the micronucleus (MN) test, and the erythrocyte nuclear abnormalities (NAs) test (ROCCO *et al.*, 2011; COLIN *et al.*, 2016).

The comet assay allows the analysis of DNA fragmentation through the migration (during electrophoresis) of damaged DNA from the nucleus, generating a comet shape, with the DNA intact on the head, while the fragmented DNA is observed spread on the tail (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013), in which the larger tail corresponds to the greater DNA fragmentation. In the comet assay, different cell types (and tissues) of fish are used to assess DNA fragmentation, such as erythrocytes (PINHEIRO *et al.*, 2019; MUÑOZ-PEÑUELA *et al.*, 2021), sperm (PINHEIRO *et al.*, 2019; CASTRO *et al.*, 2020; ASSIS *et al.*, 2021), gills (ALVIM; MARTINEZ, 2019), liver (ALVIM; Martinez, 2019), brain (ALVIM; Martinez, 2019), and kidney (KLINGELFUS *et al.*, 2015) among others (LAPUENTE *et al.*, 2015). Besides that, different types of studies use this assay due to its sensitivity to the effects of pollutants, as in *in vivo* studies under laboratory conditions (PINHEIRO *et al.*, 2019; RODA *et al.*, 2020; MUÑOZ-PEÑUELA *et al.*, 2021), *in vitro* (VEVERS; JHA, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2011; BUSSOLARO *et al.*, 2019; ASSIS *et al.*, 2021), *in situ*, in field experiments (KUSHWAHA *et al.*, 2012; HUSSAIN *et al.*, 2018; ASLLANI *et al.*, 2019; XIONG *et al.*, 2020) or in reservoirs (CLEMENTE *et al.*, 2010; BRITO *et al.*, 2012; FATIMA *et al.*, 2014; PÉREZ-COYOTL *et al.*, 2017), using several species of fish, including native ones.

MN originate from chromosomal fragments or entire chromosomes that arise as a result of chromosomal breaks after clastogenic action or by whole chromosomes that do not migrate during anaphase due to aneugenic effects (GALINDO; MOREIRA, 2009; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; BRAHAM *et al.*, 2017). DNA fragmentation assessed by the comet assay, can occur quickly but transiently with the possibility of repairs, while the damage assessed by the MN test is irreversible and lasts until cell death (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). The exact pathways that lead to the induction of NAs, which are changes in the nuclear membrane, are still not well understood, but in the same way as micronuclei, they are irreversible damage (BRAHAM *et al.*, 2017).

Currently, the NAs' formation mechanism is unclear. Shimizu *et al.* (1998), two decades ago, suggested that NAs are the result of a process of repairing genetic material, in which the damage is eliminated through exocytosis, finally leaving the nuclear membrane with some imperfection. It makes sense since organisms have a high capacity to repair damage (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; COLIN *et al.*, 2016; PÉREZ-COYOTL *et al.*, 2017). This mechanism has been widely reported in fish, being one of the main reasons why the DNA break, evidenced by the comet assay, does not reflect the state of the environment (ROCCO *et al.*, 2011; BRAHAM *et al.*, 2017).

These MN and NAs tests are also used in different types of ecotoxicological tests, mainly when the organism is exposed for a long period to certain pollutant(s), as occurs in reservoirs (BRITO *et al.*, 2012; FATIMA *et al.*, 2014; PÉREZ-COYOTL *et al.*, 2017). Some authors mention that pelagic and omnivorous fish have a higher frequency of NAs than micronuclei (BRAHAM *et al.*, 2017).

CELL INTEGRITY

Another biomarker that indicates the presence and effect of toxic agents on the aquatic organism is the integrity test of the lysosomal membrane. The lysosome consists of a cellular organelle composed of hydrolytic enzymes, responsible for the processes of digestion, resorption, and intracellular excretion, in addition to providing defense mechanisms against toxic and infectious agents. This organelle has an impermeable membrane, which is essential for its normal functioning; however, some environmental factors/stresses (e.g., chemical pollution, temperature changes, malnutrition, and reproductive stress, among others) can reduce the stability of the membrane (BEIRAS, 2018). The loss of the integrity of the lysosomes' membranes may be associated with modified cellular function, inflammatory and degenerative processes, apoptosis, and cell death (VAN NIEROP *et al.*, 2006).

The lysosomal membrane stability (LMS) in fish is evaluated by the time required for acid labilization treatment, which corresponds to the maximum intensity of "staining" in hepatocyte lysosomes. After processing the samples, the neutral red dye is absorbed by the lysosomes; if the membrane is damaged, the dye leaks into the cytosol, making it possible to view it under microscopy. These observations are made at certain fixed time intervals, and the retention period will be considered until the moment when there is no loss of dye in more than 50% of the cells. This process can vary from 15 min (damaged cells) to more than 1 h (healthy cells) (MARIGÓMEZ *et al.*, 2004; NAZAR; RODRIGUES; NASCIMENTO, 2008; BEIRAS, 2018; VICARIO-PARÉS *et al.*, 2018; FALFUSHYNSKA *et al.*, 2019). Such a test is widely used in mollusk cells, and to a lesser extent in freshwater fish (NAZAR; RODRIGUES; NASCIMENTO, 2008; VICARIO-PARÉS *et al.*, 2018; FALFUSHYNSKA *et al.*, 2019). The use of this method is less frequent in reservoir studies (FALFUSHYNSKA *et al.*, 2019), however, it could be used more routinely due to its sensitivity.

CELL AND TISSUE DAMAGE

Injuries at the cellular or tissue levels, including neoplasms, preneoplastic, focal lesions, degenerative, or necrotic lesions, are commonly detected in fish from contaminated environments (MYERS *et al.*, 1998). To describe the effects, analyses of tissue levels represent a level of biological organization. To allow the detection of lesions in different organs that perform vital functions, when the animals are exposed to a pollutant, histological and immunohistochemical techniques can be required; both represent useful tools to assess the degree of pollution, particularly for sub-lethal and chronic effects (BERNET *et al.*, 1999).

Histopathological changes appear as a medium-term response to sub-lethal stressors, whereas histology provides a method to detect effects of irritants in various tissues and organs (JOHNSON *et al.*, 1993). Hence, it can be said that cellular changes can truly be considered bioindicators of pollutants. The organs that are primary markers for aquatic pollution are gills and skin, which exhibit large surfaces that are in direct and permanent contact with potential irritants (BERNET *et al.*, 1999).

Hierarchically, the gills are the organ that is most studied and the first that should be analyzed. This organ participates in gas and ionic exchanges, osmoregulation, and excretion. Morphological changes can occur due to the introduction of pollutants in the water, of which the primary findings are the lamellar fusion, hyperplasia, aneurysms, and the proliferation of mitochondria-rich cells and mucous cells (PEREIRA; PITOL; CAETANO, 2019).

Fish liver has been increasingly recognized as a valuable tool for detecting adverse effects of contaminant exposure because it is an important target organ related to essential metabolic and detoxification mechanisms (AYAS *et al.*, 2007). The primary changes that happen when damage to this tissue occurs are leukocyte infiltration and hypertrophy of hepatocytes cells and necrosis areas.

The kidney is also commonly analyzed, since is an important excretion route for the metabolites of various xenobiotics, to which the fish was eventually exposed (HUGGETT *et al.*, 1992), for the maintenance of a stable internal environment of water and salt excretion and partially, for the metabolism of xenobiotics. In the kidneys, the changes that can be observed are circulatory disturbances, architectural and structural glomerulus alterations, atrophy, necrosis, hypertrophy, hyperplasia, inflammation, and even tumors (BERNET *et al.*, 1999).

Another tissue studied as a biomarker of tissue damage is the gonad; the histology of the testis and ovary of fish are widely used as biomarkers in studies investigating the role of environmental variables on the gametogenesis maturation process or the presence of intersex individuals in the natural environment (UZUMCU; ZACHOW, 2007; TOLUSSI *et al.*, 2018).

NEUROTOXICITY

The primary biomarker used to assess neurotoxicity in teleosts is the activity of acetylcholinesterase (AChE) in the brain and muscle, but it has also been evaluated in plasma (CHUIKO; PODGORNAYA; ZHELNIN, 2003). The main function of this enzyme is to regulate cholinergic neurotransmission by catalyzing the hydrolysis of acetylcholine at the neuromuscular junction in the central and peripheral nervous systems (TAYLOR; CAMP; RADIĆ, 2009). Acetylcholine is a neurotransmitter present in the central and peripheral nervous system, responsible for the transmission of signals from neurons to the terminal glands and muscles (POHANK; DOBES, 2013). Different xenobiotic compounds can inhibit AChE activity, which results in an accumulation of acetylcholine, thus causing prolonged over-stimulation of nerve and muscle fibers, generating adverse effects on the locomotion of organisms (BREWER *et al.*, 2001; AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013).

Usually, AChE activity has been used as an indicator of pollution by organophosphate and carbamate pesticides, so it has been considered as a specific biomarker and has been related to the impact of agricultural activities (HOOK; GALLAGHER; BATLEY, 2014; COLIN *et al.*, 2016). However, it is known that hydrocarbons and metals can also inhibit the activity of this enzyme (FORGET *et al.*, 1999). Calado *et al.* (2019), for example, has reported a greater effect on AChE activity in lambari (*Astyanax altiparanae*) present in urban areas than those in agricultural areas. Likewise, in the same species (*A. altiparanae*), Muñoz-Peñuela (2020) reported the inhibition of muscle AChE exposed to environmentally relevant concentrations of two drugs — diclofenac and caffeine. Therefore, the activity of AChE is also a nonspecific biomarker that could indicate the presence of many types of pollutants, and its ecological relevance is high, considering that the loss of locomotion would have negative effects on fundamental activities for the survival of the organism and the population, such as feeding, reproduction, and escape. In fact, it has been used in studies in reservoirs to assess neurotoxic effects in Cará (*Geophagus brasiliensis*) as a consequence of the presence of cyanotoxins produced by cyanobacteria, which are indicators of eutrophic environments (CALADO *et al.*, 2017).

REPRODUCTIVE

ENDOCRINE DISRUPTOR

By understanding the regulation of the reproductive axis (Fig. 3), it is possible to understand when stressors alter its functioning. An example of this alteration occurs in the presence of endocrine disruptor compounds (EDCs), which are capable of interfering in this process, being defined as components that interfere in the synthesis, secretion, transport, binding, action, or elimination of hormones naturally secreted by the organisms, and that regulate homeostasis, development, behavior, and reproduction (NISHI *et al.*, 2002).

EDCs that can interfere with fish reproduction are diverse. Examples of EDCs include industrial additives, persistent organic pollutants, pharmaceutical products (drugs of abuse, stimulants, analgesics, antibiotics, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), antihistamines and hormones), personal care products (fragrances, parabens), plasticizers, flame retardants, and surfactants, among others

(RICHARDSON *et al.*, 2007; NILSEN *et al.*, 2019). The interference of EDCs on reproductive hormones can be related to direct effects on the different levels of biological organization: hypothalamic, pituitary gland, or even on the gonads (WANG *et al.*, 2018). In this way, the compounds can cause a cascade effect in the production of gametes.

The biomarkers related to reproduction that can be used to assess the anthropic effects in this process at the molecular level are changes in the gene expression of neurohormones in brain samples, changes in the gene expression of the pituitary gonadotropins (*fsh* and *lh*), and interference in the expression of vitellogenin (*vtgA*). The changes of gonadotropin expression can be increased (ESCALANTE-ROJAS *et al.*, 2021) or inhibited (JI *et al.*, 2013) suggest a possible delay in gametogenesis and maturation because gonadotropins are at the top of the reproductive axis and act on the gonads promoting maturation and spawning.

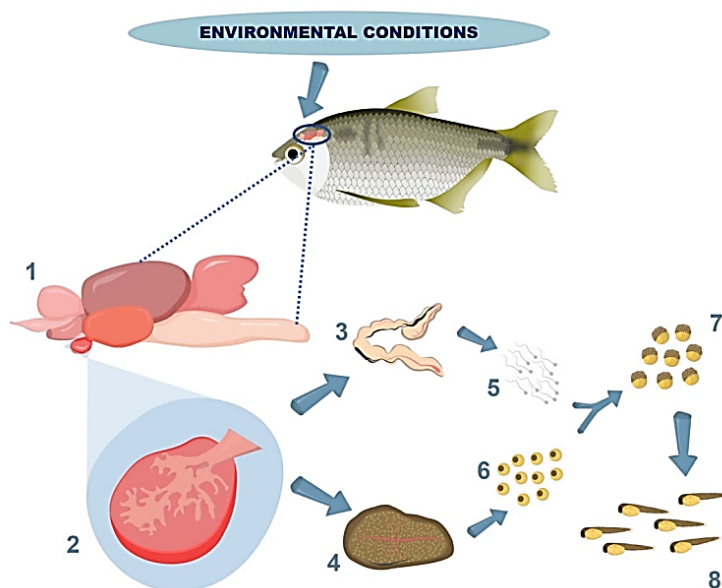


Figure 3: The animal under ideal environmental conditions produces hypothalamic factors (1) that act on the pituitary stimulating FSH and LH (2) that act on the gonads (3 and 4) stimulating the production of steroids and the production and release of gametes (5 and 6), which in the ideal environment, will be fertilized (7), forming embryos that develop in new individuals (8). Adapted from Pinheiro (2020).

The gene expression of *vtgA* is a biomarker of exposure to contaminants of estrogenic action. It is important to highlight that males have the gene that expresses *vtgA*. However, this lipo-glycophosphoprotein has no function in these animals, given that vitellogenesis is not a physiologically relevant process in males. Thus, the evidence of increased *vtgA* gene expression may indicate the presence of xenobiotics acting as estrogens (SUMPTER; JOBLING, 1995; KIME, 1999). The increased expression level of the *vtgA* gene, as in the works on *A. fasciatus* and *H. malabaricus* in polluted reservoirs, showed a relationship between the presence of EDC and the expression of the *vtgA* gene (TOLUSSI *et al.*, 2018; ESCALANTE-ROJAS *et al.*, 2021).

In general, under appropriate physiological conditions, steroid production influences gametogenesis, in addition to reproductive behavior and secondary sexual characteristics (ZOHAR; MYLONAS, 2001). Another important biomarker to assess the effect of EDCs on fish reproduction is the analysis of sex steroids; these play a crucial role in reproduction and, therefore, small changes in their levels could lead to reproductive failure (DA CUÑA *et al.*, 2016). The sex steroids 17 β -estradiol (E2), testosterone (T), 11 ketotestosterone (11-KT), 17 α -hydroxyprogesterone (17 α OHP), and 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17 α ,20 β -DHP) can be evaluated to measure interference from EDCs.

SEMINAL QUALITY

Variations in the physical and chemical parameters of the water and the presence of pollutants in the aquatic environment can result in interference along the reproductive axis and, consequently, a reduction in the quality of gametes (BROOKS; TYLER; SUMPTER, 1997; ALAVI; COSSON, 2005; VALDEBENITO; GALLEGOS; EFFER, 2015; KOWALSKI; CEJKO, 2019; KHOLODNYY *et al.*, 2020).

Sperm quality consists of the ability of the male gamete to fertilize the female gamete, to allow normal embryonic development, enabling the reproductive success of the species (BOBE; LABBÉ, 2010; HERRÁEZ *et al.*, 2017; KOWALSKI; CEJKO, 2019). Teleostei gametes are an excellent tool for ecotoxicological studies since they are cells sensitive to different factors present in the aquatic environment and have sperm physiology directly related to the environment. Among the seminal quality biomarkers, quantitative (e.g., seminal volume and sperm concentration) and qualitative parameters (e.g., sperm kinetics, morphology, DNA integrity, seminal pH, osmolality, antioxidant enzyme activity, and seminal plasma composition - ions, lipids, proteins - among others), that have a direct relationship both in the fertilization capacity of the oocytes and in the reproductive success of the species (BOBE; LABBÉ, 2010; KOWALSKI; CEJKO, 2019), can be studied.

Despite this importance, and in addition to being considered non-lethal methods, no studies were found to assess the seminal quality of fish from reservoirs. Studies with this kind of analysis are more focused on exposing cells to pollutants (*in vitro*) (ACOSTA *et al.*, 2016; HAYATI *et al.*, 2019) or activating sperm motility with contaminated water (SIERRA-MARQUEZ *et al.*, 2019; PINTO; CASTRO; VAL, 2021), or even breeding exposures to certain pollutants in the laboratory (FRAZ *et al.*, 2019; PINHEIRO *et al.*, 2019, 2020, 2021; PINHEIRO, 2020).

FINAL CONSIDERATIONS

Physiological biomarkers are tools that, in addition to being inexpensive and easy to analyze in most cases, are early indicators of any alteration in ecosystems. Therefore, they have advantages over traditional methodologies used for water quality monitoring: 1. They are indicators of the presence of any pollutant, even at low concentrations, which in some cases, can not be detected by traditional tools for chemical analysis of water; 2. They are early indicators of any alteration in the ecosystem, unlike biological indicators, which are late responses considering that the level of organization is higher.

These tools have been widely used in aquatic environmental monitoring, mainly in lotic water bodies. However, few studies apply these tools in lentic systems such as reservoirs, which suffer the pressure of various anthropic activities leading these ecosystems to be exposed to a mixture of pollutants, which tend to accumulate in the sediment due to the very nature of the reservoirs. Therefore, considering the difficulty and high cost of analyzing and quantifying all the xenobiotic compounds in them, physiological biomarkers are easy and inexpensive tools to monitor the health status of this type of water body.

General biomarkers are ideal for environmental monitoring, providing information on the conservation status of a body of water. They allow the observation of whether organisms are exposed to pollutants when there is no need to discriminate the type of compound (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). It is important to mention that for environmental monitoring, a large battery of biomarkers should be used. In many environmental assessments, defense biomarkers are more efficient, showing that animals are actively dealing with environmental degradation, while damage biomarkers can in some cases lead to misinterpretation of results, as organisms have efficient mechanisms of defense and damage repair (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013). It is important to consider that the results may reflect an adaptive process of populations to contamination and not the absence of xenobiotic compounds (COLIN *et al.*, 2016). In many cases, animals may have undergone a process of acclimatization to the polluted environment, keeping their defense systems active to prevent oxidative damage (AMIARD-TRIQUET; AMIARD; RAINBOW, 2013; COLIN *et al.*, 2016).

Another factor to consider is that each organ can respond in a particular way to different stressors, highlighting the importance of evaluating different tissues when choosing biomarkers as tools for environmental monitoring (PÉREZ-COYOTL *et al.*, 2017).

Finally, despite the difficulty in relating the responses of biomarkers to specific contaminants, a common feature in field studies, the importance of using physiological biomarkers for environmental monitoring is clear since these tools allow a broader view of environmental conditions through changes in the organisms, constituting an adequate complement for the evaluation of physical and chemical variables and biodiversity indicators.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; Grants 2017/11530-1; 2016/08770-8; 2014/16320-7), the Universidade de São Paulo (USP), and the Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos (LAMEROA; Prof. Dr. Renata Guimarães Moreira and Dr. Aline Dal'Olio Gomes) - Instituto de Biociências (USP).

REFERENCES

- Acosta, I. B. *et al.* orcini, C. D. Effects of exposure to cadmium in sperm cells of zebrafish, *Danio rerio*. **Toxicology Reports**, v. 3, p. 696-700, 2016..
- ALAVI, S. M. H.; COSSON, J. Sperm motility in fishes. (I) Effects of temperature and pH: a review. **Cell Biology International**, v. 29, p. 101-110, 2005.
- ALVIM, T. T.; MARTINEZ, C. 2019. Genotoxic and oxidative damage in the freshwater teleost *Prochilodus lineatus* exposed to the insecticides lambda-cyhalothrin and imidacloprid alone and in combination. **Mutation Research**, v. 842, p. 85-93, 2019..
- AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J. C.; RAINBOW, P. S. **Ecological biomarkers indicators of ecotoxicological effects**. Boca Raton: CRC Press, 2013. 434 p.
- ARAÚJO, F. G. *et al.* Biomarkers and bioindicators of the environmental condition using a fish species (*Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803) in a tropical reservoir in Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 351-359, 2018.
- ASLLANI, F. H. *et al.* Genotoxicity risk assessment in fish (*Rutilus rutilus*) from two contaminated rivers in the Kosovo. **Science of The Total Environment**, v. 676, p. 429-435, 2019.
- ASSIS, C. B. *et al.* Aluminum at environmental concentrations affects the sperm quality of the freshwater teleost *Astyanax altiparanae*: an *in vitro* study. **Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology & Pharmacology**, v. 243, 108983, 2021.
- ATLI, G. *et al.* Characterization of antioxidant system parameters in four freshwater fish species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 126, p. 30-37, 2016.
- AYAS, Z. *et al.* Histopathological changes in the livers and kidneys of fish in Sariyar Reservoir, Turkey. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, n. 2, p. 242-249, 2007.
- BAINY, A. C. D. *et al.* Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. **Aquatic Toxicology**, v. 34, p. 151-162, 1996.
- BEIRAS, R. Biological tools for monitoring: biomarkers and bioassays. *In*: BEIRAS, R. **Marine pollution: sources, fate and effects of pollutants in coastal ecosystems**. Amsterdam: Elsevier, 2018. p. 265-291.
- BERNET, D. *et al.* Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25-34, 1999.
- BERVOETS, L. *et al.* Differential hepatic metal and metallothionein levels in three feral fish species along a metal pollution gradient. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, e60805, 2013.

BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, p. 35-548, 2010.

BRAHAM, R. P. *et al.* Micronuclei and other erythrocyte nuclear abnormalities in fishes from the Great Lakes Basin, USA. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 58, p. 570-581, 2017.

BREWER, S. K. *et al.* Behavioral dysfunctions correlate to altered physiology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to cholinesterase-inhibiting chemicals. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 40, n. 1, p. 70-76, 2001.

BRITO, I. A. *et al.* Monitoring water quality in reservoirs for human supply through multi-biomarker evaluation in tropical fish. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, p. 615-625, 2012.

BROOKS, S.; TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 7, p. 387-416, 1997.

BUSSOLARO, D. *et al.* Co-exposure to polystyrene plastic beads and polycyclic aromatic hydrocarbon contaminants in fish gill (RTgill-W1) and intestinal (RTgutGC) epithelial cells derived from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Pollution**, v. 248, p. 706-714, 2019.

CALADO, S. L. M. *et al.* 2019. Biochemical and genotoxicity assessment of a polluted urban river using the native fish *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae). **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 14, n. 1, p. 73-77, 2019.

CALADO, S. L. M. *et al.* Neurotoxins in a water supply reservoir: An alert to environmental and human health. **Toxicon**, v. 126, p. 12-22, 2017.

CARVALHO, C. S. *et al.* Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. **Chemosphere**, v. 89, n. 1, p. 60-69, 2012.

CASTRO, J. S. *et al.* High temperature, pH, and hypoxia cause oxidative stress and impair the spermatid performance of the Amazon fish *Colossoma macropomum*. **Frontiers in Physiology**, v. 11, p. 772, 2020.

CHIAVERINI, N.; DE LEY, M. Protective effect of metallothionein on oxidative stress-induced DNA damage. **Free Radical Research**, v. 44, n. 6, p. 605-613, 2010.

CHUIKO, G. M.; PODGORNAYA, V. A.; ZHELNIN, Y. Y. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in brain and plasma of freshwater teleosts: cross-species and cross-family differences. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 135, p. 55-61, 2003.

CLEMENTE, Z. *et al.* Analyses of paralytic shellfish toxins and biomarkers in a Southern Brazilian Reservoir. **Toxicon**, v. 55, p. 396-406, 2010.

COLIN, N. *et al.* Ecological relevance of biomarkers in monitoring studies of macro-invertebrates and fish in Mediterranean rivers. **Science of The Total Environment**, v. 540, p. 307-323, 2016.

COPPOCK, R. W.; DZIWENKA, M. M. Biomarkers of petroleum products toxicity. *In*: GUPTA, R. C. (ed.). **Biomarkers in toxicology**. Cambridge: Academic Press, 2014. p. 647-654.

DA CUÑA, R. H. *et al.* Mechanism of action of endosulfan as disruptor of gonadal steroidogenesis in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. **Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology & Pharmacology**, v. 187, p. 74-80, 2016.

ESCALANTE-ROJAS, M. *et al.* Integrated use of biomarkers to evaluate the reproductive physiology of *Astyanax fasciatus* and *Hoplias malabaricus* males (Teleostei: Characiformes) in polluted reservoirs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, 111502, 2021.

FABRIN, T. M. C. *et al.* Performance of biomarkers metallothionein and ethoxyresorufin O-deethylase in aquatic environments: A meta-analytic approach. **Chemosphere**, v. 205, p. 339-349, 2018.

FALFUSHYNSKA, H. *et al.* Difference in biochemical markers in the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) upstream and downstream of the hydropower plant. **Environmental Pollution**, v. 255, pt. 1, 113213, 2019.

- FATIMA, M. *et al.* Assessment of genotoxic induction and deterioration of fish quality in commercial species due to heavy-metal exposure in an urban reservoir. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 67, n. 2, p. 203-213, 2014.
- FORGET, J. *et al.* Joint action of pollutant combinations (pesticides and metals) on survival (LC50 values) and acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, p. 912-918, 1999.
- FRANSCISCO, C. M. *et al.* Genotoxicity assessment of polluted urban streams using a native fish *Astyanax altiparanae*. **Journal of Toxicology and Environmental Health: part A**, v. 82, n. 8, p. 514-523, 2019.
- FRAZ, S. *et al.* Paternal exposure to carbamazepine impacts zebrafish offspring reproduction over multiple generations. **Environmental Science & Technology**, v. 53, n. 21, p. 12734-12743, 2019.
- GALINDO, T. P.; MOREIRA, L. M. Evaluation of genotoxicity using the micronucleus assay and nuclear abnormalities in the tropical sea fish *Bathygobius soporator* (Valenciennes, 1837) (Teleostei, Gobiidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 2, p. 394-398, 2009.
- GOMES, A. D. *et al.* Eutrophication effects on fatty acid profiles of seston and omnivorous fish in tropical reservoirs. **Science of the Total Environment**, v. 781, 1466492, 2021.
- GOMES, A. D. *et al.* Fatty acid composition of tropical fish depends on reservoir trophic status and fish feeding habit. **Lipids**, v. 51, p. 1193-1206, 2016.
- GOMES, A. D. *et al.* The role of ovarian steroids in reproductive plasticity in *Hoplias malabaricus* (Teleostei: Characiformes: Erythrinidae) in tropical reservoirs with different degrees of pollution. **General and Comparative Endocrinology**, v. 222, p. 1-10, 2015.
- GUILOSKI, I. C. *et al.* Effects of environmentally relevant concentrations of the anti-inflammatory drug diclofenac in freshwater fish *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 139, p. 291-300, 2017.
- HAUSER-DAVIS, R. A. *et al.* The evolution of environmental metalloproteomics over the last 15 years through bibliometric techniques. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 140, p. 279-287, 2017.
- HAUSER-DAVIS, R. A.; COMARÚ, M. W.; LOPES, R. M. Metallothionein determination can be applied to learn about aquatic metal pollution and oxidative stress detoxification mechanisms through Problem-based Learning. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 48, p. 291- 296, 2020.
- HAWKINS, C. L.; DAVIES, M. J. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 51, p. 19683-19708, 2019.
- HAYATI, A. *et al.* Effects of *in vitro* exposure of mercury on sperm quality and fertility of tropical fish *Cyprinus carpio* L. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 42, p. 189-195, 2019.
- HERMES-LIMA, M.; WILLMORE, W. G.; STOREY, K. B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (III) xylene orange complex formation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 19, n. 3, p. 271-280, 1995.
- HERRÁEZ, M. P. *et al.* Paternal contribution to development: sperm genetic damage and repair in fish. **Aquaculture**, v. 472, p. 45-59, 2017.
- HOOK, S. E.; GALLAGHER, E. P.; BATLEY, G. E. The role of biomarkers in the assessment of aquatic ecosystem health. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 10, n. 3, p. 327-341, 2014.
- HOYMACK, J. A. Evaluating habitat quality of vertebrates using conservation physiology tools. **Wildlife Research**, v. 37, p. 332-342, 2010.
- HUGGETT, R. J. *et al.* Biomarkers biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. *In*: HINTON, D. E. *et al.* **Histopathologic biomarkers**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. p. 155-196, 1992.
- HUSSAIN, B. *et al.* Fish eco-genotoxicology: comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as *in situ* biomarker of freshwater pollution. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 393-398, 2018.

ISANI, G., CARPENÈ, E. Metallothioneins, unconventional proteins from unconventional animals: a long journey from nematodes to mammals. **Biomolecules**, v. 4, n. 2, p. 435-457, 2014.

JAVERD, M. *et al.* Multiple biomarker responses (serum biochemistry, oxidative stress, genotoxicity and histopathology) in *Channa punctatus* exposed to heavy metal loaded wastewater. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1675, 2017.

JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação da contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia Brasiliense**, v. 12, n. 4, p. 680-693, 2008.

Jl, K. *et al.* Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on hormones and genes of the hypothalamic-pituitary-gonad axis, and reproduction of zebrafish. **Journal of Hazardous Materials**, v. 254-255, p. 242-251, 2013.

JOHNSON, L. L. *et al.* Chemical contaminants and hepatic lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) from the Northeast Coast of the United States. **Environmental Science and Technology**, v. 27, p. 2759-2771, 1993.

KARADAG, H.; FIRAT, Ö.; FIRAT, Ö. Use of oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* L. for the evaluation of water pollution in Ataturk Dam Lake (Adiyaman, Turkey). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 92, p. 289-293, 2014.

KARMAKAR, S.; MUSTHAFA, O. M. Lakes and reservoirs: pollution. In: JORGENSEN, S. E. (ed.). **Encyclopedia of Environmental Management**. Boca Raton: CRC Press, 2013. p. 1576-1587.

KHOLODNYI, V. *et al.* How do freshwater fish sperm find the egg? The physicochemical factors guiding the gamete encounters of externally fertilizing freshwater fish. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, p. 1165-1192, 2020.

KIM, W. K.; JUNG, J. *In situ* impact assessment of wastewater effluents by integrating multi-level biomarker responses in the pale chub (*Zacco platypus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 246-251, 2016.

KIME, D. E. A strategy for assessing the effects of xenobiotics on fish reproduction. **Science of The Total Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 3-11, 1999.

KLINGELFUS, T. *et al.* DNA damage in the kidney tissue cells of the fish *Rhamdia quelen* after trophic contamination with aluminum sulfate. **Genetics and Molecular Biology**, v. 38, p. 499-506, 2015.

KOWALSKI, R. K.; CEJKO, B. I. Sperm quality in fish: determinants and affecting factors. **Theriogenology**, v. 135, p. 94-108, 2019.

KUSHWAHA, B. *et al.* *In situ* assessment of genotoxic and mutagenic potential of polluted river water in *Channa punctatus* and *Mystus vittatus*. **International Aquatic Research**, v. 4, p. 16, 2012.

LAPUENTE J. *et al.* The comet assay and its applications in the field of ecotoxicology: a mature tool that continues to expand its perspectives. **Frontiers in Genetics**, v. 6, p. 1-20, 2015.

LENNOX, R. J.; SUSKI, C. D.; COOKE, S. J. A macrophysiology approach to watershed science and management. **Science of The Total Environment**, v. 626, p. 434-440, 2018.

LISKA, A. J. The detoxification enzyme systems. **Alternative Medicine Review**, v. 3, n. 3, p. 187-198, 1998.

LIVINGSTONE, D. R. Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 57, n. 3, p. 195-211, 1993.

LIVINGSTONE, D. R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 8, p. 656-666, 2001.

LÓPEZ-DOVAL, J. C. *et al.* Ecological and toxicological responses in a multistressor scenario: are monitoring programs showing the stressors or just showing stress? A case study in Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 540, p. 466-476, 2016.

LÓPEZ-DOVAL, J. C. *et al.* Nutrients, emerging pollutants and pesticides in a tropical urban reservoir: spatial distributions and risk assessment. **Science of The Total Environment**, v. 575, p. 1307-1324, 2017.

MARIANI, C. F. *et al.* Biota and water quality in the Riacho Grande reservoir, Billings Complex (São Paulo, Brazil). **Acta Limnologica Brasileira**, v. 18, n. 3, p. 267-280, 2006.

MARIGÓMEZ, I. *et al.* Biomonitoring of environmental pollution along the Basque coast, using molecular, cellular and tissue-level biomarkers: an integrative approach. *In*: BORJA, A.; COLLINS, M. (eds.). **Oceanography and marine environment of the Basque Country**. Amsterdam: Elsevier, 2004. p. 335-364.

MATÉS, J. M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. **Toxicology**, v. 153, p. 83-104, 2000.

MONTEIRO, V. *et al.* *In vivo* and *in vitro* exposures for the evaluation of the genotoxic effects of lead on the Neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. **Aquatic Toxicology**, v. 104, n. 3-4, p. 291-298, 2011.

MUÑOZ-PEÑUELA, M. **Ajustes fisiológico de *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes: Characidae) expostos a fármacos de preocupação emergente**. 2020. 168 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

MUÑOZ-PEÑUELA, M. *et al.* Diclofenac and caffeine inhibit hepatic antioxidant enzymes in the freshwater fish *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 240, 108910, 2021.

MYERS, M. S. *et al.* Toxicopathic Hepatic lesions as biomarkers of chemical contaminant exposure and effects in marine bottomfish species from the Northeast and pacific coasts, USA. **Marine Pollution Bulletin**, v. 37, p. 92-113, 1998.

NAZAR, M. L.; RODRIGUES, L. E. A.; NASCIMENTO, I. The lysosomal stability as a biomarker for the determination of pollution in aquatic environments. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 5, p. 1071-1077, 2008.

NILSEN, E. *et al.* Critical review: grand challenges in assessing the adverse effects of contaminants of emerging concern on aquatic food webs. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 38, n. 1, p. 46-60, 2019.

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, v. 5, p. 27986-28006, 2015.

NISHI, K. *et al.* Development and application of a monoclonal antibody-based sandwich ELISA for quantification of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) vitellogenin. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 132, p. 161-169, 2002.

PARVEZ, S.; RAISUDDIN, S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 20, p. 112-117, 2005.

PASCHOALINI, A. L. *et al.* Heavy metals accumulation and endocrine disruption in *Prochilodus argenteus* from a polluted neotropical river. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 539-550, 2019.

PEREIRA, B. F.; PITOL, D. L.; CAETANO, F. H. An ultrastructural approach for gill responses after pollutants exposure. **International Journal of Morphology**, v. 37, n. 1, p. 159-166, 2019.

PÉREZ, M. R. *et al.* *In situ* evaluation of the toxicological impact of a wastewater effluent on the fish *Prochilodus lineatus*: biochemical and histological assessment. **Ecological Indicators**, v. 84, p. 345-353, 2018.

PÉREZ-COYOTL, L. *et al.* DNA damage and cytotoxicity induced on common carp by pollutants in water from an urban reservoir. Madín reservoir, a case study. **Chemosphere**, v. 185, p. 789-797, 2017.

PINHEIRO, J. P. S. **Influência do alumínio e do pH ácido, associados às variações de temperatura, na qualidade seminal e variáveis reprodutivas de *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae)**. 2020. 161 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

PINHEIRO, J. P. S. *et al.* Water temperature and acid pH influence the cytotoxic and genotoxic effects of aluminum in the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae). **Chemosphere**, v. 220, p. 266-274, 2019.

- PINHEIRO, J. P. S. *et al.* Aluminum, at an environmental concentration, associated with acidic pH and high water temperature, causes impairment of sperm quality in the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae). **Environmental Pollution**, v. 262, 114252, 2020.
- PINHEIRO, J. P. S. *et al.* Paternal exposure to aluminum, acidity, and temperature affect fatty acid seminal profile, embryonic and larval development of *Astyanax altiparanae*. **Chemosphere**, v. 266, 128935, 2021.
- PINTO, G. L.; CASTRO, J. S.; VAL, A. L. Copper and cadmium impair sperm performance, fertilization and hatching of oocytes from Amazonian fish *Colossoma macropomum*. **Chemosphere**, v. 266, 128957, 2021.
- POHANKA, M.; DOBES, P. Caffeine Inhibits Acetylcholinesterase, but not butyrylcholinesterase. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 9873-9882, 2013.
- RICHARDSON, S. D. *et al.* Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. **Mutation Research**, v. 636, p. 178-242, 2007.
- ROCCO, L. *et al.* Evaluation of zebrafish DNA integrity after exposure to pharmacological agents present in aquatic environments. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 1530-1536, 2011.
- ROCHA-E-SILVA, T. A. A. *et al.* Dynamics of cytochrome P450 inducers in polluted sites of São Paulo city reservoirs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 59, p. 109-115, 2004.
- RODA, J. F. B. *et al.* Microplastics and copper effects on the neotropical teleost *Prochilodus lineatus*: Is there any interaction? **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 242, 110659, 2020.
- RUAS, C. B. G. *et al.* Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, p. 86-93, 2008.
- SAKURAGUI, M. M. *et al.* Integrated use of antioxidant enzymes and oxidative damage in two fish species to assess pollution in man-made hydroelectric reservoirs. **Environmental Pollution**, v. 178, p. 41-51, 2013.
- SCHLENK, D. *et al.* Biotransformation in fishes. In: DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (eds.). **The toxicology of fishes**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 153-234.
- SEVCIKOVA, M. *et al.* Effect of metals on metallothionein content in fish from Skalka and Zelivka Reservoirs. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 8, n. 2, p. 1650-1663, 2013.
- SHARIATI, F.; SHARIATI, S. Review on methods for determination of metallothioneins in aquatic organisms. **Biological Trace Element Research**, v. 141, n. 1-3, p. 340-366, 2011.
- SHIHOMATSU, H. M. *et al.* Guarapiranga Reservoir-Pharmaceuticals and Historical Urban Occupation in a Water Source. **Journal of Geoscience and Environmental Protection**, v. 5, p. 1-17, 2017.
- SHIMIZU, N. *et al.* Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S-phase. **Journal of Cell Biology**, v. 140, p. 1307-1320, 1998.
- SIERRA-MARQUEZ, L. *et al.* Effects of cadmium exposure on sperm and larvae of the neotropical fish *Prochilodus magdalenae*. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 225, 108577, 2019.
- STOREY, K. B. Oxidative stress: animal adaptations in nature. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 29, p. 1715-1733, 1996.
- SUMPTER, J. P.; JOBLING, S. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n. suppl. 7, p. 173-178, 1995.
- SWINDELL, W. R. Metallothionein and the biology of aging. **Ageing Research Reviews**, v. 10, p. 132-145, 2010.
- TAYLOR, P.; CAMP, S.; RADIĆ, Z. Acetylcholinesterase. In: SQUIRE, L. R. (ed.). **Encyclopedia of Neuroscience**. Amsterdam: Elsevier, 2009.

- TOLUSSI, C. E. *et al.* Environmental pollution affects molecular and biochemical responses during gonadal maturation of *Astyanax fasciatus* (Teleostei: Characiformes: Characidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 926-934, 2018.
- UZUMCU, M.; ZACHOW, R. Developmental exposure to environmental endocrine disruptors: consequences within the ovary and on female reproductive function. **Reproductive Toxicology**, v. 23, p. 337-352, 2007.
- VALDEBENITO, I. I.; GALLEGOS, P. C.; EFFER, B. R. Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. **Zygote**, v. 2, p. 177-197, 2015.
- VAN NIEROP, K. *et al.* Lysosomal destabilization contributes to apoptosis of germinal center B-lymphocytes. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 54, n. 12, p. 1425-1435, 2006.
- VEVERS, W. F.; JHA, A. N. Genotoxic and cytotoxic potential of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on fish cells *in vitro*. **Ecotoxicology**, v. 17, n. 5, p. 410-420, 2008.
- VICARIO-PARÉS, U. *et al.* Cellular and molecular responses of adult zebrafish after exposure to CuO nanoparticles or ionic copper. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 1, p. 89-101, 2018.
- VIEIRA, C. E. D. *et al.* Multiple biomarker responses in *Prochilodus lineatus* subjected to short-term *in situ* exposure to streams from agricultural areas in Southern Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 542, p. 44-56, 2016.
- WANG, F. *et al.* Effects of triclosan (TCS) on hormonal balance and genes of hypothalamus-pituitary- gonad axis of juvenile male Yellow River carp (*Cyprinus carpio*). **Chemosphere**, v. 193, p. 695-701, 2018.
- WANG, W. C. *et al.* Characteristics, functions, and applications of metallothionein in aquatic vertebrates. **Frontiers in Marine Science**, v. 1, p. 34, 2014.
- XIONG, X. *et al.* *In situ* assessment of Donghu Lake China using rare minnow (*Gobiocypris rarus*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 79, n. 2, p. 246-257, 2020.
- ZOHAR, Y.; MYLONAS, C. C. Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: from hormones to genes. **Aquaculture**, v. 197, p. 99-136, 2001.

CAPÍTULO 7

BIOMARCADORES NO CONTEXTO DE AVALIAÇÃO AMBIENTAL

Rayssa de Lima Cardoso¹

Marcelo Pompêo²

1- Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

2- Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

A qualidade dos sistemas aquáticos urbanos em todo o globo vem sendo ameaçada pela enorme quantidade de produtos químicos dispersos no meio ambiente, e nos reservatórios paulistas Billings e Guarapiranga a situação não é diferente. As atividades antrópicas no entorno desses reservatórios são uma das principais causas da incorporação de elevados níveis de elementos xenobióticos, como metais, pesticidas, fármacos e outros contaminantes. Esses compostos químicos estranhos ao meio, muitas vezes em concentrações elevadas, acarretam na deterioração abiótica e biótica desses ecossistemas. Com isso, além do acompanhamento dos parâmetros físicos e químicos, também vem sendo utilizado em conjunto os organismos vivos e suas respostas para o entendimento das alterações ambientais. Geralmente é avaliado um conjunto de repostas biológicas (os biomarcadores) em espécies bioindicadoras. O uso dos biomarcadores pode ser interpretado pelos cientistas ambientais como os primeiros alertas de danos aos ecossistemas, levando em consideração a identificação e quantificação de alterações em diferentes níveis: molecular, bioquímico, fisiológico, genético, celular, ou na escala de organismos inteiros. Além disso, os biomarcadores também são categorizados em biomarcadores de exposição, biomarcadores de efeito e biomarcadores de suscetibilidade, ou ainda, biomarcadores comportamentais. Independentemente do nível em que é analisado ou o tipo de biomarcador e em conjunto a análises abióticas, os biomarcadores são fortemente reconhecidos como uma abordagem de grande valia para a identificação precoce de alteração ambiental. Por isso, frequentemente novos biomarcadores vêm sendo cada vez testados e validados para compor a análises mais integrativas e robustas de status da qualidade ambiental.

INTRODUÇÃO

Apesar da comprovada importância social, ambiental e econômica, os reservatórios Billings e Guarapiranga estão a mercê de *inputs* antropogênicos constante, que são potencialmente tóxicos para o ambiente e suas comunidades biológicas (MOSCHINI-CARLOS *et al.*, 2009; MOSCHINI-CARLOS; POMPÊO; FREITAS, 2010a, 2010b; FONTANA *et al.*, 2014). O uso antrópico insustentável desses reservatórios vem transformando fortemente suas respectivas estruturas físicas e químicas, modificando o bem-estar das espécies animais e vegetais, e conseqüentemente remodelam as funções ecossistêmicas primordiais desses ambientes (DUARTE; BORGES, 2016; LÓPEZ-DOVAL *et al.*, 2016; LÓPEZ-DOVAL *et al.*, 2017; LEAL *et al.*, 2018). Esse cenário suscita em uma necessidade de definir, testar e priorizar indicadores que possam melhorar nossa compreensão acerca das alterações ambientais nesses corpos hídricos e as implicações sobre a biota. Ademais, embasar medidas de proteção, manutenção e até mesmo a restauração desses reservatórios.

Para isto, é preciso integrar informações de mudanças espaciais e temporais nos dados químicos e físicos, e identificar possíveis mudanças estruturais e de funcionalidade em níveis biológicos individuais. Posteriormente, os resultados de análises integrativas de fatores multimétricos (ambientais e biológicos) poderão servir como os sinais prévios de distúrbios ambientais, alertando para os reais ou potenciais efeitos deletérios em níveis populacionais. Uma vez que, uma das grandes questões do monitoramento ambiental é descrever e compreender de forma mais precisa e acurada o estado ambiental dos ambientes, antes que situações de degradação irremediáveis se estabeleçam (DEPLEDGE; FOSSI, 1994; DAILIANIS *et al.*, 2003; KLOBUCAR *et al.*, 2003).

Para isto, as respostas biológicas ambientalmente induzidas que podem se manifestar em diferentes níveis organizacionais, tais como nível molecular, celular, fisiológico ou ainda comportamental, vêm sendo amplamente utilizadas, e são comumente denominadas de biomarcadores (NASCIMENTO; PEREIRA; LEITE, 2006). Os biomarcadores podem ser definidos como alterações observáveis e mensuráveis que podem ser utilizados para avaliar a condição de saúde de ambientes antropogenicamente impactados para além da caracterização química ambiental, e sim, a partir dos efeitos secundários dos poluentes nos organismos aquáticos (CAJARAVILLEA *et al.*, 2000; HUMPHREY; NAHRGANG; MORGESON, 2007). Ou ainda, os biomarcadores são indicadores biológicos precoces, que logo demonstram a exposição à um xenobiótico ou o efeito de contaminantes químicos propriamente dito, evidenciando ocorrências adaptativas não patogênicas ou alterações funcionais, dependendo do mecanismo de ação do estressor (DECAPRIO, 1997).

Considera-se então a premissa básica da relação causa-efeito ou dose-efeito, onde a exposição e a proporção de agentes poluentes implica em respostas biológicas adversas (algo fora da homeostase do organismo) (ADAMS, 2002; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003), que costumam se manifestar no cenário subindividual dos níveis hierárquicos mais baixos aos mais complexos, ou seja, seguindo uma tendência de agravamento do efeito tóxico da ordem molecular, sub-celular, celular, tecido, sistemas, organismos, podendo interferir na perpetuação e manutenção das populações e comunidades, como mostra o esquema abaixo (Fig. 1).

Duas vantagens importantes da incorporação da análise de biomarcadores em programas de avaliação da contaminação ambiental são a possibilidade de identificar as interações que ocorrem entre os poluentes tóxicos e os organismos vivos e, a mensuração de efeitos sub-letais em várias condições de estresse, permitindo o monitoramento da progressão temporal ou regressão da perturbação em vários níveis de organização biológica (ADAMS, 2002; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

Os biomarcadores normalmente são respostas biológicas compensatórias, pois o potencial de sobrevivência do organismo é alterado frente aos desafios ambientais (DEPLEDGE; FOSSI, 1994). A Fig. 2 ilustra como pode haver o desencadeamento de uma cascata de respostas biológicas com o estabelecimento de uma situação de exposição e efeitos contínuos de contaminantes ambientais acima de um certo limite ou da faixa normal em uma situação não estressada (em dose de poluente ou tempo de exposição).

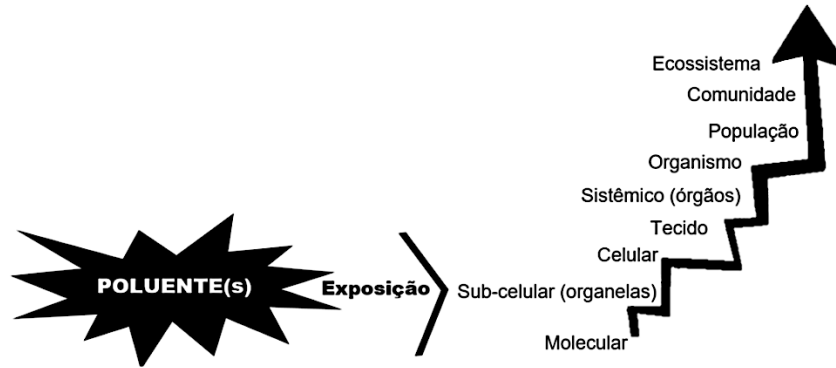


Figura 1: Representação esquemática da ordem sequencial de respostas ao estresse de agente(s) poluente(s) em um sistema biológico. Modificado de Bayne *et al.* (1985).

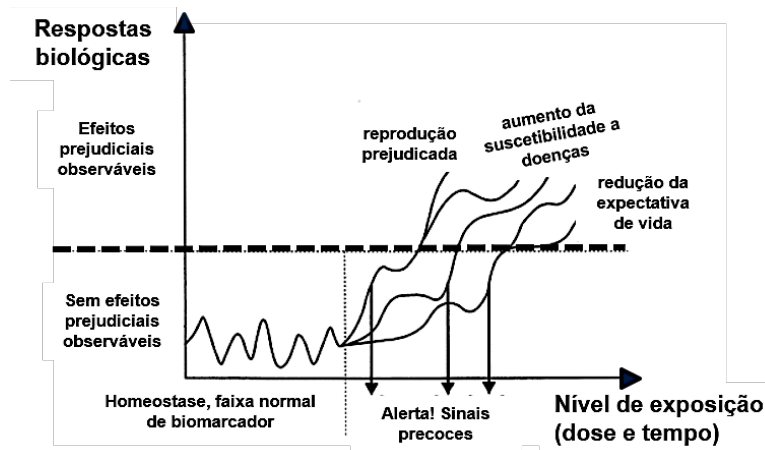


Figura 2: Manifestação dos mecanismos compensatórios dos organismos aos efeitos prejudiciais da exposição de agente(s) tóxico(s). Modificado de Shugart, McCarthy, Halbrook (1990).

Considerando a complexidade do contexto de avaliação ambiental, o uso de biomarcadores deve ponderar critérios importantes a fim de evitar interpretações inadequadas entre as respostas adversas nos organismos e os efeitos de contaminantes nos ecossistemas aquáticos (STEGEMAN *et al.*, 1992; RYAN *et al.*, 2007). Primeiramente, os biomarcadores devem indicar efeitos precoces, sendo preditivos nas relações entre agentes xenobióticos e toxicidade, além disso, devem ser confiáveis e fáceis de realizar, preferencialmente tendo um custo razoável associado às metodologias analíticas (CASTRO *et al.*, 2014). E devem ser específicos e sensíveis o suficiente para ajudar no entendimento de especificidades biológicas e na distinção entre a variabilidade natural (ruído) e o estresse induzido por contaminantes (sinal).

É importante frisar a utilização de biomarcadores em conjunto com outras metodologias de análises ambientais, contemplando níveis hierárquicos diferentes (VASSEUR; COSSU-LEGUILLE, 2003; AU *et al.*, 2004). A integração multinível possibilita maior confiabilidade nas interpretações em relação a qualidade dos ecossistemas.

Usualmente, os biomarcadores têm sido subdivididos em três categorias (NATIONAL RESEARCH COUNCIL'S, 1987; SOGORB; ESTÉVEZ; VILANOVA, 2014) (Fig. 3):

- **Biomarcadores de exposição:** são as respostas biológicas mensuradas no próprio organismo ou a partir de seus metabólitos que evidenciam a exposição dos organismos a pelo menos um poluente. Os biomarcadores de exposição são identificados a partir da análise das concentrações do

agente químico no organismo, que representa a dose interna que está estritamente relacionada aos mecanismos de absorção, metabolismo, bioacumulação e excreção da matriz biológica, e a dose biologicamente efetiva que se refere com a permanência do xenobiótico em um sítio biológico (celular ou molecular). Um exemplo de biomarcadores de exposição são a indução do citocromo P450 devido a exposição a hidrocarbonetos aromáticos, a indução de vitelogenina devido a ação de compostos hormonais, a formação de adutos de DNA pela ação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, entre outros (STEGEMAN; LECH, 1991; SHUGART; MCCARTHY; HALBROOK, 1992; BUCHELI; FENT, 1995; SUMPTER; JOBLING, 1995). Esses biomarcadores são muito sensíveis e específicos aos compostos tóxicos.

- **Biomarcadores de efeito:** são os efeitos adversos à saúde dos organismos decorrentes da exposição e absorção de agentes poluentes. Os efeitos, alterações bioquímicas, fisiológicas ou genéticas, refletem a ação dos xenobióticos em órgãos alvo. Em geral, esses biomarcadores são não-específicos em relação aos xenobióticos, fornecendo informações mais generalistas das implicações da exposição aos contaminantes no ambiente aquático. Os efeitos indicam a participação dos mecanismos de defesa do organismo, como uma resposta adaptativa em nível molecular/celular/bioquímico. Durante os processos de resposta ao estressor se os mecanismos de reparação dos organismos falham ou são ultrapassados, haverá o desencadeamento das alterações fisiológicas ou morfológicas irreversíveis (dependendo da capacidade do sistema ou órgão). Normalmente os biomarcadores de efeito são analisados em órgão-específicos, como a lesão em tecidos, ou a análise de várias enzimas, como as envolvidas com a peroxidação lipídica ou estresse oxidativo (WINZER *et al.*, 2001).

- **Biomarcadores de suscetibilidade:** são respostas que sugerem a suscetibilidade, predisposição ou resistência de organismos aos efeitos nocivos de um agente tóxico. Ou seja, são indicativos de aumento ou diminuição de risco individual decorrente em responder de certa maneira à exposição de agentes ambientais (BARRETT *et al.*, 1997). A suscetibilidade está ligada tanto a exposição, quanto à manifestação dos efeitos, haja vista que mesmo organismos da mesma espécie não respondem igualmente a exposição a xenobióticos. O sexo, tamanho, estágios de desenvolvimento, diversidade genética em uma população, podem ser considerados biomarcadores de suscetibilidade.

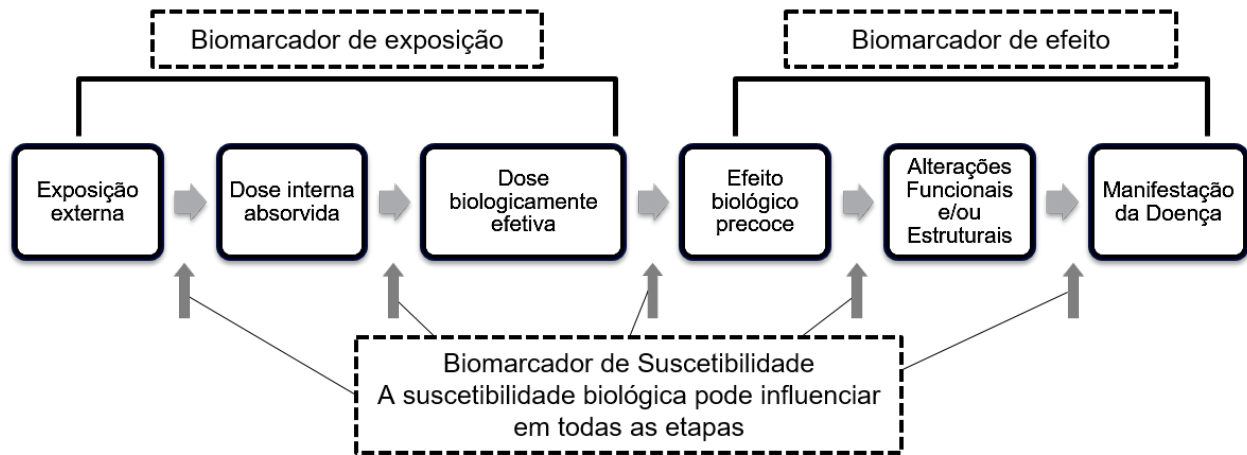


Figura 3: Diagrama das três categorias de biomarcadores a partir da exposição de agente tóxico externo. Modificado de Amorim (2003).

Vale destacar que a classificação acima descrita é baseada mais na utilização de cada biomarcador do que por uma distinção clara entre as categorias, podendo inclusive existir uma concomitância entre elas. Os biomarcadores de exposição podem ser empregados para explicar ou justificar a exposição de um organismo a uma determinada substância e, ao mesmo tempo, podem fornecer um indício entre a exposição externa e a dose absorvida. Em alguns casos, um dado biomarcador pode implicar em mais de

uma categoria, pois os efeitos biológicos decorrentes de uma determinada exposição a um poluente podem ser úteis como biomarcadores tanto da exposição quanto dos efeitos, isso dependerá do peso toxicológico empregado e do contexto em que este esteja a ser avaliado (SUTER, 1993; MANNO *et al.*, 2010). Um bom exemplo é o efeito inibitório da acetilcolinesterase (AChE), um biomarcador de neurotoxicidade. Essa enzima decompõe a acetilcolina e impede que a substância continue a agir nos receptores sinápticos, controlando assim a transmissão dos impulsos nervosos. Organofosfatos e carbamatos inibem a AChE, causando estimulação excessiva do receptor acetilcolina e interrupção da contração muscular normal. Sendo assim, a inibição da acetilcolinesterase é considerada tanto um biomarcador de exposição, quanto de efeito (GONICK, 2011; LIONETTO *et al.*, 2013).

De modo geral, os biomarcadores mais comumente aplicados para monitorar a saúde do ecossistema são os avaliados em nível celular devido a sensibilidade elevada à toxicidade de agentes estressores mesmo em baixas concentrações (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Além disso, as respostas celulares e bioquímicas são semelhantes em uma grande variedade de organismos, refletem as primeiras reações envolvidas no metabolismo e sistema de biotransformação dos organismos, que podem ser interpretados como marcadores de exposição ou efeito. Com destaque para as enzimas envolvidas na desintoxicação de xenobióticos e seus metabólitos, como enzimas de biotransformação de fase I, fase II e cofatores, enzimas de defesa antioxidante.

Contudo, isso não diminui o valor e a necessidade de avaliação dos níveis mais elevados da hierarquia da organização biológica, como índices morfométricos, indicadores condicionantes e incidências patológicas, e impactos extremos, como o declínio populacional e biodiversidade (AU *et al.*, 2004). Afinal, os efeitos observados nos níveis organizacionais biológicos mais elevados indicam que a adaptabilidade da espécie foi realmente excedida e as perdas podem ter passado do ponto de equilíbrio, e os riscos não podem mais ser revertidos ou reduzidos (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

Isto posto, os principais grupos de biomarcadores incluem os efeitos na toxicidade do oxigênio, que podem ocasionar desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a ação do sistema antioxidante dos seres vivos, causando danos celulares e estabelecendo um estado de estresse oxidativo (LUSHCHAK, 2011; BRAZ-MOTA *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2015). Para evitar danos causados por espécies reativas de oxigênio, os organismos reagem aumentando a atividade de enzimas antioxidantes protetoras, tal como a superóxido-dismutase, a catalase, glutationa-peroxidase, bem como os níveis de eliminadoras de radicais livres, como glutationa-redutase. A catalase como uma enzima antioxidante age na decomposição de peróxido de hidrogênio produzido em quantidades maiores durante o processo de biotransformação. A Glutaciona S-Transferase é uma enzima envolvida na desintoxicação celular de compostos eletrofílicos, importante na proteção contra câncer e outras doenças degenerativas decorrentes da exposição a ambientes contaminados (OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 2006; AL-GHAIS, 2013). A modulação de enzimas antioxidantes tem sido frequentemente empregada como biomarcadores bioquímicos úteis para monitorar os efeitos tóxicos em organismos aquáticos (CAPPELLO *et al.*, 2013; BRANDÃO *et al.*, 2015; NATALOTTO *et al.*, 2015).

Proteínas de estresse como as metalotioneínas formam um grupo de biomarcadores que desempenham um papel importante de proteção e reparação celular em condições de estresse e distúrbios ambientais. As metalotioneínas ricas em cisteína têm a capacidade de formar complexos com espécies metálicas, e por isso sua avaliação é um biomarcador da regulação e desintoxicação do estresse causado por metais (STEGEMAN *et al.*, 1992; LAFONTAINE *et al.*, 2000).

Assim como os biomarcadores bioquímicos, há um crescente interesse pela genotoxicidade causada por poluentes ambientais, o que levou ao desenvolvimento de vários testes biológicos para detectar e identificar danos no DNA, mutações cromossômicas e alterações citogenéticas, os quais são utilizados como biomarcadores genéticos de toxicidade, ou biomarcadores genotóxicos (PADRANGI *et al.*, 1995; FERRARO *et al.*, 2004; CESTARI *et al.*, 2004; OSSANA; EISSA; SALIBIAN, 2009; BUCKER *et al.*, 2012; SERIANI *et al.*, 2012; CARROLA *et al.*, 2014; SERIANI *et al.*, 2015; D'COSTA; SHYAMA; KUMAR, 2017; COLLINS; EL YAMANI; DUSINSKA, 2017). Dentre as metodologias desenvolvidas, o teste do micronúcleo, as anormalidades nucleares e o ensaio cometa destacam-se como testes fáceis e amplamente utilizados para a avaliação dos efeitos mutagênicos *in vivo* e *in vitro* em organismos aquáticos

(CARRASCO; TILBURY; MYERS, 1990; RABELLO-GAY, 1991; JHA, 2008). A nível molecular, o ensaio cometa e o teste de micronúcleos (MN) são biomarcadores complementares, pois indicam alterações do DNA com base em implicações diferentes. O teste de micronúcleos é um método rápido de detecção de um pequeno subconjunto de quebras de cadeia de DNA falhadas e não compensadas, enquanto que o ensaio cometa mede as rupturas da cadeia antes que os sistemas de reparo do DNA intervenham (TICE *et al.*, 2000; UDROIU, 2006).

Os micronúcleos são pequenos fragmentos cromossômicos acêntricos, fragmentos de cromátides acêntricas ou cromossomos inteiros que não foram incorporados ao núcleo da célula-filha durante a divisão celular (FENECH *et al.*, 2011). O teste do micronúcleo pode representar eventos clastogênicos e aneugênicos, ou seja, efeitos de substâncias que provoquem dano diretamente no cromossomo e seus componentes, notadamente no DNA, ou, a ocorrência de danos no mecanismo do fuso e outros componentes envolvidos na separação dos cromossomos (ALBERTINI *et al.*, 2000). Assim como os micronúcleos, as alterações morfológicas nucleares têm origens relacionadas a problemas durante a segregação dos cromossomos e atualmente, são computadas junto com a frequência de micronúcleos em muitos trabalhos de monitoramento ambiental (ERGENE *et al.*, 2007; ÇAVAS, 2008; ISANI *et al.*, 2009; GUSSO-CHOUERI *et al.*, 2016; CORREIA *et al.*, 2017, entre outros).

Quanto ao ensaio cometa, o princípio básico da técnica é de que o DNA contido em células de organismos está fortemente condensado e a ocorrência de danos à molécula de DNA ocasionam quebras na estrutura molecular. Durante as análises, os fragmentos formados podem apresentar diversos tamanhos e migrarão em velocidades diferentes, formando a figura típica de um cometa (OLIVE; BANÁTH; DURAND, 1990; COLLINS *et al.*, 2008). Ambos os métodos apresentam alta sensibilidade, boa reprodutibilidade, baixo custo, rapidez, além de refletirem danos citogenéticos em células individualizadas e células em proliferação.

Em outra categoria temos o uso de parâmetros histopatológicos como biomarcadores, que representam um nível intermediário na organização biológica e podem refletir os efeitos cumulativos (KRAHN *et al.*, 1994). As mudanças em nível de tecido, principalmente em órgãos de contato direto com o agente tóxico, como as brânquias, e em órgãos de metabolismo e excreção de xenobióticos, como o fígados e o rim, tem apresentado resultados satisfatórios na determinação do nível de exposição dos organismos aos poluentes, uma vez que esses órgãos realizam atividades vitais de respiração e metabolização, e apresentam os efeitos da poluição na forma de alterações morfológicas (ADAMS *et al.*, 1992; NORENA-BARROSO *et al.*, 2004; AYAS *et al.*, 2007; LEONARDI; TARIFEÑO; VERA, 2009). A histologia é uma ferramenta sensível no diagnóstico dos efeitos tóxicos diretos e indiretos que afetam os tecidos animais. Apesar de gerar dados pontuais sobre a resposta biológica à agressão ou ao estresse, a histopatologia, quando associada a outros métodos de análises, auxilia na compreensão do impacto ambiental relacionando as alterações e lesões (detectadas por estudos histopatológicos) com a capacidade das células de metabolizar e eliminar xenobióticos (ALBINATI *et al.*, 2009; YASSER; NASER, 2011). Os compostos tóxicos também podem causar efeitos prejudiciais no desenvolvimento embrionário e impactar as funções fisiológicas dos sistemas endócrino, reprodutivo, imunológico, entre tantos outros (CAMARGO; MATINEZ, 2007; COSTA *et al.*, 2009).

Portanto, o uso combinado de biomarcadores, sejam eles genotóxicos, histológicos, fisiológicos, comportamentais ou bioquímicos, são importantes para avaliar o efeito das alterações antrópicas nos ecossistemas e os consequentes efeitos sobre a saúde da biota, afim de estabelecer uma escala de estado de poluição (BOLOGNESI; HAYASHI, 2011; BOLOGNESI; CIRILLO, 2014; PRAVEEN KUMAR *et al.*, 2015). Embora os processos hidrológicos e ecológicos dos reservatórios tropicais sejam extensivamente estudados, pesquisas que realizem análises multivariada de biomarcadores em peixes, principalmente em grandes hidrocomplexos urbanos como é o caso dos reservatórios Billings e Guarapiranga, ainda são muito limitadas (ROCHA E SILVA *et al.*, 2004; ROCHA *et al.*, 2010; MACHADO *et al.*, 2016).

Para exemplificar o uso de biomarcadores em avaliações de risco ecológico e monitoramento ambiental serão apresentados resultados levantados por diferentes autores nos reservatórios Billings e Guarapiranga.

ESTUDOS DE CASOS: OS RESERVATÓRIOS BILLINGS E GUARAPIRANGA

Em um levantamento nas águas da região do Bororé, no reservatório Billings, Leme *et al.* (2018) identificou contaminação microbiológica por *Escherichia coli* e bactérias heterotróficas, e a ocorrência de biomarcadores comportamentais relacionado aos parâmetros motores, exploratórios, de intoxicação e do sistema respiratório e marcadores imuno-histoquímicos relacionados a alterações morfológicas e funcionais da atividade neuronal em peixes-zebra (*Danio rerio*) adultos. Os exemplares de peixe-zebra expostos às águas do Bororé apresentaram astrogliose, um marcador de suprarregulação de proteínas estruturais específicas (RIDET *et al.*, 1996) sugerindo uma resposta neuroinflamatória, além de alterações comportamentais ligadas à hipóxia, reações de alarme e taxas elevadas de letalidade.

Rezende *et al.* (2014) no reservatório Billings, avaliaram biomarcadores histopatológicos em brânquias e fígados de *Oreochromis niloticus*, e respostas à atividade genotóxica por meio do teste do micronúcleo, e relacionaram a alta frequência e micronúcleos e lesões classificadas de leves a severas nos órgãos-alvo avaliados. Os autores correlacionaram os resultados dos biomarcadores ao aporte de efluentes domésticos e industriais, e estado trófico do ambiente.

Ainda no reservatório Billings, Gomes *et al.* (2016) analisaram a deficiência de n-3 LC-PUFA (ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa) e a composição de ácidos graxos em diferentes níveis da cadeia alimentar aquática como um marcador bioquímico, a associação envolvia diretamente o estado trófico e estado de eutrofização desse reservatório. E concluíram que o estado trófico do reservatório afetou a composição de ácidos graxos dos recursos alimentares disponíveis para as espécies de peixes estudadas (*Astyanax fasciatus* e *Hoplias malabaricus*).

No reservatório Guarapiranga, Santos *et al.* (2004) avaliaram a presença e frequência de lesões, como biomarcador histopatológico, haja vista que o fígado é um órgão essencial na metabolização de substâncias tóxicas. Durante o levantamento os autores detectaram alta frequência de danos histológicos severos no fígado de *Oreochromis niloticus* cultivados no reservatório, e atribuíram à presença de substâncias tóxicas na água.

Escalante-Rojas *et al.* (2021) levantou múltiplos biomarcadores relacionados a fisiologia reprodutiva de *Astyanax fasciatus* e *Hoplias malabaricus*. Afim de avaliar e comparar os impactos de contaminantes com ação de desregulação endócrina na fisiologia reprodutiva dessas espécies nos reservatórios Billings e Guarapiranga, os autores levantaram os níveis plasmáticos de esteróides gonadais, a expressão gênica de hormônio folículo estimulante da hipófise (fsh β) e expressão gênica de vitelogenina hepática (vtgA). Resumidamente, os autores identificaram o aumento do biomarcador vtgA e indicaram a presença de compostos estrogênicos nos ambientes.

Em geral, os biomarcadores são usados para entender se a degradação ambiental gera efeitos fisiológicos nos organismos expostos, indicando a presença de contaminantes biodisponíveis, focando além dos parâmetros ambientais (que as vezes nem foram originalmente previstos). Os biomarcadores podem continuar por um longo tempo mesmo após a exposição temporária ao poluente, mesmo que o poluente já tenha se decomposto no ambiente. Portanto, os biomarcadores são considerados um importante indicador precoce de riscos ecológicos. E antes de usá-los é claro, é necessário definir uma estratégia que permitirá projetar e validar a aplicação de biomarcadores robustos, considerando principalmente o tóxico a ser estudado e o melhor modelo biológico.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, S. M. (ed). **Biological indicators of aquatic ecosystem stress**. Bethesda: American Fisheries Society, 2002.
- ADAMS, S. M. *et al.* Responses of fish populations and communities to pulp mill effluents: a holistic assessment. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 24, p. 347-360, 1992.
- ALBERTINI, R. J. *et al.* Biomarkers: IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. **Mutation Research**, v. 43, p. 134-136, 2000.

- ALBINATI, A. C. L. *et al.* Biomarcadores histológicos: toxicidade crônica pelo Roundup em piaçu (*Leporinus macrocephalus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 6, n. 3, p. 621-627, 2009.
- AL-GHAIS, S. M. Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. **Marine Pollution Bulletin**, v. 74, n. 1, p. 183-186, 2013.
- AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, n. 2, p.158-170, 2003.
- AU, D. W. T. The application of histocytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, p. 817-834, 2004.
- AYAS, Z. *et al.* Histopathological changes in the livers and kidneys of fish in Sariyar Reservoir, Turkey. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, p. 242-249, 2007.
- BARRETT, J. C. *et al.* 12th Meeting of the scientific group on methodologies for the safety evaluation of chemical: susceptibility to environmental hazards. **Environmental Health Perspective**, v. 105, p. 699-737, 1997.
- BAYNE, B. L. *et al.* **The effects of stress and pollution on marine animals**. New York: Praeger Scientific, 1985.
- BOLOGNESI, C.; CIRILLO, S. Genotoxicity biomarkers in aquatic bioindicators. **Current Zoology**, v. 60, n. 2, p. 273-284, 2014.
- BOLOGNESI, C.; HAYASHI, M. Micronucleus assay in aquatic animals. **Mutagenesis**, v. 26, p. 205-213, 2011.
- BRANDÃO, F. *et al.* Unravelling the mechanisms of mercury hepatotoxicity in wild fish (*Liza aurata*) through a triad approach: bioaccumulation, metabolomic profiles and oxidative stress. **Metallomics**, v. 7, p. 1352-1363, 2015.
- BRAZ-MOTA, S. *et al.* Roundup® exposure promotes gills and liver impairments, DNA damage and inhibition of brain cholinergic activity in the Amazon teleost fish *Colossoma macropomum*. **Chemosphere**, v. 135, p. 53-60, 2015.
- BUCHELI, T. B.; FENT, K. Induction of cytochrome P450 as a biomarker for environmental contamination in aquatic ecosystems. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 25, p. 201-268, 1995.
- BUCKER, A. *et al.* Micronucleus test and comet assay in erythrocytes of the Amazonian electric fish *Apteronotus bonapartii* exposed to benzene. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 7, p. 65-73, 2012.
- CAJARAVILLEA, M. P. M. J. *et al.* The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **The Science of the Total Environment**, v. 247, p. 295-311, 2000.
- CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 327-336, 2007.
- CAPPELLO, F. *et al.* Chaperonopathies and chaperonotherapy. Hsp60 as therapeutic target in cancer: potential benefits and risks. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, p. 452-457, 2013.
- CARRASCO, K. R.; TILBURY, K. L.; MYERS, M. S. An assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, n. 11, p. 2123-2136, 1990.
- CARROLA, J. *et al.* Frequency of micronuclei and of other nuclear abnormalities in erythrocytes of the grey mullet from the Mondego Douro and Ave estuaries – Portugal. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 9, p. 6057-6068, 2014.
- CASTRO, J. S. *et al.* Biomarcadores histopatológicos na espécie *Hoplias malabaricus* (Pisces, Osteichthyes, Erythrinidae) em uma Unidade de Conservação de São Luís (MA). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 6, p.1687-1694, 2014.
- ÇAVAS, T. *In vivo* genotoxicity of mercury chloride and lead acetate: Micronucleus test on acridine orange stained fish cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 352-358, 2008.

- CESTARI, M. M. *et al.* Genetic damage induced by trophic doses of lead in the neotropical fish *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae) as revealed by the comet assay and chromosomal aberrations. **Genetics and Molecular Biology**, v. 2, n. 2, p. 270-274, 2004.
- COLLINS, A. R. *et al.* The comet assay: topical issues. **Mutagenesis**, v. 23, p. 143-151, 2008.
- COLLINS, A.; EL YAMANI, N.; DUSINSKA, M. Sensitive detection of DNA oxidation damage induced by nanomaterials. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 107, p. 69-76, 2017.
- CORREIA, J. E. *et al.* Comet assay and micronucleus tests on *Oreochromis niloticus* (Perciforme: Cichlidae) exposed to raw sugarcane vinasse and to phisicochemical treated vinasse by pH adjustment with lime (CaO). **Chemosphere**, v. 173, p. 494-501, 2017.
- COSTA, P. M. *et al.* Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to contaminated estuarine sediments: a weighted indices approach. **Aquatic Toxicology**, v. 92, n. 3, p. 202-212, 2009.
- DAILIANIS, S. *et al.* Evaluation of neutral red retention assay, micronucleus test, acetylcholinesterase activity and a signal transduction molecule (cAMP) in tissues of *Mytilus galloprovincialis*, in pollution monitoring. **Marine Environmental Research**, v. 56, p. 443-470, 2003.
- D'COSTA, A.; SHYAMA, S. K.; KUMAR, M. K. P. Bioaccumulation of trace metals and total petroleum and genotoxicity responses in an edible fish population as indicators of marine pollution. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 22-28, 2017.
- DECAPRIO, A. P. Biomarkers: coming of age for environmental health and risk assessment. **Environmental Science Technology**, v. 31, p. 1837-1848, 1997.
- DEPLEDGE, M. H. Genotypic toxicity implications for individuals and populations. **Environmental Health Perspectives**, v. 102, p. 101-104, 1994.
- DUARTE, A. C. R.; BORGES, J. C. S. Resultados preliminares do efeito da água da represa Billings na tireóide das tilápias. **Atas de Saúde Ambiental**, v. 3, p. 10-16, 2016.
- ERGENE, S. *et al.* Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: micronucleus, chromosomal aberrations, and sister chromatid exchanges. **Environment International**, v. 33, p. 877-885, 2007.
- ESCALANTE-ROJAS, M. C. *et al.* Integrated use of biomarkers to evaluate the reproductive physiology of *Astyanax fasciatus* and *Hoplias malabaricus* males (Teleostei: Characiformes) in polluted reservoirs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, 111502, 2021.
- FENECH, M. *et al.* Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, v. 26, p. 125-132, 2011.
- FERRARO, M. V. M. *et al.* Mutagenic effects of tributyltin (TBT) and inorganic lead (PbII) on the fish *H. malabaricus* as evaluated of by using the comet assay, Piscine Micronucleus and chromosome aberrations tests. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, p.103-107, 2004.
- FONTANA, L. *et al.* The eutrophication history of a tropical water supply reservoir in Brazil. **Journal of Paleolimnology**, v. 51, p. 29-43, 2014.
- GOMES, A. D. *et al.* Fatty acid composition of tropical fish depends on reservoir trophic status and fish feeding habit. **Lipids**, v. 51, p. 1193-1206, 2016.
- GONICK, H. C. Lead-binding proteins: a review. **Journal of Toxicology**, v. 2011, 686050, 2011.
- GUSSO-CHOUERI, P. K. *et al.* Assessing genotoxic effects in fish from a marine protected area influenced by former mining activities and other stressors. **Marine Pollution Bulletin**, v. 104, p. 229-239, 2016.
- HUMPHREY, S. E.; NAHRGANG, J. D.; MORGESON, F. P. Integrating motivational, social, and contextual work design features: A meta-analytic summary and theoretical extension of the work design literature. **Journal of Applied Psychology**, v. 92, n. 5, p. 1332-1356, 2007.

- ISANI, G. *et al.* Cadmium accumulation and biochemical responses in *Sparus aurata* following sub-lethal Cd exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 224-230, 2009.
- JHA, A.N. Ecotoxicological applications and significance of the Comet Assay. **Mutagenesis**, v. 23, p. 207-221, 2008.
- KLOBUCAR, G. I. V. M. *et al.* Application of the micronucleus and comet assays to mussel *Dreissena polymorpha* haemocytes for genotoxicity monitoring of freshwater environments. **Aquatic Toxicology**, v. 64, p. 15-23, 2003.
- KRAHN, M. M. *et al.* Determinação de metabólitos de xenobióticos na bÍlis de peixe de Águas poluídas. **Xenobiotica**, v. 14, n. 8, p. 633-646, 1994.
- LAFONTAINE, Y. *et al.* Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence river (Canada). **Aquatic Toxicology**, v. 50, p. 51-71, 2000.
- LEAL, P. R. *et al.* Impact of copper sulfate application at an urban Brazilian reservoir: a geostatistical and ecotoxicological approach. **Science of The Total Environment**, v. 618, p. 621-634, 2018.
- LEE, R. W. *et al.* Sedentary behavior and physical function: objective evidence from the osteoarthritis initiative: evidence on sedentary behavior from the OAI. **Arthritis Care & Research**, v. 67, n. 3, p. 366-373, 2015.
- LEME, E. *et al.* Billings reservoir water used for human consumption presents microbiological contaminants and induces both behavior impairments and astrogliosis in zebrafish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 161, p. 364-373, 2018.
- LEONARDI, M.; TARIFEÑO, E. VERA, J. Diseases of the Chilean flounder, *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867), as a biomarker of marine coastal pollution near the Itata River (Chile): part II. Histopathological lesion. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 56, p. 546-556, 2009.
- LIONETTO, M. G. *et al.* Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives. **BioMedical Research International**, v. 2013, p. 1-8, 2013.
- LÓPEZ-DOVAL, J. C. *et al.* Ecological and toxicological responses in a multistressor scenario: are monitoring programs showing the stressors or just showing stress? A case study in Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 540, p. 466-476, 2016.
- LÓPEZ-DOVAL, J. C. *et al.* Nutrients, emerging pollutants and pesticides in a tropical urban reservoir: spatial distributions and risk assessment. **Science of The Total Environment**, v. 575, p. 1307-1324, 2017.
- LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 13-30, 2011.
- MACHADO, L. S. *et al.* Fatores ambientais relacionados à ocorrência de cianobactÉrias potencialmente tÓxicas no reservatÓrio de Guarapiranga. **Revista Ambiente & Águas**, v. 11, n. 4, p. 810-818, 2016.
- MANNO, M. *et al.* Biomonitoring for occupational health risk assessment (BOHRA). **Toxicology Letters**, v. 192, p. 3-16, 2010.
- MOSCHINI-CARLOS, V. *et al.* Cyanobacteria and cyanotoxin in the Billings Reservoir (Sao Paulo, SP, Brazil). **Limnética**, v. 28, n. 2, p. 273-82, 2009.
- MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPÊO, M.; FREITAS, L. G. Limnological evaluation of water in the Rio Grande and Taquacetuba branches of the Billings Complex (São Paulo, Brazil) and management implications. **Revista Ambiente & Águas**, v. 5, p. 77-89, 2010a.
- MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPÊO, M.; FREITAS, L. G. Evaluation of limnological conditions of water in the Rio Grande and Taquacetuba branches of the Billings Complex (São Paulo, Brazil) and implications for management. **Revista Ambiente & Águas**, v. 5, p. 47-59, 2010b.
- NASCIMENTO, I. A.; PEREIRA, S. A.; LEITE, M. B. N. L. Biomarcadores como instrumentos preventivos de poluição. *In*: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (orgs). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 413-429.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL'S (NRC). Members of the Committee on Biological Markers of the National Research Council. Biological markers in environmental health research. **Environmental Health Perspectives**, v. 74, p. 3-9, 1987.
- NATALOTTO, A. *et al.* Biomarkers of environmental stress in gills of *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) from Balearic Island. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 122, p. 9-16, 2015.
- NORENA-BARROSO, E. *et al.* Persistent organic pollutants and histological lesions in Mayan catfish *Ariopsis assimilis* from the the Estuary of Chetumal, Mexico. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, p. 263-269, 2004.
- OLIVE, P. L.; BANÁTH, J. P.; DURAND, R. E. Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "comet" assay. **Radiation Research**, v. 122, p. 86-94, 1990.
- OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. *et al.* Hematological findings in neotropical sh *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. **Environmental Research**, v. 101, p. 74-80, 2006.
- OSSANA, N. A.; EISSA, B. L.; SALIBIAN, A. Cadmium bioconcentration and genotoxicity in the common carp (*Cyprinus carpio*). **International Journal of Environmental and Health**, v. 3, p. 302-309, 2009.
- PADRANGI, R. *et al.* Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bullheads and carp. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 26, p. 345-356, 1995.
- PRAVEEN KUMAR, M. K. *et al.* The effect of gamma radiation on the Common carp (*Cyprinus carpio*): in vivo genotoxicity assessment with the micronucleus and comet assay. **Mutation Research**, v. 792, p. 19-25, 2015.
- RABELLO-GAY, M. N. Teste de micronúcleo em medula óssea. In: RABELLO-GAY, M. N.; RODRÍGUEZ, M. A. L. R.; MONTELEONE-NETO, R. (eds.) **Mutagênese, carcinogênese e teratogênese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1991. p. 83-90.
- REZENDE, K. F. O. *et al.* Histopathological and genotoxic effects of pollution on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) in the Billings Reservoir (Brazil). **Toxicology, Mechanisms and Methods**, v. 24, n. 6, p. 404-411, 2014.
- RIDET, J. L. *et al.* Immunocytochemical characterization of a new marker of fibrous and reactive astrocytes. **Cell Tissue Research**, v. 283, p. 39-49, 1996.
- ROCHA, P. S. *et al.* Changes in toxicity and dioxin-like activity of sediments from the Tietê River (São Paulo, Brazil). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 4, p. 550-558, 2010.
- ROCHA-E-SILVA, T. A. A. *et al.* Dynamics of cytochrome P450 inducers in polluted sites of São Paulo city reservoirs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 59, p. 109-115, 2004.
- RYAN, B. P. *et al.* Using biomarkers to inform cumulative risk assessment. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, p. 833-840, 2007.
- SANTOS, A. A. *et al.* Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 2, p. 141-145, 2004.
- SERIANI, R. *et al.* Water toxicity and cyto-genotoxicity biomarker in the fish *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 7, n. 2, p. 67-72, 2012.
- SERIANI, R. *et al.* In vitro mucus transportability, cytogenotoxicity, and hematological changes as non-destructive physiological biomarkers in fish chronically exposed to metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 112, p. 162-168, 2015.
- SHUGART, L. R.; MCCARTHY, J. F.; HALBROOK, R.S. Biological markers of environmental and ecological contamination: an overview. **Risk Analysis**, v. 12, p. 353-360, 1992.
- SOGORB, M. A.; ESTÉVEZ, J.; VILANOVA, E. Biomarkers in biomonitoring of xenobiotics. In: GUPTA, R. C. (ed.). **Biomarkers in toxicology**. , Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 965-973.

STEGEMAN, J. J. *et al.* Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. *In*: HUGGETT, R. J. *et al.* (eds.). **Biomarkers, biochemical, physiological, and histological markers of antropogenic stress**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. p. 235- 334.

STEGEMAN, J. J.; LECHT, J. J. Cytochrome P-450 Monooxygenase Systems in Aquatic Species: carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen pollutant exposure. **Environmental Health Perspectives**, v 90, p. 101-109, 1991.

SUMPTER, J. P.; JOBLING, S. Vitellogenesis as a biomarker for oestrogenic contamination of the aquatic environment. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, p. 173-178, 1995.

SUTER G. W. **Ecological risk assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993. p. 538.

TICE, R. R. *et al.* Single cell gel/ comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, p. 206-221, 2000.

UDROIU, I. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 79, p. 201-204, 2006.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, p. 57-149, 2003.

VASSEUR, P.; COSSU-LEGUILLE, C. Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. **Environment International**, v. 28, p. 711-717, 2003.

WINZER, K. **Oxidative stress in the marine environment-prognostic tools for toxic injury in fish liver cells**. 2001. (PhD Thesis) – Faculty of Medicine, University of Amsterdam, Amsterdam, 2001.

YASSER, A. G.; NASER, M. D. Impact of pollutants on fish collected from different parts of Shatt Al-Arab River: a histopathological study. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 181, p. 175-182, 2011.

CAPÍTULO 8

UTILIZANDO O MÉTODO “FINGERPRINTING”: UMA METODOLOGIA PARA IDENTIFICAR AS FONTES ANTRÓPICAS EM ECOSISTEMA AQUÁTICO

Daniele Frascareli^{1,*}

Sheila Cardoso-Silva²

Paula Mayara Morais da Silva³

Marcelo Pompêo⁴

André Henrique Rosa¹

1- Universidade estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciências e Tecnologia. Avenida Três de Março, 511. Alto da Boa Vista. 18087-180. Sorocaba – São Paulo, Brasil.

2- Universidade de São Paulo (USP), Instituto de Oceanografia. Praça do Oceanográfico, 191- Butantã, São Paulo- SP, 05508-120, São Paulo- SP, Brasil.

3- Faculdade de Tecnologia, Universidade de Campinas – Unicamp, CEP: 13848-332, Limeira, São Paulo, Brasil.

4- Universidade de São Paulo (USP), Instituto de Botânica, Depto de Ecologia, sala 359 - R. do Matão, Travessa 14, 321 - 05508-090- Butantã, São Paulo, SP - Brasil

*Correspondente: dani.frascareli@hotmail.com

RESUMO

O método *Fingerprinting* é utilizado para auxiliar na distinção de fontes de contaminação em ecossistemas aquáticos, correlacionando os compartimentos ambientais, como, solo e material particulado, solo e sedimento, entre outros. Devido à alta diversidade de atividades no entorno de ecossistemas aquáticos, cada vez torna-se mais difícil a tarefa de identificar a fonte dos contaminantes presentes na água e/ou sedimento, por isso, técnicas como essa podem favorecer o entendimento a respeito da entrada de poluentes. O presente trabalho buscou apresentar a aplicação da técnica utilizando o software R e o pacote FingerPro, apresentando um exemplo de aplicação e comentando o passo-a-passo. Esta metodologia está resultando bons trabalhos e publicações na temática, auxiliando na melhor compreensão ambiental do ecossistema aquático e até mesmo, da bacia de drenagem, logo, o objetivo deste trabalho é desmistificar e facilitar o uso da ferramenta por todos que tiverem interesse em utiliza-la na análise de seus conjuntos de dados.

INTRODUÇÃO

A interferência humana no meio ambiente pode levar à degradação terrestre e aquática, resultando em perdas de solo e erosão (KOITER *et al.*, 2013). Por sua vez, os sedimentos podem interferir na qualidade de água por serem potenciais depósitos de contaminantes, como por patógenos, produtos químicos e metais, e, também causar redução da calha dos rios e no caso dos reservatórios, perda de volume útil (KOITER *et al.*, 2013; TSAKOVSKI *et al.*, 2011). Consequentemente, alterações nos sedimentos afetam diretamente os organismos e as comunidade biológicas aquáticas (KOITER *et al.*, 2013) bem como os serviços ecossistêmicos (LACHANCE *et al.*, 2020).

Dessa forma, técnicas que detectem as alterações nos sedimentos são de extrema importância (BELMONT *et al.*, 2014), considerando a química e a localização dos sedimentos (TSAKOVSKI *et al.*, 2011). Isto posto, a técnica de *fingerprinting*, que ganhou maior interesse nos últimos anos, recebe destaque na análise de sedimentos dentro de uma bacia hidrográfica (BELMONT *et al.*, 2014).

Fingerprinting é uma tecnologia utilizada para rastrear as fontes de sedimentos em bacias hidrográficas, especialmente para aquelas com características heterogêneas (KIMOTO *et al.*, 2008) e determinar os diferentes usos de terra (SMITH; BLAKE, 2014). Essa é uma técnica estatística que tem como base a contribuição dos materiais originários das fontes de sedimento (SMITH; BLAKE, 2014). Nessa técnica, avalia-se a origem dos sedimentos através de suas propriedades físicas ou biogeoquímicas (KOITER *et al.*, 2013). Além disso, compara-se os sedimentos de origem com os de suspensão na coluna de água (LACHANCE *et al.*, 2020) ou mesmo os sedimentos depositados na coluna de água (PULLEY *et al.*, 2015).

Algumas das análises dessa técnica envolvem o emprego de geoquímica, mineralogia, radionuclídeos, mineralogia, composição granulométrica, isótopos estáveis e cor (KIMOTO *et al.*, 2008; SMITH; BLAKE, 2014). Lachance *et al.* (2020), por exemplo, utilizou a técnica de *fingerprinting* para identificar as fontes de sedimentos no reservatório de Beaudet (Quebec, Canadá). Os autores observaram que sua capacidade de armazenamento diminuiu 35% em 35 anos e pode-se observar que a origem dos sedimentos foram solos de uso agrícola, florestados, fundo e topo de riacho. No Brasil, essa técnica já é bem explorada, principalmente em função da alta heterogeneidade de usos e ocupação de solo, autores buscaram alternativa para relacionar uso e ocupação do solo com a degradação do ecossistema e assim, aumentar a compreensão ambiental (DA SILVA *et al.*, 2018; MINELLA *et al.*, 2009; TIECHER *et al.*, 2019). Desta maneira, técnicas que auxiliem a identificar problemas de qualidade da água ou do sedimento podem contribuir no manejo sustentável dos ecossistemas aquáticos. O presente estudo descreve os passos para a aplicação da técnica de *fingerprinting*, uma ferramenta auxiliar nos processos de gestão ambiental, além de contribuir com o desenvolvimento de pesquisas acadêmicas.

SOFTWARE

Para a aplicação da técnica de *fingerprinting*, o tratamento dos dados pode ser feito através do software RStudio versão 1.2.5033, o software Past 2.7, o Excel® e o Origin Pro 8.5 (HAMMER *et al.*, 2001). O pacote para análise *Fingerprinting* sugerido é o “*FingerPro*” (LIZAGA *et al.*, 2019) com algumas adições de análises na metodologia segundo orientações de Minella *et al.* (2007). A inclusão do cálculo das incertezas com a distância Mahalanobis e o cálculo do erro (RME) no método *Fingerprinting* segundo Minella (2007) pode ser feito no R, mas também é possível realizar no Excel. O *boxplot* e a contribuição relativa de cada gráfico de origem neste trabalho foram realizados pela versão Origin Pro 8.5.

SÍNTESE DAS ETAPAS

A primeira etapa do procedimento é identificar as fontes potenciais de poluição provenientes do uso e ocupação do solo que são significativamente diferentes em relação aos tipos de uso e ocupação (ex.: solo urbano, solo agrícola, solo para pastagem, etc). Para isso, pode ser utilizado o teste de variação não paramétrica Kruskal-Wallis H (KW-H) (Equação 1). Os testes KW-H devem ser realizados com 95% do nível de confiança ($p=0,05$). Em seguida, é formulada uma hipótese nula ($p < 0,001$) que assume que as

fontes pertencem à mesma população. O teste KW-H para uso e ocupação do solo (ex.: floresta, urbano, agrícola) indica que essas classes são significativamente diferentes umas das outras ($p < 0.05$).

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{s=1}^g \frac{R_s^2}{n_s} - 3(n+1) \quad \text{Equação 1.}$$

Nesta etapa cada variável previamente analisada no uso e ocupação do solo, será testada quanto sua capacidade de discriminar em relação a fonte que foi classificada, por exemplo, todas as fontes: uso e ocupação “solo urbano”, “solo agrícola”, “solo florestal”, etc., serão testadas com a variável indicadora de impacto, como por exemplo, o “metal cobre – Cu”. Será feito então o teste KW-H e com esta análise será identificado quais destes usos e ocupações o Cu será significativamente diferente. Nesta etapa será identificado a variável i que diferencia em qualquer uma das fontes de uso e ocupação do solo. Assim, sucessivamente para todas as variáveis i analisadas em cada fonte; no teste a hipótese nula (H_0) será que as populações são idênticas e a hipótese (H_1) será de que as populações se diferem.

A próxima etapa irá reduzir a dimensionalidade e maximizar a discriminação dos grupos, assim complementando a análise anterior (KW-H), que sozinha não é suficiente para aplicar o método. Como etapa subsequente, tem-se a análise de função discriminante multivariada, que determina o conjunto mínimo de variáveis que proporciona a melhor discriminação entre as fontes. A função discriminante utilizada é a minimização de Wilk’s Lambda (Equação 2) que determinará o número mínimo de variáveis que maximiza a discriminação das fontes.

$$\Lambda = \frac{|SS_{erro}|}{|SS_{erro} + SS_{trat}|} \quad \text{Equação 2,}$$

onde: $|SS_{erro}|$ é a matriz da soma dos quadrados do erro e $|SS_{erro} + SS_{trat}|$ é a matriz da soma dos quadrados totais. Quando Λ é próximo de 1, não existe a capacidade discriminante (as fontes são consideradas iguais) e quando os valores são próximos de zero, a maior parte da variabilidade total pode ser atribuída à diferença entre os grupos (Macedo Neto, 2017). Enquanto que o valor de Lambda Parcial fornece a significância isolada para cada variável (Macedo Neto, 2017; Jean Paolo Gomes Minella, 2007). Esse conjunto ou grupo de variáveis escolhidas irá apresentar a melhor composição de variáveis que reflete o comportamento do processo de emissão das fontes (uso e ocupação no caso).

Também é possível calcular as incertezas associadas à capacidade de diferenciação entre as fontes, nesta etapa é possível determinar a porcentagem de amostras corretamente classificadas, analisando a variabilidade dentro de cada grupo através da determinação da distância de Mahalanobis (Equação 3). Nesta análise pode ser utilizado o Excel para realização dos cálculos ou também utilizando o RStudio, de acordo com a equação a seguir:

$$d_{sj}^2 = \left(\begin{matrix} \rightarrow & - & \rightarrow \\ \bar{x}_{sj} & & \bar{x}_s \end{matrix} \right)^T (S_{comb}^{-1}) \left(\begin{matrix} \rightarrow & - & \rightarrow \\ \bar{x}_{sj} & & \bar{x}_s \end{matrix} \right) \quad \text{Equação 3,}$$

onde d_{sj} é a distância entre uma amostra qualquer j coletada na fonte s e o centroide do grupo (fonte); \bar{x}_s é vetor coluna que representa o centroide da fonte s ; \bar{x}_{sj} é o vetor coluna com os valores de uma amostra obtida na fonte s e S_{comb} é a matriz variância-covariância das variáveis químicas combinadas para os grupos (fontes).

O próximo passo é a aplicação do modelo linear proposto por (YU; OLDFIELD, 1989) que consiste na determinação matemática da contribuição relativa em porcentagem de cada fonte através de um modelo de mistura multivariado. Os resultados descrevem a relação entre as proporções das fontes e os parâmetros da mistura de sedimentos.

$$y_i = \sum a_{is} P_s \quad \text{Equação 4,}$$

sendo y_i o valor do traçador i obtido nos sedimentos enquanto a_{is} a concentração do traçador i a fonte s e P_s a contribuição relativa da fonte s , que podem ser apresentadas como um conjunto de funções lineares de m variáveis e n fontes. Ainda, o modelo linear da Equação 4 trata que os sedimentos são uma mistura das fontes e que a comparação da concentração dos elementos das fontes com os elementos do sedimento

pode definir a contribuição de cada fonte. A solução é encontrada por meio de um processo iterativo que objetiva minimizar o valor de R ($f_{\min\text{con}}$) (Equação 5) determinado por (WALLING; WOODWARD, 1995). Neste processo, os valores de P ficam sujeitos a três restrições que são: serem maiores ou iguais a zero, serem menores ou iguais a 1 (um) (Equação 6) e por fim, a soma dos P_s deve ser igual a 1 (Equação 7).

$$R = \sum_{i=1}^m \left\{ \frac{C_i - (\sum_{s=1}^g P_s C_{si} Z_s)^2}{C_i} \right\} \quad \text{Equação 5,}$$

$$0 \leq P_s \leq 1 \quad \text{Equação 6,}$$

$$\sum_{s=1}^g P_s = 1 \quad \text{Equação 7,}$$

onde C_i é concentração do traçador i na amostra de sedimentos; P_s é a proporção de contribuição da fonte s ; C_{si} é o valor médio do traçador i obtido na fonte s ; e Z_s é o fator de correção da granulometria para a fonte s .

Segundo (MINELLA *et al.*, 2008) o modelo é adequado para identificar fontes se o erro médio médio relativo (RME) for inferior a 17%; indicando que o modelo de mistura otimizada é capaz de fornecer uma previsão aceitável das concentrações das propriedades das impressões digitais associadas às amostras de sedimentos (Equação 8).

$$RME = \frac{\sum_{i=1}^m \left\{ \frac{C_i - (\sum_{s=1}^g P_s C_{si})}{C_i} \right\}}{m} \quad \text{Equação 8.}$$

APLICANDO O MÉTODO FINGERPRINT

DOWNLOAD SOFTWARE E PACOTE FINGERPRO

Para download do software RStudio é necessário entrar na página < <https://www.rstudio.com/products/rstudio/download/> > (Acessado e 11 de agosto de 2021) e fazer o download gratuito do software na versão RStudio Desktop. Não entraremos em detalhes na utilização do software, mas será apresentado um passo a passo da utilização do pacote *figerPro* com o script e comentários. Na página < <https://cran.r-project.org/web/packages/fingerPro/index.html> > (Acessado e 11 de agosto de 2021) é possível fazer o *download* do pacote *FingerPro*. Os autores do pacote proporcionam uma página na web com maiores detalhes da aplicabilidade e alguns exemplos (<https://github.com/ead-csic-eesa/fingerPro>) (Acessado em 11 de agosto de 2021).

Observação 1: não esquecer de deixar tudo na mesma pasta e deixar no RStudio o diretório (pasta) de origem dos dados vinculada. Caso contrário, não conseguirá realizar as análises.

Observação 2: Usar sempre uma nomenclatura dos arquivos de modo simples pois o software R não distingue letra maiúscula de minúscula.

SCRIPT FINGERPRO: APLICANDO FINGERPRINTING A DADOS AMBIENTAIS

Será apresentado o *script* disponível no pacote *FingerPro* com detalhes e explicação da aplicação. Abra o RStudio e cole o seguinte *Script* na lousa. Neste *Script*, os autores usam um conjunto de dados chamado de *catchment* que pode ser substituído pelos que você possui, basta ter atenção em como montar sua tabela no excel e passar para o bloco de notas.

Script:

```
#Se você quer usar seus dados próprios
#setwd("escolha a pasta que contém seu conjunto de dados")
#data <- read.table('seu conjunto de dados', header = T, sep = 't')
```

```

#Exemplo dos dados incluídos no pacote fingerPro
#Carregar o conjunto de dados chamado "catchment"
install.packages("fingerPro")
library(fingerPro)
# "Catchment": Este conjunto de dados foi selecionado a partir de uma bacia mediterrânica e contém
radionuclídeos e dados geoquímicos de alta qualidade.
#AG (cropland)
#PI and PI1 (Pine forest, a princípio parece diferente, mas quando mostra a parcela de LDA verá que
a decisão de querer juntar-se a ambos os pinheiros como a mesma fonte)
#SS (subsoil)
data <- catchment
boxPlot(data, columns = 1:6, ncol = 3)
correlationPlot(data, columns = 1:5, mixtures = T)
LDAPlot(data, P3D=FALSE)
#variáveis são colineares
#selecionar o conjunto ótimo de traçadores através da implementação dos testes estatísticos
data <- rangeTest(data)
data <- KWTest(data)
data <- DFATest(data)
# Verificar como os traçadores selecionados discriminam entre as fontes
LDAPlot(data, P3D=F)
LDAPlot(data, P3D=T)
#2D e LDAPlots 3D sugerem que duas das fontes têm de ser combinadas
#carregar o conjunto de dados original "catchment"
data <- catchment
# Combinar fontes PI1 e PI com base no LDAPlot anterior
data$Land_Use[data$Land_Use == 'PI1'] <- 'PI'
# selecionar o conjunto ótimo de traçadores através da implementação dos testes estatísticos
data <- rangeTest(data)
data <- KWTest(data)
data <- DFATest(data)
LDAPlot(data, P3D=F)
# Agora as propriedades ótimas de traçador selecionadas mostram uma boa discriminação, por isso
proceda com a função unmix

```

RESULTADOS

Nesta parte do manuscrito apresentaremos os resultados da aplicação do *Script* supramencionado, com comentários.

- 1) Faça a instalação do pacote e a leitura na biblioteca. Basta rodar essa etapa:

```
install.packages("fingerPro")
library(fingerPro)
```
- 2) Conjunto de dados: Primeiro a respeito da tabela de dados que possui a coluna *id*, *Land_Use* e todas as variáveis analisadas, faça o mesmo. Veja que os *Land_Uses* são diferentes, os autores possuem por exemplo o AG, PI1, PI e SS e por fim, *mix.sample*. O *mix.sample* é o sedimento em suspensão ou sedimento de fundo, etc, é o objeto que você quer descobrir a origem da composição. Introduza no *software* o conjunto de dados rodando essa etapa:

```
data <- catchment
```

id	Land_Use	Pbex	K40	Bi214	Ra226	Th232	U238	Nb	Sr	Rb	Pb	Zn	Fe	Mn	Cr	V	Ti	Ca	K	Al	
1	42665	AG	9.48	494	31.60	32.90	30.90	50.0	10.35	248.44	28.70	109.80	42.89	25128.60	307.21	114.78	94.25	3380.55	179817.4	14751.97	28924.
2	42666	AG	19.12	470	32.20	35.10	31.70	47.2	10.54	184.21	27.92	111.53	53.96	28101.43	281.65	160.24	100.00	3423.03	143008.0	14465.81	25558.
3	42667	AG	22.62	513	31.10	28.60	33.80	32.2	10.73	249.31	28.91	110.36	45.63	26134.06	291.32	120.32	79.46	3181.18	191218.5	15531.28	27756.
4	42694	AG	24.08	587	32.20	32.90	38.40	45.6	12.88	159.69	39.04	111.43	58.99	34567.81	420.29	140.75	140.45	3915.94	103452.1	18524.13	34511.
5	42741	AG	3.38	567	28.20	29.40	34.50	41.3	9.78	358.93	32.37	110.31	42.10	26085.07	238.50	101.27	110.55	3110.29	198509.3	16811.93	30349.
6	42770	AG	0.32	586	29.90	31.60	33.20	49.0	9.88	229.60	34.25	110.48	45.56	27524.03	266.68	115.49	112.62	3388.29	166522.1	17150.02	26365.
7	42631	PI1	31.92	395	23.50	24.60	27.50	38.9	8.72	218.02	20.35	110.46	35.73	21852.86	252.68	132.26	53.36	2632.18	231596.6	11188.60	21653.
8	42635	PI1	34.00	469	25.70	25.00	28.00	36.9	9.70	293.44	29.29	110.20	44.68	24442.58	217.83	119.83	97.64	3124.56	202918.5	14752.92	27912.
9	42636	PI	33.06	489	24.50	25.30	29.20	35.0	9.49	283.51	26.96	110.79	38.19	23342.98	156.35	99.73	96.06	3090.16	191418.4	13681.83	24577.
10	42639	PI	82.60	500	27.80	28.00	29.90	39.0	10.36	158.15	29.79	112.80	51.21	29307.49	437.98	126.13	100.70	3331.65	130874.2	14779.34	25905.
11	42643	PI	30.12	423	24.60	24.10	26.30	42.0	10.46	194.27	23.82	110.82	37.94	24607.39	352.67	120.26	85.87	2995.89	188508.5	13499.18	23576.
12	42668	PI1	84.84	491	28.70	29.70	33.90	47.4	12.02	182.23	27.93	111.27	41.99	27133.90	326.77	121.37	95.18	3288.95	158667.5	14702.56	25868.
13	42701	PI1	48.06	551	26.70	27.80	36.00	56.5	10.98	161.17	30.67	111.01	54.19	31820.88	521.05	126.32	113.91	3404.08	152394.3	15736.42	30803.
14	42702	PI1	100.40	483	26.50	22.00	28.80	38.7	10.77	188.66	27.15	112.42	46.34	26281.92	239.81	123.05	80.70	3117.54	153080.3	14388.13	23281.
15	42703	PI1	29.42	535	23.40	21.60	31.30	32.9	10.37	223.54	32.10	111.07	46.43	26182.40	273.91	112.46	94.64	3171.25	190392.4	17270.76	29722.
16	42704	PI	66.98	587	29.90	28.40	40.10	42.8	11.64	149.35	35.46	111.77	52.37	31204.70	481.74	101.24	120.04	3701.09	111392.2	17300.90	30986.
17	42705	PI1	51.88	532	25.40	25.90	36.50	36.0	13.21	155.09	34.12	111.81	48.10	30783.46	392.23	121.38	123.42	3647.34	114942.8	16890.23	29629.
18	42707	PI1	33.50	530	26.00	24.00	32.10	34.4	11.38	237.69	27.33	110.00	43.34	25616.35	348.87	115.25	100.88	3275.28	178332.2	13985.13	26935.
19	42807	SS	0.00	478	26.10	24.30	33.10	34.0	9.70	208.26	27.30	110.13	38.03	23979.40	209.57	99.28	95.91	3133.55	221956.6	13607.60	23317.
20	42811	SS	0.00	736	26.20	28.20	41.60	46.8	8.69	320.19	45.50	109.97	57.51	32083.35	146.54	140.81	144.17	3263.21	187796.2	22953.92	32260.
21	42812	SS	0.00	607	26.15	26.25	37.35	40.4	9.20	264.23	36.40	110.05	47.77	28031.38	178.06	120.05	120.04	3198.38	204876.4	18280.76	27789.
22	42744	mix.sample	24.58	456	26.80	26.90	30.40	41.3	10.42	325.32	25.99	109.37	35.37	22161.26	289.84	93.44	84.10	3207.01	205868.8	13990.52	26603.

Figura 1: Conjunto de dados Catchment.

3) Os autores possibilitam uma visualização de um *boxplot* com as variáveis da coluna 1 até a 6 (*columns=1:6*), para ver as outras, basta mudar a numeração. Rode essa etapa:

```
boxPlot(data, columns = 1:6, ncol = 3)
```

Será possível visualizar a seguinte imagem:

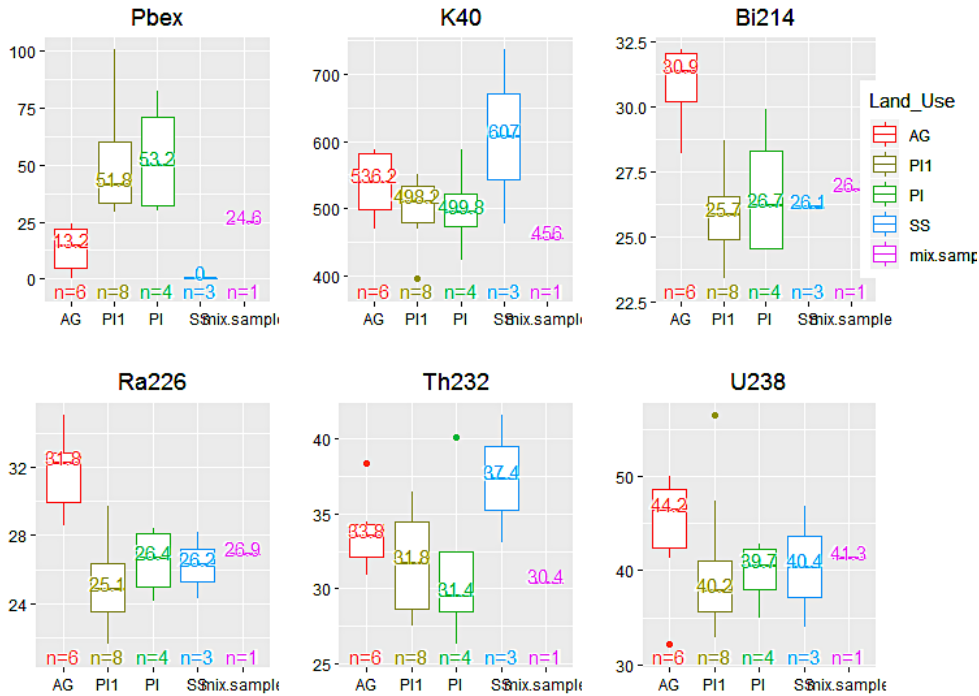


Figura 2: BoxPlot variáveis de 1 até 6.

- 4) A próxima etapa os autores fazem uma análise de correlação com as 5 primeiras variáveis das colunas 1:5. Você verá a Figura 3 quando rodar o seguinte *script*:
`correlationPlot(data, columns = 1:5, mixtures = T)`

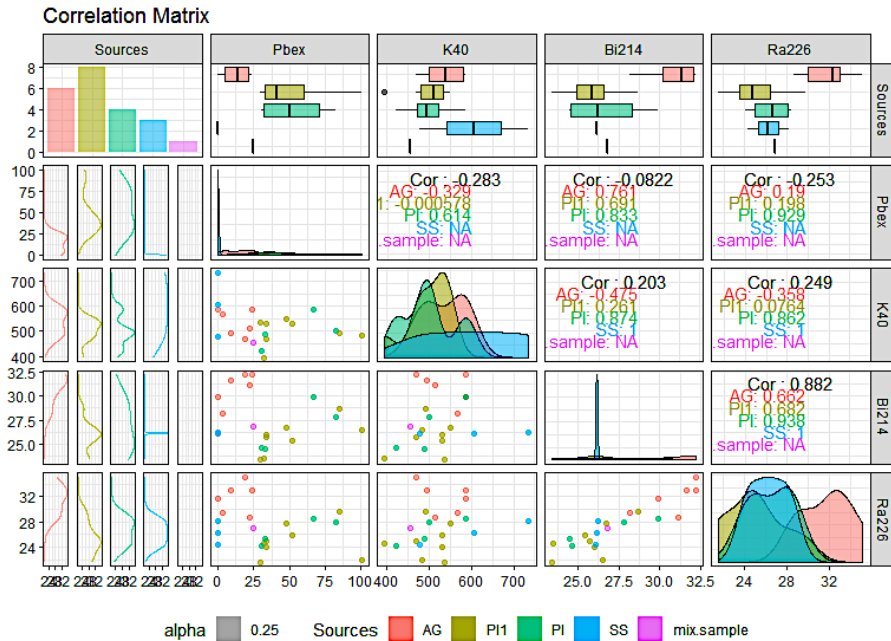


Figura 3: Matriz de correlação com 5 variáveis.

- 5) A próxima etapa é a análise DFA, rondando o *Script*:
`LDAPlot(data, P3D=FALSE)`
 Os resultados serão:

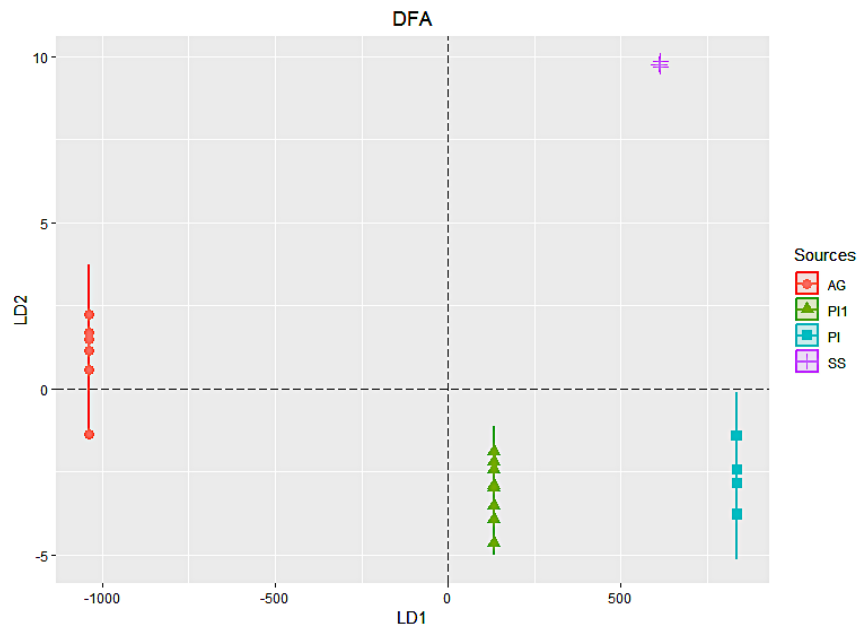


Figura 4: Resultado da análise estatística DFA.

- 6) Os autores citam que o conjunto de dados é colinear e então segue para encontrar os melhores traçadores, nesta etapa, ele aplica somente um teste, escolher o que melhor se aplica na minimização dos seus dados.

```
data <- rangeTest(data)
data <- KWTest(data)
data <- DFATest(data)
```

Com os dados “catchment”, o rangeTest excluí somente 3 variáveis (Cr, Pb e Zn) de um total de 21, o KWTest excluí 18 variáveis de um total de 21 e por fim, o DFATest excluí 14 variáveis de um total de 21.

Usando como exemplo o [data <- rangeTest(data)]

Resultado:

```
> data <- catchment
> #variables are collinear
> #select the optimum set of tracers by implementing the statistical tests
> data <- rangeTest(data)
```

Attention-> 3 variables from a total of 21 were removed: Cr Pb Zn. The variable/variables that remains in your dataset is/are: Pbex K40 Bi214 Ra226 Th232 U238 Nb Sr Rb Fe Mn V Ti Ca K Al Si Mg.

Rodar o script e formara a Figura 5:

```
LDAPlot(data, P3D=F)
LDAPlot(data, P3D=T)
```

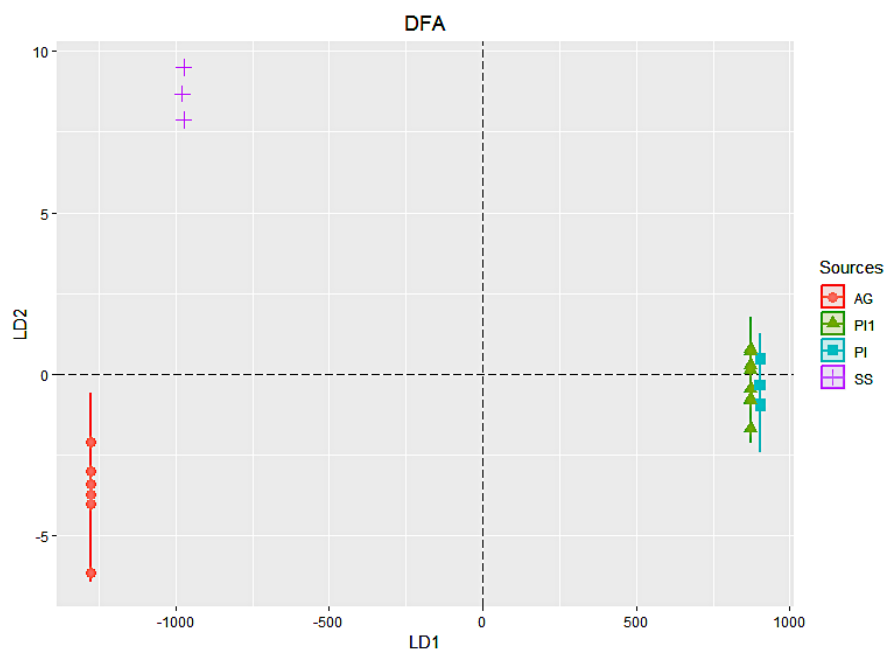


Figura 5: Análise estatística DFA.

- 7) Os autores carregam novamente o conjunto de dados originais pois observaram na análise LDA que os usos e ocupação do solo PI1 e PI se sobrepueram e por isso, irão agrupar em um só grupo, rodando o script:

```
data <- catchment
```

```
data$Land_Use[data$Land_Use == 'PI1'] <- 'PI'
```

Após o agrupamento, aplicam novamente os testes *RangeTest*, *KWTest* ou *DFATest* para encontrar as variáveis que melhor discriminam as fontes. Por exemplo, com esses dados agrupados, aplicamos o `[data <- KWTest(data)]` e como resultado temos a exclusão de 15 variáveis:

```
data <- KWTest(data)
```

Attention-> 15 variables from a total of 21 were removed: K40 Th232 U238 Nb Sr Rb Zn Fe Cr V Ti Ca K Al Mg. The variable/variables that remains in your dataset is/are: Pbex Bi214 Ra226 Pb Mn Si.

Visualizando a nova imagem gerada na análise *LDAPlot* [`LDAPlot(data, P3D=F)`], temos a Fig. 6:

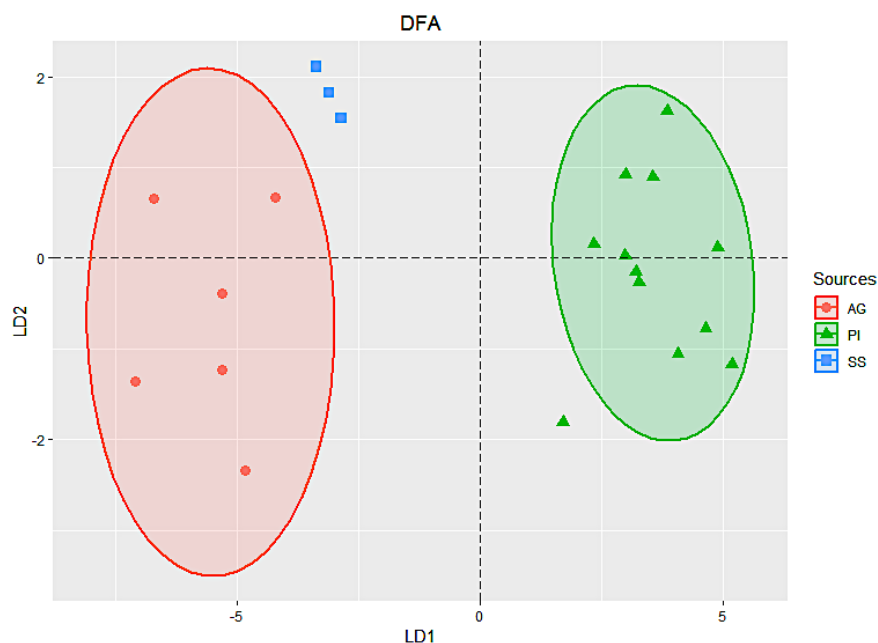


Figura 6: Plotagem gráfica da análise estatística DFA.

Como resultado temos essa separação dos usos e ocupação do solo bem distintos um do outro e esse é o objetivo dessa primeira etapa, a próxima é realizar a análise de função *unmix*.

A próxima etapa descrita, trata-se do resultado de pesquisa da autora deste trabalho (Frascareli, 2021). Como citado anteriormente, é possível calcular a incerteza associada a capacidade de cada grupo em discriminar as fontes, usando a distância Mahalaanobis. É possível usar o excel nessa etapa, mas também pode ser automatizado no software R da seguinte maneira, use:

```
##Incerteza associda a capacidade de diferenciação das fontes
data1<-data
data1$Land_Use <-NULL
data1
data1$id<-NULL
x<-data1
mean = colMeans(x)
mean
sx=cov(x)
sx
```

```
D1= mahalanobis(x,mean, sx)
D1
```

```
D2=D1^(2)
D2
x
data
```

Os resultados serão apresentados no display quando rodar o *data* e as distâncias entre os centroides de cada grupo devem ser apresentados. Para compreender melhor, segue um exemplo prático (Fig. 7):

Samples	Groups	Urban	Forest	Agri
1	Urban	7.4	71.2	46.0
2		7.3	71.0	41.6
3		7	80	200.5
4		3.2	70	74.5
5	Forest	38.7	0.1	64.3
6		44.6	0.1	62.8
7		18.4	0.1	19.0
8		22.2	0.0	18.2

Figura 7: Análise de Mahalanobis. Fonte: Frascareli (2021).

As amostras *samples* 1 até 4 correspondem ao uso do solo *Urban*, foram classificados como *Urban* uma vez que a distância dos centroides com o próprio grupo foi inferior em relação a distância com os outros grupos disponíveis (*Forest* e *Agri*). O mesmo é possível ser observado no grupo *Forest*, cujos valores das distâncias no próprio grupo é pequena em relação aos outros grupos (*Urban* e *Agri*). Conclui-se que os pontos de coleta analisados foram bem classificados nos grupos em questão.

```
8) Aplicação do modelo unmix, equação 7 e 8 :
# Agora as propriedades ótimas de traçador seleccionadas discriminam bem, por isso proceda com a
função unmix
#equação 7
data
result <- unmix(data, samples = 100L, iter =100L)
data
```

Resultado:

```
> result <- unmix(data, samples = 100L, iter =100L)
Summary of the model inputs:
 6 variables from 3 sources ( AG PI SS )
Press [enter] to unmix your data
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
[---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
*****|
```

Summary of the model outputs:
See below the result/s of the unmixing process using the source variability of the best 100 results, notice that the first row of the results is the central value or the average with no correction

```
id GOF.mean GOF.SD AG.mean AG.SD PI.mean PI.SD SS.mean SS.SD
1 42744 0.78217314 0.03598671 0.22534919 0.09415315 0.3305210 0.0960739 0.44412977 0.08828968
```

```
#Mixing model
```

```

#equação 8
samples<- inputSample(data)
sources<-inputSource(data)
result2 <- unmix_c(sources, samples, trials = 100L, iter = 100L)
#Mostrar os resultados
plotResults(result, y_high = 5, n = 2)
plotResults(result2, y_high = 5, n = 2)
writeResults(result)
write.table(result, file='eq7.csv', sep=';', dec=',', row.names=FALSE)
write.table(result2, file='eq8.csv', sep=';', dec=',', row.names=FALSE)

```

Resultado:

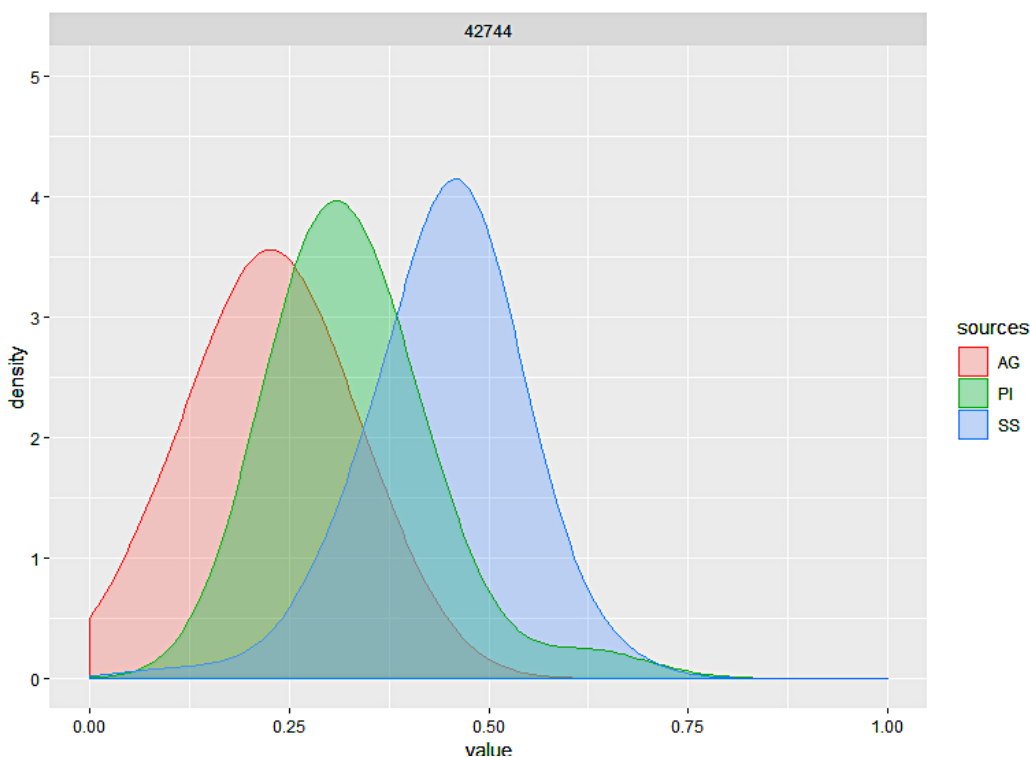


Figura 8: Plotagem da análise do modelo *unmixi*.

Os resultados do modelo de mistura neste caso não foram bons, uma vez que não foi possível distinguir bem as fontes por apresentarem sobreposição (Figura 8). A próxima etapa será rodar todo o *Script* novamente, buscando ajustar melhor as variáveis que foram escolhidas previamente nas análises (*KW-H*, *DFATest* ou *RangeTest*), a fim de obter uma melhor discriminação das fontes nessa última etapa *unmix*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método *Fingerprinting* tem um grande potencial de distinguir as fontes de sedimentos e contaminação e todo o tratamento de dados acima descrito pode favorecer essa discriminação. Alguns conhecimentos em informática e matemática podem levar ao domínio da técnica, entretanto, o objetivo deste Manual foi ser o mais claro possível na aplicação desta ferramenta por qualquer pessoa interessada e sem um conhecimento aprofundado em ambas as áreas (informática/matemática). Devido à intensa atividade no entorno de ecossistemas aquáticos, cada vez torna-se mais dificultosa a tarefa de identificar a fonte dos contaminantes presentes na água e/ou sedimento, por isso, técnicas como essa podem favorecer o entendimento a respeito da dinâmica ecossistêmica em relação à entrada de poluentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fapesp pelo apoio financeiro nos Processos nº2016/15397-1 e 2018/20326-1. Também, à CAPES/DAAD nos processos números 99999.008107/2015-07 e 88887.165060/2018.

REFERÊNCIAS

BELMONT, P.; WILLENBRING, J. K.; SCHOTTLER, S. P.; MARQUARD, J.; KUMARASAMY, K.; HEMMIS, J. M. Toward generalizable sediment fingerprinting with tracers that are conservative and nonconservative over sediment routing timescales. **Journal of Soils and Sediments**, v. 14, n. 8, p. 1479-1492, 2014.

DA SILVA, E. M. R.; MEDEIROS, P.; ARAÚJO, J. C. D. Applicability of Fingerprinting for identification of sediment source in a mesoscale semiarid catchment. **Engenharia Agrícola**, v. 38, n. 4, p. 553-562, 2018.

FRASCARELI, D. **Heterogeneidade espacial e influência do uso e ocupação do solo nas características do sedimento superficial e água intersticial no reservatório de Ituparanga-SP**. Tese de doutoramento, PPG em Ciências Ambientais, Campus de Sorocaba, 2021.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistic software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.

KIMOTO, A.; FARES, A.; POLYAKOV, V. Sediment tracing techniques and their application to coastal watersheds. **Coastal Watershed Management**, v. 13, p. 65, 2008.

KOITER, A. J.; OWENS, P. N.; PETTICREW, E. L.; LOBB, D. A. The behavioural characteristics of sediment properties and their implications for sediment fingerprinting as an approach for identifying sediment sources in river basins. **Earth-Science Reviews**, v. 125, p. 24-42, 2013.

LACHANCE, C.; LOBB, D. A.; PELLETIER, G.; THÉRIAULT, G.; CHRÉTIEN, F. Determination of sediment sources in a mixed watershed within the Appalachian-St. Lawrence Lowland Regions of southern Quebec using sediment fingerprinting. **Environmental monitoring and assessment**, v. 192, n. 9, p. 1-11, 2020.

LIZAGA, I.; LATORRE, B.; GASPAS, L.; NAVAS, A. **fingerPro: An R package for sediment source tracing**. 2019

MACEDO NETO, D. **Geoquímica e fingerprinting de sedimentos em rio influenciado pela urbanização: um estudo por regiões aplicado à bacia do Rio Barigui**, Tese de doutoramento, PPG em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, da Universidade Federal do Paraná, 2017.

MINELLA, J. P. G. **Utilização de técnicas hidrossedimentométricas combinadas com a identificação de fontes de sedimentos para avaliar o efeito do uso e do manejo do solo nos recursos hídricos de uma bacia hidrográfica rural no Rio Grande do Sul**, Tese de doutoramento, PPG em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.

MINELLA, J. P. G., MERTEN, G. H., & CLARKE, R. T. Método "fingerprinting" para identificação de fontes de sedimentos em bacia hidrográfica rural. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n. 5, p. 633-638, 2009.

MINELLA, J. P. G.; WALLING, D. E.; MERTEN, G. H. Combining sediment source tracing techniques with traditional monitoring to assess the impact of improved land management on catchment sediment yields. **Journal of Hydrology**, v. 348, n. 3-4, p. 546-563, 2008.

PULLEY, S.; FOSTER, I.; ANTUNES, P. The application of sediment fingerprinting to floodplain and lake sediment cores: assumptions and uncertainties evaluated through case studies in the Nene Basin, UK. **Journal of Soils and Sediments**, v. 15, n. 10, p. 2132-2154, 2015.

SMITH, H. G.; BLAKE, W. H. Sediment fingerprinting in agricultural catchments: a critical re-examination of source discrimination and data corrections. **Geomorphology**, v. 204, p. 177-191, 2014.

TIECHER, T.; RAMON, R.; LACEBY, J. P.; EVRARD, O.; MINELLA, J. P. G. Potential of phosphorus fractions to trace sediment sources in a rural catchment of Southern Brazil: Comparison with the conventional approach based on elemental geochemistry. **Geoderma**, v. 337, p. 1067-1076, 2019.

TSAKOVSKI, S.; SIMEONOVA, P.; SIMEONOV, V.; STANU, O.; OSAD, Z.; CHEMOMETRYCZNYCH, M. Sediment pollution assessment by chemometric methods. **Ecological Chemistry and Engineering S**, v. 18, v. 2, p. 141-170, 2011.

WALLING, D. E.; WOODWARD, J. C. Tracing sources of suspended sediment in river basins: a case study of the River Culm, Devon, UK. **Marine and Freshwater Research**, v. 46, n. 1, p. 327-336, 1995.

YU, L.; OLDFIELD, F. A multivariate mixing model for identifying sediment source from magnetic measurements. **Quaternary Research**, v. 32, n 2, p. 168-181, 1989.

CAPÍTULO 9

ECOTOXICOLOGIA DE PAISAGEM APLICADA AO SEDIMENTO DO RESERVATÓRIO GUARAPIRANGA (SÃO PAULO, BRASIL)

Philippe Riskalla Leal¹

Júlio López-Doval²

Viviane Moschini-Carlos³

Marcelo Pompêo⁴

1- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo, Brazil

2- BAC Engineering Consultancy Group, S.L., Barcelona, Espanha

3- Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

4- Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Neste trabalho, objetivou-se o avaliar ecotoxicidade potencial do sedimento do Reservatório Guarapiranga (São Paulo, Brasil) frente a contaminação por metais, a fim de discutir sua qualidade e sua atual política de gerenciamento ambiental. Os metais analisados foram: Al, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn. Utilizou-se das ferramentas de sistema de informação geográfica, geoprocessamento de imagens e da geoestatística para avaliação da dispersão espacial dos metais ao longo do sedimento do reservatório, este considerado a região de maior implicação ecotoxicológica para contaminantes metálicos. Foi observadas grande variabilidade quantitativa e espacial entre os metais analisados, além disso, os resultados sugerem que o Guarapiranga sofre contaminação por diferentes vias. A partir de valores de qualidade guia como os valores de referência regional e os ecotoxicológicos, foi possível observar diferentes compartimentos ao longo do sedimento do reservatório, em função da presença e concentração dos parâmetros de sedimento analisado. A delimitação desses subcompartimentos deve seguir guias de qualidade adequados para delimitar e orientar os gestores ambientais para o manejo ambiental adequado, em conformidade com o fenômeno e intensidade do impacto estudado.

INTRODUÇÃO

A ecotoxicologia de paisagem (*Landscape Ecotoxicology*) é definida como a área responsável por estudar a dispersão espacial de poluentes no meio e seu potencial ecotoxicológico à biota e ao ser humano (CAIRNS; NIEDERLEHNER, 1996). Esta ciência se utiliza de ferramentas e abordagens geoestatísticas acopladas àquelas oriundas da ecotoxicologia, de forma a determinar os teores de componentes potencialmente tóxicos (exemplo: metais, hormônios, organoclorados, etc.) e avaliar seus potenciais tóxicos através de índices de qualidade; essa ferramenta serve de base para o planejamento e manejo ambiental, tal que ganha importância especialmente em estudos envolvendo heterogeneidade espacial, como é o caso de reservatórios hídricos (CARDOSO, 2008; KIMMEL; LIND; PAULSON, 1990; MARIANI; POMPÊO, 2008; SILVA; NISHIMURA; PADIAL; MARIANI; MOSCHINI-CARLOS, 2014).

A compreensão ecológica da dinâmica espacial em reservatórios é normalmente de grande complexidade, uma vez que abrange diversos parâmetros e variabilidades ambientais intrínsecas do sistema. Como consequência, estudos visando o manejo e gestão de recursos hídricos demandam grande colaboração entre diferentes áreas do conhecimento humano (KENNEDY *et al.*, 2003; STRASKR; TUNDISI, 2013), prejudicando a efetividade de trabalhos pontuais de baixa representatividade espacial, ecossistêmica, social, cultural ou econômica do ambiente de interesse (CHAPAMN *et al.*, 1998; FERNANDEZ *et al.*, 2014; HÖSS *et al.*, 2011; MIRANDA *et al.*, 2011; NIU *et al.*, 2015; SOUZA; WASSERMAN, 2015; VER HOEF *et al.*, 2006).

O reservatório Guarapiranga é um exemplo de caso de grande importância sociodemográfica. O reservatório é o responsável pelo abastecimento de mais de 30% de toda Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) e sua qualidade vem sendo impactada por diversos agentes/processos como a aplicação de algicida, extração de caulim, perda progressiva de sua mata ciliar e vegetação de entorno, aporte de efluentes com esgoto industriais, além de proliferação de cianobactérias (CAMPAGNOLI, 2002; DE CARVALHO *et al.*, 2007; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2015; PEDROSO, 1980; COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2011; SALIM; LUCHIARI, 2014; WHATELY; CUNHA, 2006; LEAL *et al.*, 2018).

Apesar do monitoramento realizado pela SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo) e CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) e dos trabalhos da literatura científica, ainda há carência na análise espacial da qualidade de seu sedimento. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a ecotoxicologia de paisagem frente à contaminação por metais do sedimento do reservatório Guarapiranga. Buscou-se delimitar regiões do reservatório de maior e menor qualidade com base nos indicadores *Interim Sediment Quality Guidelines* (ISQG) e *Probable Effect Level* (PEL) (CCME, 1999; RITTER *et al.*, 2012) e nos Valores de Referência Regional (VRR) (NASCIMENTO, 2003).

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O reservatório Guarapiranga situa-se na sub-bacia do Alto Tietê, São Paulo - Brasil, a 23° 43'S e 46° 32'O (WGS-84), a sudoeste da RMPS, principalmente nos municípios de São Paulo, Embu, Itapeverica da Serra e Embu-Guaçu e em pequena parte os municípios de Cotia, São Lourenço e Juquitiba, sob clima tropical, a aproximadamente 742 metros acima do nível do mar. O reservatório apresenta regiões de urbanização intensa a leste, norte e sul, moradias irregulares a oeste, algumas pequenas manchas de vegetação remanescente de entorno próximas à margem do reservatório e um parque (Parque do Guarapiranga) com cobertura vegetativa (EIGER *et al.*, 1999). O reservatório compõe quatro grandes afluentes, cujo valor médio de entrada d'água é de 11,8 m³/s e o volume de armazenamento útil é de 1,92x10⁵ m³ (MOZETO *et al.*, 2001) e uma área de drenagem equivalente a 631 km² (PADIAL, 2008), considerado como o segundo maior manancial dos sistemas de abastecimento da RMSP. O reservatório produz, em média, 14 mil litros de água por segundo para atender cerca de 3,7 milhões de habitantes (WHATELY; CUNHA, 2005). Recentemente a retirada de água do reservatórios foi ampliada, e hoje abastece uma população da ordem de 5,5 milhões de habitantes. A população residente na bacia

hidrográfica da Guarapiranga é estimada em 800 mil pessoas. Segundo o Instituto Socioambiental – ISA, o município de São Paulo abriga 67,5% dessa população (WHATELY; CUNHA, 2006).

O declínio da qualidade da água do reservatório Guarapiranga foi evidente a partir da década de 70 com o crescente processo de eutrofização pela falta de saneamento básico, resultando no enriquecimento de seu corpo d'água. No início da década de 80, florações de diatomáceas e cianobactérias passaram a ser frequentes, prejudicando o processo de tratamento da água destinado ao abastecimento público (RODRIGUES, 2008). Já em 1990, houve um surto de gastroenterite, associado à ingestão de água da Guarapiranga, devido a alta densidade de *Dolichospermum (Anabaena) solitaria* (BEYRUTH, 1996; CETESB, 2002). Atualmente, o reservatório ainda se mantém eutrofizado e desde 1976 há aplicação do algicida sulfato de cobre (CALEFFI, 2000); nos últimos anos, além da aplicação do sulfato de cobre, passou-se a se utilizar o peróxido de hidrogênio como principal procedimento de manejo no controle do crescimento fitoplanctônico, especialmente de cianobactérias, chegando a serem aplicadas a cada ano, 500 toneladas somente de sulfato de cobre e de 650 toneladas de peróxido de hidrogênio (CALEFFI, 2000; CETESB, 2005, 2008; POMPEO; MOSCHINI-CARLOS, 2020).

Definição dos pontos amostrais de sedimento

Neste trabalho foram coletados 78 pontos amostrais distribuídos espacialmente por toda superfície do reservatório Guarapiranga, tal como apresentado na Fig. 1. A coleta foi realizada concomitantemente por duas equipes (A e B) no dia 06/05/2015.

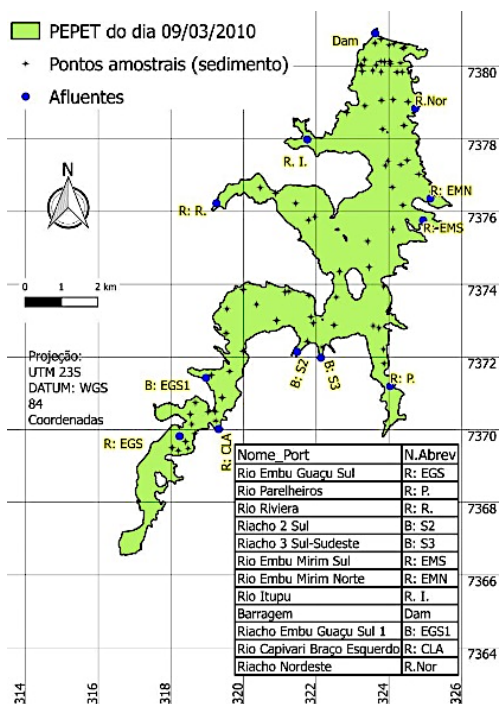


Figura 1: Representação gráfica da distribuição dos pontos de coleta do sedimento ao longo de todo o reservatório (estrelas pretas).

Somente o sedimento do Guarapiranga foi coletado, uma vez que os metais ao se acumularem neste compartimento, representa o compartimento com maior potencial ecotoxicológico (FÖRSTNER; WHITTMAN, 1981; VON DER OHE *et al.*, 2009; CARDOSO-SILVA, 2013; SHAFIE *et al.*, 2013).

Amostras de solo também foram coletadas, utilizando o amostrador do tipo Petersen (CARVALHO, 1994), de acordo com Schropp (1990). Em função do custo e demanda pela otimização da pesquisa, cada

ponto ou região coletada, foi amostrado uma única vez.

Métodos analíticos de quantificação metálica

O método de digestão para determinação dos pseudo-totais, seguiu U.S. E.P.A (MÉTODO 3050 A ou B) (U.S.EPA, 1996) em leitura em espectrômetro de massa por chama - Thermo Scientific, S Series AA Spectrometer. Os elementos metálicos quantificados analisados foram: Alumínio (Al); Ferro (Fe); Zinco (Zn); Cromo (Cr); Cádmio (Cd); Níquel (Ni); Chumbo (Pb); Manganês (Mn).

Para validação e interpretação estatística das leituras dos metais analisados, seguiu-se Fernandes et al. (2015), as quais foram adaptadas para as normas federais brasileiras, conforme Resolução CONAMA, nº 396, de 3 de abril de 2008 (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA, 2008). No caso de amostras com concentração metálica específica abaixo do limite de quantificação praticável (LQP), estas tiveram sua concentração metálica específica definida como igual a zero.

Método para interpolação espacial dos parâmetros

Uma vez quantificados todos os metais, seguidos por suas respectivas validações analíticas (limites de detecção – LD e limite de quantificação - LQ), os pontos amostrais foram georreferenciados para posterior interpolação espacial por krigagem pelo programa GEOVISUAL (versão 5.0). Assumiu-se que o reservatório Guarapiranga apresenta estacionaridade temporal, garantindo estacionaridade de segunda ordem (MITAS; MITASOVA, 1999) - requisito básico para construção dos semivariogramas e respectivas krigagens (YAMAMOTO; LANDIM, 2015). Esta premissa se baseou nos fatos de que: o reservatório Guarapiranga apresenta baixa hidrodinâmica, altas taxas de sedimentação e uma baixa variabilidade temporal interna (ROUHANI; MYERS, 1990; VER HOEF *et al.*, 2006).

Validação qualitativa das amostras de sedimento

Uma vez com os teores metálicos interpolados para toda superfície planar submersa do sedimento do reservatório (SPSS), buscou-se respectiva caracterização sob a ótica da ecotoxicologia. Para tanto, adotou-se um sistema de classificação ecotoxicológica baseado nos guias de qualidade do sedimento (SQGs) canadense (ISQG e PEL) (CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT, 1999; RITTER *et al.*, 2012) e nos valores regionais de referência (VRR), da bacia do Alto Tietê (NASCIMENTO, 2003). O sistema classifica o sedimento em até cinco classes de qualidade (Tab. 1), com base na cor, os quais são ordenados pelo grau de potencial ecotoxicológico, conforme empregado por Leal *et al.* (2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação quimiométrica e análise exploratória quantitativa dos teores metálicos no sedimento do reservatório

Baseados nos valores LD e LQ, as respectivas concentrações metálicas das amostras do sedimento foram avaliadas (Tab. 2). As leituras quimiométricas dos elementos Al, Cr, Ni e Zn encontraram-se acima dos valores estipulados pelos respectivos LDs, e, portanto, foram todas consideradas válidas pelo método analítico adotado. Já as leituras dos pontos 1 e 83 para o Fe, e dos pontos 74 e 77 para Mn ficaram abaixo do LD, e portanto, foram descartadas das demais análises.

Após validação quimiométrica qualitativa das amostras do sedimento, os teores metálicos foram avaliados a partir de uma análise estatística exploratória (Tab. 3). A análise demonstrou variância nas concentrações metálicas presentes no ambiente. Os maiores teores metálicos observados foram para o Fe, Al e Mn, respectivamente. Os demais metais apresentam concentrações no sedimento entre 10 e 1000 vezes mais baixas. Referente aos máximos valores encontrados, o Ni foi o metal com menor concentração no sedimento do reservatório. Os respectivos desvios padrões demonstraram variação entre os pontos amostrais, indicando heterogeneidade espacial no sedimento do reservatório.

Tabela 1: Critérios para definição do potencial de toxicidade do sedimento do reservatório, segundo Leal *et al.* (2018).

classe	Limites intervalos	Potencial ecotoxicológico
Excelente	Para concentrações de cobre iguais ou inferiores ao Valor de Referência Regional (VRR) (Nascimento, 2003)	Região com mínimo potencial ecotoxicológico, apresentando concentrações basais do respectivo elemento.
Bom	Para concentrações de cobre entre o VRR e o ISQG (<i>Interim Sediment Quality Guidelines</i>) (CCME, 2003)	Região com possível contaminação antropogênica, mas com pequena ou improvável ecotoxicidade.
Mediocre	Para concentrações de cobre entre ISQG e PEL (<i>Probable Effect Level</i>) (CCME, 2003)	Região com provável contaminação antropogênica, e ecotoxicidade incerta.
Ruim	Para concentrações de cobre entre PEL e 10 vezes o valor de PEL;	Região com alto potencial ecotoxicológico, e alta probabilidade de haver ecotoxicidade
Péssimo	Para concentrações de cobre iguais ou superiores a 10 vezes o valor de PEL	Região com máximo efeito ecotoxicológico.

Tabela 2: Limites de detecção (LD) e os limites de Quantificação (LQ) de cada metal analisado.

Metal	LD (mg/L)	LQ (mg/L)
Al	0,035	0,104
Cr	0,070	0,209
Fe	0,061	0,182
Mn	0,085	0,256
Ni	0,035	0,104
Pb	0,061	0,184
Zn	0,010	0,029

Tabela 3: Análise exploratória das concentrações metálicas (g/Kg) obtidas das amostras do sedimento do Reservatório Guarapiranga.

Metais	Média	Devio Padrão	Máximo	Mínimo
Al	45,492	30,426	105,731	11,254
Cr	0,046	0,009	0,086	0,000
Fe	68,100	31,115	250,379	0,000
Mn	0,597	0,421	1,587	0,000
Ni	0,038	0,015	0,066	0,006
Pb	0,069	0,013	0,146	0,022
Zn	0,123	0,039	0,249	0,005

Resultados da krigagem: análise quantitativa dos parâmetros

Com base na análise dos semivariogramas (Figs. 2 a 8), os elementos Al, Cr, Cu, Fe, Pb e Zn foram aqueles de melhor representação espacial. Já os elementos Mn e Ni se apresentaram com uma variação contínua ao longo da paisagem, sem apresentar o mesmo nível de dependência espacial (não houve um patamar em seus semivariogramas). Observou-se também grande variabilidade quanto aos gradientes (*ranges*) entre o patamar e o efeito pepita dos semivariogramas analisados. Tal fenômeno indica que cada uma dessas substâncias apresenta uma característica específica de dispersão e/ou contaminação neste ambiente (YAMAMOTO; LANDIM, 2013).

Como se pode observar a partir dos Varmaps de cada metal, com exceção do elemento Al, houve forte tendência do eixo de menor variabilidade espacial residir próximo dos 110° (azimute). Isso resultou em regiões de maior continuidade espacial (quando os pontos amostrais de sedimento estavam orientados perpendicularmente ao eixo de escoamento d'água predominante), e regiões de menor continuidade espacial (quando esses pontos estavam paralelos a esse escoamento). Tal comportamento corrobora com o eixo principal de escoamento do reservatório Guarapiranga (CARDOSO-SILVA, 2016), comprovando a importância da hidrodinâmica sobre a distribuição dos contaminantes ao longo do leito desse reservatório.

A partir dos Varmaps é possível observar que houve anisotropia na distribuição espacial dos metais analisados. A similaridade entre os diferentes parâmetros de interpolação metálicos, indicando que o principal agente dispersor dos metais é externo ao sistema, não restringindo-se às características

intrínsecas de cada elemento metálico estudado (ex: estado de valência, taxa de precipitação, taxa de assimilação bioquímica, bioacumulação, ressuspensão, taxas de dissolução, etc). Estudos futuros poderão avaliar se os fenômenos regedores da distribuição exclusiva do elemento ferro ao longo de toda SPSS são aqueles responsáveis pela distribuição dos outros elementos metálicos no sedimento do reservatório.

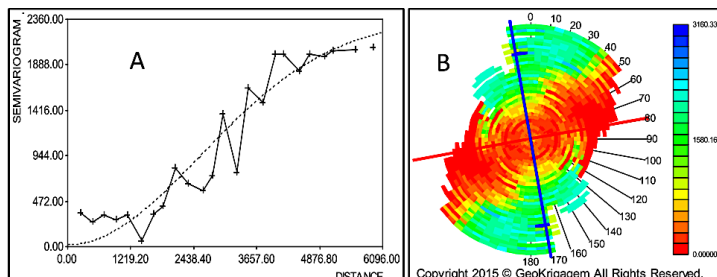


Figura 2: Análise da distribuição espacial do Alumínio (Al). (A) semivariograma do Al; (B) Varmap do Al.

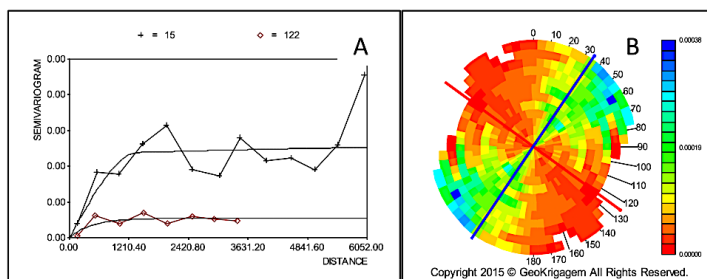


Figura 3: Análise da distribuição espacial do Alumínio (Cr). (A) semivariograma do Cr; (B) Varmap do Cr.

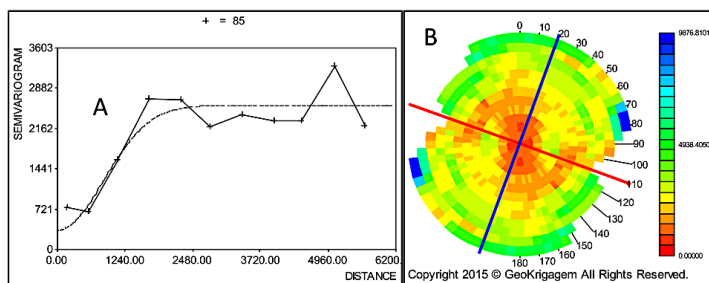


Figura 4: Análise da distribuição espacial do Alumínio (Fe). (A) semivariograma do Fe; (B) Varmap do Fe.

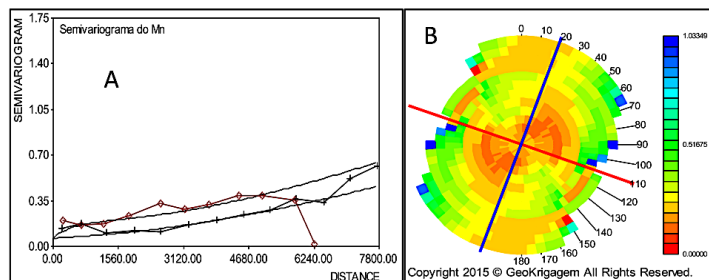


Figura 5: Análise da distribuição espacial do Alumínio (Mn). (A) semivariograma do Mn; (B) Varmap do Mn.

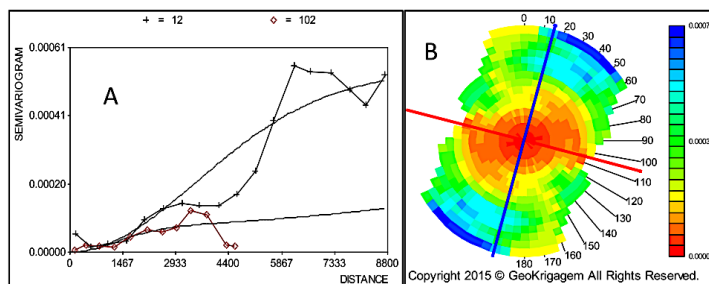


Figura 6: Análise da distribuição espacial do Alumínio (Ni). (A) semivariograma do Ni; (B) Varmap do Ni.

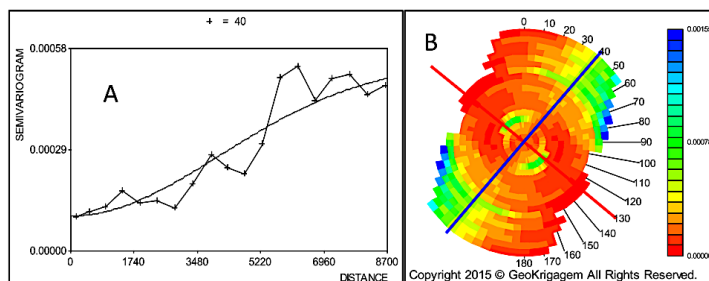


Figura 7: Análise da distribuição espacial do Alumínio (Pb). (A) semivariograma do Pb; (B) Varmap do Pb.

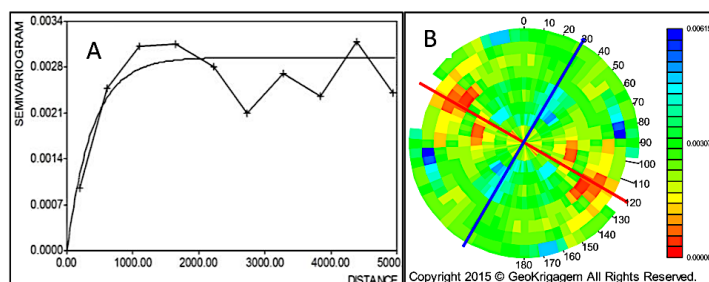


Figura 8: Análise da distribuição espacial do Alumínio (Zn). (A) semivariograma do Zn; (B) Varmap do Zn.

Mapas quantitativos dos parâmetros metálicos obtidos pela krigagem

Com base nos diferentes mapas de concentração apresentados na Fig. 9, ficam evidentes os comportamentos das plumas de contaminação dos metais analisados ao longo do sedimento do reservatório Guarapiranga. Em virtude do comportamento hídrico do reservatório, esperaria-se que os metais seguissem mesmo eixo de dispersão que o fluxo hídrico. Contudo, apenas o Al, Ni e Pb tiveram um maior acúmulo próximo à jusante do reservatório. Os demais metais analisados demonstraram distribuições específicas.

Após a geração dos mapas de concentração dos diferentes metais analisados, uma análise de agrupamento através do algoritmo K-means foi aplicada sobre esses mapas. Adotou-se K=5 a fim de manter o mesmo número de classes aplicados nos mapas qualitativos deste trabalho. O algoritmo de agrupamento K-means buscou analisar eventuais grupos (clusters) de contaminação ao longo do sedimento do reservatório. A análise detectou segmentos ao longo do sedimento do reservatório espacialmente contíguos e contínuos (classes 3 e 5) (Fig. 10).

Mapas qualitativos dos parâmetros metálicos

Na Fig. 11, estão apresentados os mapas qualitativos para os metais do sedimento do reservatório

Guarapiranga, conforme critérios apresentados na Tab. 1. A discussão dos resultados aqui encontrados foi organizada por elemento/contaminante. Ainda, uma vez que os metais Al, Fe e Mn não apresentam concentrações ISQG e PEL estabelecidos pela DQA, esses não foram considerados nesta análise.

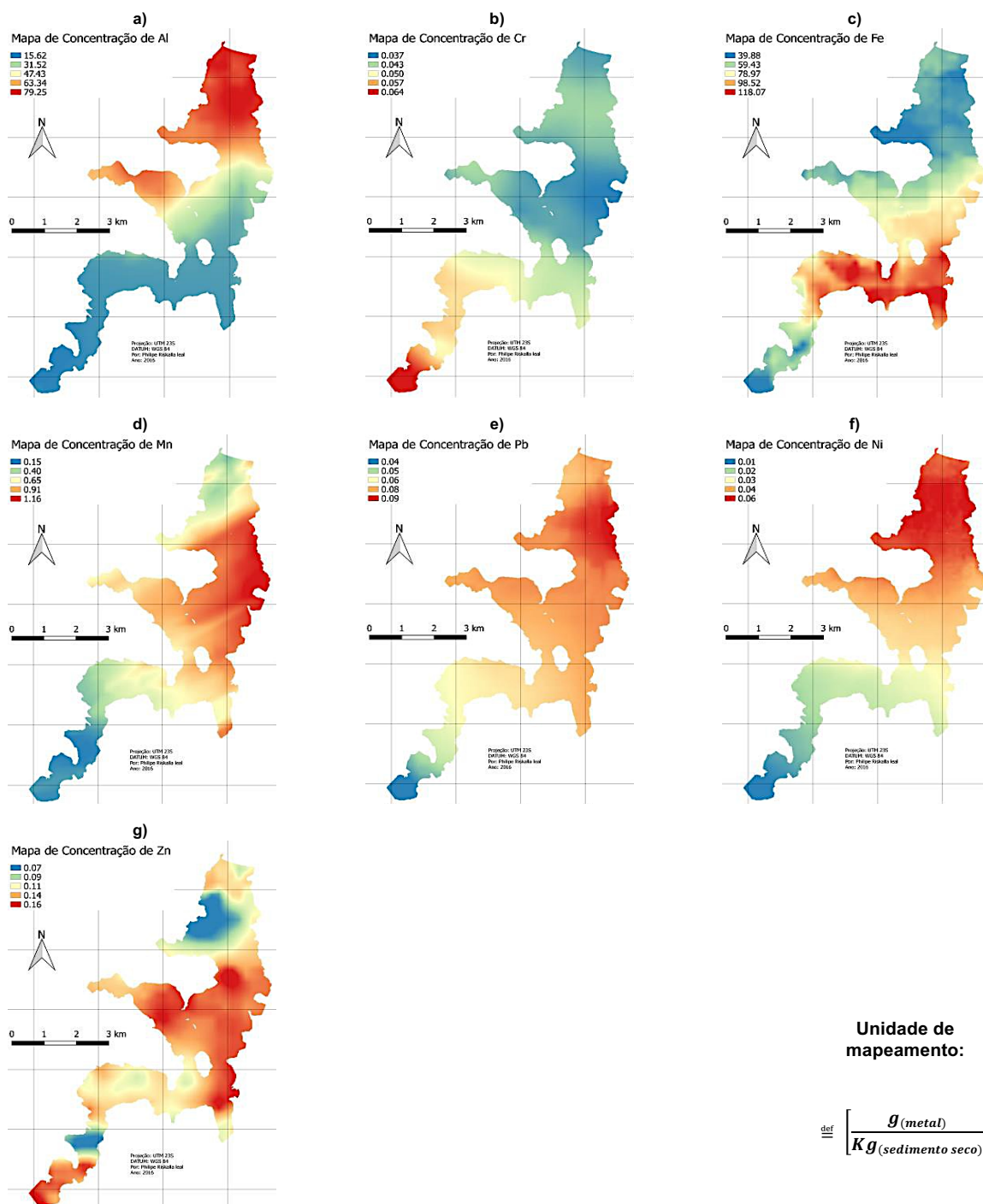


Figura 9: Distribuição dos metais ao longo da superfície do sedimento do reservatório Guarapiranga. Metais analisados: Alumínio (Al); Cromo (Cr); Ferro (Fe); Manganês (Mn); Níquel (Ni); chumbo (Pb); Zinco (Zn).

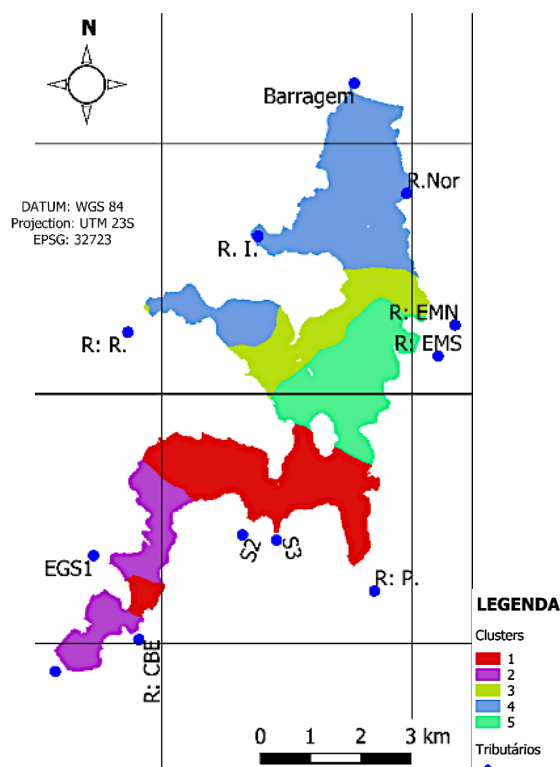


Figura 10: Resultado da análise de agregação por K-means sobre os metais no sedimento do reservatório Guarapiranga, para K=5.

O sedimento do reservatório foi dividido em duas classes de qualidade para o elemento Cr (Fig. 11a): “muito bom” e “bom”. Maiores teores de Cr foram detectados próximos à rodovia Imigrantes, que cruza o braço do Embu-Guaçu. Este padrão reforça a hipótese de que este metal pode ter origem do desgaste de peças dos automóveis e demais veículos que trafegam a via (BOURCIER; HINDIN, 1978; BAI *et al.*, 2011). Já as classes de qualidade do sedimento para o Ni variaram entre “bom”, quando próximo do delta do Rio Embu Guaçu, e “ruim”, quando próximo da barragem do reservatório, representando um padrão cumulativo de deterioração ecotoxicológica no eixo montante-jusante do reservatório.

A qualidade do sedimento do Reservatório Guarapiranga apresentou variabilidade espacial para o Pb (Fig. 11c). Sua distribuição espacial indicou que a região central da barragem (a nordeste) foi aquela com os maiores teores de Pb, variando entre ISQG e PEL. Ambos padrões (espacial e ecotoxicológico) também foram observados por Zagatto e Aragão (1995); curiosamente, Bai *et al.* (2011), ao estudarem o comportamento espacial do Pb no lago Yilong da China, observaram que o Pb se concentrou principalmente na entrada do afluente do lago, o qual é o principal efluente com aporte de mineração de carvão, chumbo e cimento da região. Isso nos leva a uma nova hipótese a respeito da distribuição do chumbo no sedimento, na qual se presume que este elemento apresenta baixa distribuição espacial e forte potencial de fixação e alta taxa de sedimentação, de forma que se concentra próximo à sua fonte contaminadora (a nordeste do reservatório). Já dos resultados levantados por Zagatto e Aragão (1995) e Bai *et al.* (2011), concluíram que o Pb é estável no sedimento, sem apresentar grandes variações ao longo desse compartimento sob a SPSS, e, portanto, também pode ser utilizado como um marcador de contaminação ambiental de recursos hídricos, tal como o Cu.

As concentrações de Zn variaram significativamente ao longo da SPSS (Fig. 11d). Suas menores concentrações se encontraram próximas do afluente Rio Embu Guaçu 1 e da barragem; enquanto que suas maiores concentrações foram registradas próximas à parte central do reservatório e próxima ao afluente Embu-Guaçu (Fig. 11d). Especificamente no caso de contribuição de Zn, este trabalho observou forte indícios de contaminação por parte dos afluentes “Rio Embu-Guaçu”, “Rio Sul Embu-Mirim”, “Rio Norte

Embu-Mirim” e “Rio Parelheiros”. Pompêo *et al.* (2013) observaram que a região de maior concentração de Zn no reservatório se encontrava próximo ao afluente Itupu e o ponto de maior concentração se localizava no delta do rio Embu-Guaçu – ambos contrários ao observado por esta pesquisa.

Pompêo *et al.* (2013), ao estudar o Zn no sedimento do reservatório Guarapiranga, observaram que esse elemento se correlacionou bem (>70%, teste de Spearman) com os sulfetos volatilizáveis por acidificação (também amostrados do sedimento), indicando forte afinidade do metal com os sulfetos, e, conseqüentemente, baixa ecotoxicidade potencial. Dados em acordo com Zagatto; Aragão (1995), os quais também observaram que o sedimento do reservatório apresentou uma capacidade de retenção/fixação metálica, reduzindo a ecotoxicidade efetiva da região. Dessa forma, embora haja regiões da SPSS com classificação “Mediocre” para o Zn, estima-se que esta porção do sedimento apresente baixo efeito ecotoxicológico (efetivo), em função de sua afinidade com sedimento e com os sulfetos ali presentes.

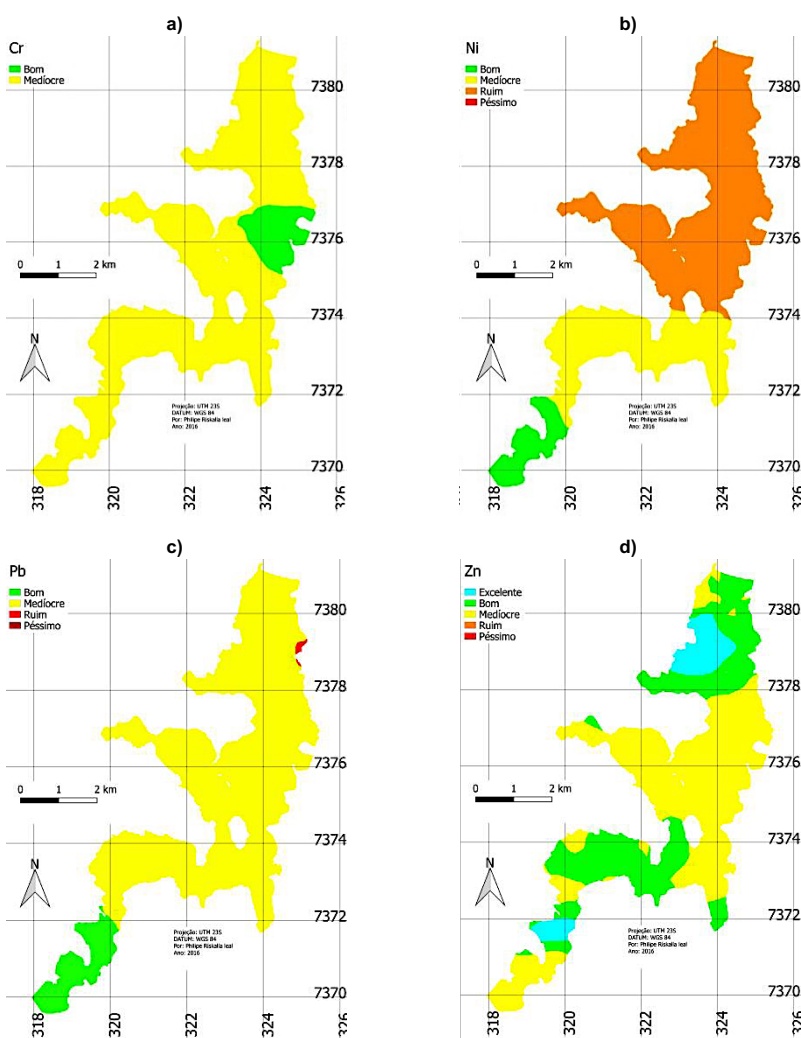


Figura 11: Mapa Qualitativo da SPSS para os elementos Cr (a), Ni (b), Pb (c) e Zn (d).

CONCLUSÃO

O presente trabalho avaliou a distribuição dos principais metais presentes nas camadas superficiais do sedimento do reservatório Guarapiranga. Cada metal teve sua distribuição espacial e ecotoxicologia avaliada. O esforço amostral se mostrou de forma geral suficiente para capturar os padrões espaciais dos

metais estudados. Houve heterogeneidade espacial entre as plumas de contaminação metálica dos metais analisados. Algumas plumas apresentam irregularidades e descontinuidades ao longo do sedimento, sugerindo a existência de diferentes fontes de contaminação.

Observou-se incompatibilidade nos VRR do Nascimento (2003) referente aos elementos Al, Mn e Fe para o sedimento do reservatório Guarapiranga, uma vez que as menores concentrações encontradas desses elementos se mostraram mais baixas do que aquelas propostas pelo autor referentes ao Alto do Tietê, indicando que os VRR para a bacia do reservatório Guarapiranga, provavelmente, são menores do que os valores sugeridos por Nascimento. Assim, pontua-se a importância de uma atualização dos valores de referência metálica para o reservatório Guarapiranga.

A técnica de interpolação do tipo krigagem foi validada e verificada como um eficiente método de interpolação para o ambiente e variáveis estudadas. Evidência que reforça o uso da técnica em novos estudos envolvendo ecotoxicológicos, em especial aplicados sobre reservatórios urbanos.

Os metais avaliados apresentaram diferenças específicas na distribuição espacial ao longo do reservatório. Isso ressaltou que as fontes contaminantes e forças dispersivas dos contaminantes ao longo do sedimento são específicas para cada metal/composto, o que implica em uma maior complexidade em quesito de planos de manejo e recuperação ambiental para o ambiente estudado.

Através da análise dos diferentes padrões anisotrópicos encontrados no reservatório Guarapiranga, pôde-se observar que os metais se comportaram semelhantemente, indicando que o agente predominante de dispersão dos metais é independente ou ao menos fracamente relacionado, às características físicoquímicas de cada contaminante. Recomenda-se que estudos futuros analisem esse padrão homogêneo das diferentes anisotropias de cada metal analisado. Através dessa informação, novos planos de manejo e recuperação ambiental poderão otimizar esforços, a fim de recuperar o ambiente em questão.

A partir de valores de qualidade guia como os VRR e os ecotoxicológicos, foi possível delimitar e separar o reservatório em diferentes compartimentos em função da presença e concentração dos parâmetros de sedimento analisado. A delimitação desses subcompartimentos deve seguir SQGs adequados para delimitação e orientação por parte dos gestores ambientais para o manejo ambiental adequado em conformidade com o fenômeno e intensidade do impacto estudados.

REFERÊNCIAS

- BEYRUTH, Z. **Comunidade fitoplanctônica da represa de Guarapiranga: 1991-92: aspectos ecológicos sanitários e subsídios para reabilitação da qualidade ambiental.** 1996. Tese (Doutorado em Saúde Ambiental) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1996.
- BOURCIER, D. R.; Hindin, E. Lead, iron, chromium and zinc in road runoff at pullman, washington. **Environmental Engineering**, v. 12, p. 205-215, 1978.
- CAIRNS, J.; NIEDERLEHNER, B. R. Developing A field of landscape ecotoxicology. **Ecological Applications**, v. 6, n. 3, p. 790-796, 1996.
- CALEFFI, S. Impacto do uso de sulfato de cobre sobre o zooplâncton na represa Guarapiranga. In: ESPÍNDOLA, E. L. G. *et al.* (eds.). **Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI.** São Carlos: Rima, 2000. p. 573.00
- CAMPAGNOLI, F. **A aplicação do assoreamento na definição de geoindicadores ambientais em áreas urbanas: exemplo na Bacia do Alto Tietê, SP.** 2002. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME). **Protocol for the derivation of Canadian sediment quality Guidelines for the protection of aquatic life.** OTTAWA: Environment Canadá, Guidelines Division Technical Secretariat of the CCME Task Group on Water Quality Guidelines, 1999. (EPC-98E).

CARDOSO-SILVA, S. **Heterogeneidade espacial e a qualidade das águas superficiais do reservatório Guarapiranga (São Paulo- SP- Brasil)**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

CARDOSO-SILVA, S. **Metais-traço em sedimentos do reservatório Paiva Castro (Mairiporã- São Paulo)**: histórico por meio da geocronologia do 210 Pb, biodisponibilidade e uma proposta para a gestão dos recursos hídricos. 2013. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

CARVALHO, N. O. **Hidrossedimentologia Prática**. Rio de Janeiro: Interciência, 1994.

CHAPMAN, P. M.; WANG, F.; JANSSEN, C.; PERSOONE, G.; ALLEN, H. E. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 55, n. 10, p. 2221-2243, 1998.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Plano de manejo**: área de proteção ambiental Capivari-Monos. São Paulo: CETESB, 2005.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2008.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). (2009). **Qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2009. 310 p.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo 2001**. São Paulo: CETESB, 2002. 232 p.

COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO (SABESP). **Ata da Sessão Pública 58749/10**: fornecimento de sulfato de cobre para tratamento de água (compra estratégica). São Paulo: SABESP, 2011. p. 9.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução CONAMA nº 396, de 3 de abril de 2008. Diário oficial da União. Brasília, DF, 07 abr. 2008. Seção 1, p. 64-68.

DE CARVALHO, L. R.; SANT'ANNA, C. L.; GEMELGO, M. C. P.; AZEVEDO, M. T. D. P. Cyanobacterial occurrence and detection of microcystin by planar chromatography in surface water of Billings and Guarapiranga Reservoirs, SP, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 1, p. 141-148, 2007.

EIGER, S.; ARANHA, C. H.; GOMES, M. C. A.; PEREZ, L. S. N.; NETO, A. S. B. Modelagem matemática de cargas difusas na Bacia do Guarapiranga, São Paulo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS, 13. 1999, Belo Horizonte. **Anais...Belo Horizonte: ABRH**, 1999.

FERNANDES, P. R. M.; GOMES, R. J.; SANTOS, C. G. **Banco de solos do Estado de Minas Gerais**: análise estatística para determinação de valores de referência de qualidade do Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte: Fundação Estadual do Meio Ambiente, 2015.

FERNANDEZ, R. L.; BONANSEA, M.; MARQUES, M. Monitoring turbid plume behavior from landsat imagery. **Water Resources Management**, v. 28, n. 10, p. 3255-3269, 2014.

FÖRSTNER, U.; WITTMAN, G. T. W. **Metal pollution in the aquatic environment**. 2. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1981.

HÖSS, S.; VON DER OHE, P. C.; BRINKE, M.; GÜDE, H.; HEININGER, P.; TRAUNSPURGER, W. Nematode species at risk: a metric to assess pollution in soft sediments of freshwaters. **Environment International**, v. 37, n. 5, p. 940-949, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). PNAD - pesquisa nacional por amostra de domicílios Brasil e síntese de indicadores 2013. **Produção da Pecuária Municipal**, v. 42, 2015.

KENNEDY, R. H.; TUNDISI, G., STRASKR, V.; Lind, O. T.; HEJZLAR, J. Reservoirs and the limnologist's growing role in sustainable water resource management. **Hydrobiologia**, v. 504, p. 11-2, 2003.

- KIMMEL, B. L. B. L.; LIND, O. T. O. T.; PAULSON, L. J. L. J.. Reservoir primary production. *In*: THORNTON, K. W.; KIMMEL, B. L. PAYNE, F. E. **Reservoir limnology: ecological perspectives**. New York: John Wiley & Sons, 1990.M
- LEAL, P. R.; MOSCHINI-CARLOS, V.; LÓPEZ-DOVAL, J. C.; CINTRA, J. P.; YAMAMOTO, J. K.; BITENCOURT, M. D.; POMPEO, M. Impact of copper sulfate application at an urban Brazilian reservoir: a geostatistical and ecotoxicological approach. **Science of the Total Environment**, v. 618, p. 621-634, 2018.
- MARIANI, C. F.; POMPEO, M. Potentially bioavailable metals in sediment from a tropical polymictic environment-Rio Grande Reservoir, Brazil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 8, n. 5, p. 284-288, 2008.
- MIRANDA, A. F. P.; RODRIGUES, J. M. L.; BARATA, C.; RIVA, C.; NUGEGODA, D.; SOARES, A. M. V. M. The use of *Daphnia magna* immobilization tests and soil microcosms to evaluate the toxicity of dredged sediments. **Journal of Soils and Sediments**, v. 11, n. 2, p. 373-381, 2011.
- MITAS, L.; MITASOVA, H. Spatial interpolation. *In*: LONGLEY, P.; GOODCHILD, M. F.; MAGUIRE, D. J.; RHIND, D. W. (eds.). **Geographical information systems: principles, techniques, management and applications**. Hoboken: Wiley, 1999. p. 481-492.
- MOZETO, A. A.; SILVÉRIO, P. F.; SOARES, A. Estimates of benthic fluxes of nutrients across the sediment-water interface (Guarapiranga Reservoir, Sao Paulo, Brazil). **Science of the Total Environment**, v. 266, n. 1–3, p. 135-142, 2001.
- NASCIMENTO, M. R. L. Proposição de valores de referência para concentração de metais e metalóides em sedimentos límnicos e fluviais da bacia hidrográfica do Rio Tietê, SP. 2003. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.
- NIU, Y.; JIAO, W.; YU, H.; NIU, Y.; PANG, Y.; XU, X.; GUO, X. Spatial evaluation of heavy metals concentrations in the surface sediment of Taihu Lake. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, n. 12, p. 15028-15039, 2015.
- PADIAL, P. R. **Qualidade , heterogeneidade espacial e biodisponibilidade de metais no sedimento de um reservatório tropical urbano eutrofizado (Reservatório Guarapiranga, SP)**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- PEDROSO, J. S. O. Medidas de proteção das águas do Reservatório do Guarapiranga. **DAE**, n. 36, p. 53-56, 1980.
- POMPEO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Reservatórios que abastecem São Paulo: problemas e perspectivas**. São Paulo: Instituto de Biociências, 2020.
- RITTER, K. J.; BAY, S. M.; SMITH, R. W., E., D.; DORSCH, V.; FIELD, L. J. Development of sediment quality guidelines based on benthic macrofauna response. **Sediment Quality Guidelines Based on Benthic Macrofauna Responses**, v. 8, n. 4, p. 91-105, 2012.
- RODRIGUES, L. L. R. **Biodiversidade de cianobactérias e algas das Represas Billings (Braço Taquacetuba) e Guarapiranga, SP, Brasil**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- ROUHANI, S.; MYERS, D. E. Problems in space-time kriging of geohydrological data. **Mathematical Geology**, v. 22, n. 5, p. 611-623, 1990.
- SALIM, A.; LUCHIARI, A. A urbanização e os desafios para a proteção da bacia do Reservatório do Guarapiranga. **Caderno Prudentino de Geografia**, v.1, n. 36, p. 191-202, 2014.
- SCHROPP, S. J. *et al.* Interpretation of metal concentrations in estuarine sediments of Florida using aluminum as a reference element. **Estuaries**, v. 13, n. 3, p. 227-235, 1990.
- SHAFIE, N. A.; ARIS, A. Z.; ZAKARIA, M. P.; HARIS, H.; LIM, W. Y.; ISA, N. M. Application of geoaccumulation index and enrichment factors on the assessment of heavy metal pollution in the sediments. **Journal of Environmental Science and Health. Part A**, v. 48, n. 2, p. 182-190, 2013.
- SILVA, S. C.; NISHIMURA, P. Y.; PADIAL, P. R.; MARIANI, C. F.; MOSCHINI-CARLOS, V. Ecologia e compartimentalização e qualidade da água : o caso da Represa Billings. **Bioikos**, v. 28, n. 1, p. 31-43, 2014.

SOUZA, V. A.; WASSERMAN, J. C. Distribution of heavy metals in sediments of a tropical reservoir in Brazil: sources and fate. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 63, p. 208-216, 2015.

STRASKRABA, M.; TUNDISI, J. G. Aspectos técnicos da construção de reservatórops.. *In*: _____. **Gerenciamento da qualidade da água de represas**: v. 9. 3. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2013. p. 31-40. (Diretrizes para o gerenciamento de lagos).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **EPA method 3050B**: acid digestion of sediments, sludges, and soils. 2. rev. Washington, DC: EPA, 1996.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Guidance for comparing background and chemical concentrations in soil for CERCLA sites**. Washington, DC: EPA, 2002. (EPA 540-R-01-003/OSWER 9285.7-41).

VER HOEF, J. M.; PETERSON, E.; THEOBALD, D. Spatial statistical models that use flow and stream distance. **Environmental and Ecological Statistics**, v. 13, n. 4, p. 449-464, 2006.

VON DER OHE, P. C.; DE DECKERE, E.; PRÜB, A.; MUÑOZ, I.; WOLFRAM, G.; VILLAGRASSA, M.; BRACK, W. Toward an integrated assessment of the ecological and chemical status of European river basins. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 5, n. 1, p. 50-61, 2009.

WHATELY, M.; CUNHA, P. M. **Guarapiranga 2005**: como e por que São Paulo está perdendo este manancial: resultados do diagnóstico socioambiental participativo da Bacia Hidrográfica do Guarapiranga. São Paulo: Instituto Socioambiental, 2006. 50 p.

WHATELY, M.; CUNHA, P. M. (orgs.). **Seminário Guarapiranga 2006**: proposição de ações prioritárias para garantir água de boa qualidade para abastecimento público. São Paulo: Instituto Socioambiental, 2006.

YAMAMOTO, J. K.; LANDIM, P. M. B. **Geoestatística**: conceitos e aplicações. São Paulo: Oficina de Textos, 2015.

CAPÍTULO 10

POLUENTES EMERGENTES: FONTES, TOXICIDADE E DESAFIOS

Monica Lopes-Ferreira¹

Carla Lima¹

Geonildo R. Disner¹

Maria A. P. Falcão¹

Caio Maximino de Oliveira²

Bruna P. D. Costa^{2,3}

León Jesús German-Ponciano⁴

Rodrigo J. Marassi⁵

Lucas G. Queiroz⁶

Amrita K. K. Colognesi Lopes⁷

Luiz E.T. Gomes⁵

Caroline Nebo⁸

Teresa C.B. Paiva⁷

Daniel C. V. R. Silva⁹

1- Unidade Imunorregulação, Laboratório de Toxinologia Aplicada (CeTICs/FAPESP), Instituto Butantan, São Paulo-SP.

2- Instituto de Estudos em Saúde e Biológicas, Laboratório de Neurociências e Comportamento "Frederico Guilherme Graeff", Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Marabá-PA.

3- Programa de Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (BIONORTE), Marabá-PA.

4- Instituto de Neuroetologia, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

5- Departamento de Biotecnologia, Universidade de São Paulo (EEL-USP), Lorena-SP.

6- Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (IB-USP), São Paulo-SP.

7- Departamento de Ciências Básicas e Ambientais, Universidade de São Paulo (EEL-USP), Lorena-SP.

8- Instituto de Estudos do Trópico Úmido, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Xinguara-PA.

9- Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Marabá, Pará, Brasil

RESUMO

A toxicologia é uma ciência muito antiga, já que as plantas e os animais desde os primórdios já apresentavam substâncias tóxicas em suas estruturas e o ser humano necessitava compreender suas ações como medidas de precaução. Com o surgimento da problemática gerada pela degradação exacerbada e poluição ambiental decorrente da revolução industrial do pós-guerra e das transformações científico-tecnológicas, agravadas por fatores como o elevado crescimento populacional e pressão sobre os recursos naturais, houve a necessidade de incorporar os aspectos ecológicos ao estudo dos efeitos tóxicos das substâncias sintetizadas por ações antropogênicas e que invariavelmente afetam o meio ambiente e organismos não-alvo. Assim, surge a ecotoxicologia com suas ferramentas metodológicas de avaliação da qualidade ambiental e crítica sobre a relação predatória com o ambiente natural. A ecotoxicologia é uma ferramenta útil para criar políticas com a implantação de diretrizes e regulamentações mais rígidas para combater a poluição. Recentemente, contaminantes que não eram encontrados frequentemente no ambiente ou que não haviam sido relatados como oferecendo potencial perigo aos organismos vivos passaram a ser relatados em diversos habitats e seu risco passou a ser investigado; essa classe de compostos é chamada de contaminantes emergentes. Assim, este capítulo objetiva contextualizar a ecotoxicologia, explorando as suas metodologias de investigação da saúde ambiental com foco nos ecossistemas aquáticos e principalmente poluentes emergentes.

INTRODUÇÃO

O controle da poluição da água alcançou importância primária para todos os países. A prevenção da poluição na fonte, o princípio da precaução e o licenciamento prévio de descargas de águas residuais pelas autoridades competentes tornaram-se elementos-chave de políticas de sucesso para prevenir, controlar e reduzir a entrada de substâncias perigosas, nutrientes e outros poluentes de águas de fontes pontuais para ecossistemas aquáticos.

As pesquisas com contaminantes emergentes vêm sendo destaque nos últimos anos ao redor do mundo, em vários grupos de pesquisa. Numa simples pesquisa em bases de dados, como *Web of Science* ou *Scopus*, podemos averiguar investigações em distintas áreas, seja das engenharias ou biológicas. De acordo com Montagner; Vidala; Acayababa (2017), tratam-se de centenas de compostos detectados tanto na água, quanto no solo ou no ar, de origem antrópica, presentes em distintos efluentes (efluente sanitário, efluente industrial e oriundos de atividades agrícolas) ou de origem natural (presentes em diversas espécies de plantas). Esses poluentes apresentam diversas estruturas químicas, cujo comportamento no ambiente aquático é diversificado, podendo, além de causar efeitos tóxicos, ser bioacumulado em diversos organismos, entre estes, os seres humanos (SOUZA, 2011; KUSTER *et al.*, 2008).

Os contaminantes emergentes, internacionalmente referidos como *emerging contaminants* - EC ou *contaminants of emerging concern* - CECs (contaminantes de preocupação emergente), englobam um grande grupo de substâncias químicas e poluentes que não são removidos ou eliminados pelos processos tradicionais de tratamento de água. Eles são classificados como emergentes não necessariamente por serem novos, mas sim devido ao nível crescente de preocupação em relação a sua presença estar sendo detectada em quantidade e lugares não registrados anteriormente (UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME, 2019; CHAPMAN, 2006).

Os contaminantes emergentes também podem apresentar baixa toxicidade aguda, mas causam efeitos reprodutivos significativos em níveis de exposição extremamente baixos. Além disso, os efeitos da exposição em organismos aquáticos durante os estágios de vida iniciais podem não ser observados até a fase adulta. Isso porque muitos desses poluentes atuam como desreguladores endócrinos, ou seja, alteram as funções normais dos hormônios (como agonistas ou antagonistas) resultando em uma variedade de efeitos à saúde. Tal gama de contaminantes inclui drogas para o tratamento de doenças humanas e veterinárias (antibióticos, analgésicos, antiinflamatórios, hormônios), produtos de cuidado pessoal (higiene e cosméticos), agrotóxicos, surfactantes, retardantes de chama (PBDEs), plásticos, plastificantes, aditivos de combustíveis, dentre outros (DAUGHTON, 2007; UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME, 2019).

Devido ao seu alto uso, os contaminantes emergentes, cada vez mais são detectados em baixos níveis nas águas superficiais e muitos estudos reforçam o entendimento de que esses compostos têm impacto grave na vida aquática. Algumas dessas substâncias encontram-se no meio ambiente em concentrações muito baixas que variam de ng.mL^{-1} a $\mu\text{g.mL}^{-1}$; mas o constante consumo de águas contaminadas pode causar os efeitos nocivos. Esses contaminantes entram nas estações de tratamento de água para o abastecimento público através do esgoto não-tratado, de despejos inapropriados nos sistemas hídricos (como descarte de medicamentos através de descarga) ou pela infiltração no solo (como, por exemplo, os agrotóxicos e lixos hospitalares) (LIENERT, GUEDEL; ESCHER-BEATE, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2015; XU *et al.*, 2009).

Muitos desses contaminantes emergentes não estão incluídos nos programas de monitoramento dos corpos hídricos, não havendo também uma legislação específica para eles. O enfoque de tais programas visa garantir a qualidade física e química das águas e controle principalmente de microrganismos patogênicos (como *Escherichia coli*), com implicações diretas na saúde humana. Há a necessidade de estudos que apontem o comportamento destes compostos e sua interação com os seres vivos, tais como ecotoxicológicos, potencial de bioacumulação, transporte e destino nos diferentes compartimentos ambientais, quantidade em que são lançados e concentração no ambiente. Essas pesquisas devem buscar conhecer os riscos associados à exposição de tais compostos, visando contribuir na elaboração de legislações específicas, de forma a tentar reduzir seus impactos ao meio ambiente, seja

pela proibição em sua produção, redução, ou até mesmo a otimização da remoção em estações de tratamento (MONTAGNER; VIDALA; ACAYABABA, 2017).

PRODUÇÃO MUNDIAL E IMPACTOS DO DESCARTE DE POLUENTES EMERGENTES

Com o desenvolvimento da sociedade e de tecnologias que visam facilitar o cotidiano da população, novos padrões de consumo são estabelecidos. A criação de novas substâncias sintéticas, por exemplo, está diretamente associada a este desenvolvimento, podendo resultar em problemas ambientais até então desconhecidos. Quando amplamente utilizadas, estas substâncias manufaturadas podem ser introduzidas na natureza causando impactos sobre os ecossistemas, a partir de alterações nas características químicas, físicas e biológicas destes ambientes. Neste contexto, à medida que a sociedade se desenvolve, a ciência ambiental tenta acompanhar estes avanços de modo a compreender como as atividades antrópicas impactam os ecossistemas.

Como um exemplo de poluição relativamente recente, podemos citar a poluição por plásticos. Nas últimas décadas, o uso de materiais plásticos tornou-se cada vez mais comum na indústria, agricultura, medicina e em produtos de uso diário (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). O elevado consumo destes materiais se deve à sua praticidade, durabilidade, baixo custo e resistência (XIA *et al.*, 2020). De acordo com estudos recentes, mais de 320 milhões de toneladas de plásticos são produzidas anualmente em todo o mundo (WRIGHT; KELLY, 2017), sendo que a taxa de produção mundial de plásticos é maior que a maioria dos materiais sintéticos produzidos pela indústria (XIA *et al.*, 2020). Devido à elevada produção, é observado o descarte de uma grande quantidade de plásticos, sobretudo, em locais inadequados. Estima-se que 94% do plástico produzido em todo o mundo é destinado a aterros sanitários ou liberados no ambiente (ALIMI *et al.*, 2018). Para o Brasil, relativo aos microplásticos, a situação é bastante similar ao restante do mundo, com dados escassos e pouco revelam sobre a dimensão desse fenômeno antrópico (RANI-BORGES; MARTINS; POMPEO, 2021a).

A maioria dos plásticos não se degrada facilmente; em vez disso, eles se fragmentam lentamente em partículas menores, conhecidas como microplásticos (MPs) e, provavelmente, nanoplasticos (Fig. 1). Essas partículas, sejam nas formas maiores ou menores, têm profundas consequências prejudiciais para os ecossistemas, a biota e o meio ambiente, mas também para a economia e a saúde humana (RANI-BORGES; MOSCHINI-CARLOS; POMPEO, 2021b). Estes foram encontrados no conteúdo do estômago de vários organismos, incluindo minhocas, pássaros, tartarugas, golfinhos e baleias. Partículas menores podem ser ainda mais penetrantes, visto que podem ser ingeridas por organismos que estão na base de diferentes cadeias alimentares.

Embora os mecanismos exatos de toxicidade dos plásticos ainda sejam pouco compreendidos, os efeitos são potencialmente devidos a (1) estresse induzido pela ingestão, como bloqueio físico, gasto de energia para egestão e falsa saciedade; (2) liberação de produtos químicos, como aditivos de plásticos e; (3) exposição a contaminantes adsorvidos (e posteriormente liberados) aos microplásticos, como poluentes orgânicos persistentes (*persistent organic pollutants* - POPs). Cnidários, anelídeos, ciliados, rotíferos, copépodes, anfípodes, krill, mexilhões, crustáceos, tunicados, pássaros e peixes já foram demonstrados terem ingerido esses polímeros de pequeno tamanho (COSTA, 2017).

Outro poluente de grande relevância do ponto de vista ambiental são os antimicrobianos. Segundo dados da *Food and Drug Administration* (FDA) (UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2020), somente no ano de 2019, nos Estados Unidos, foram comercializadas cerca de 6,2 ton² de ingredientes ativos de drogas antimicrobianas aprovadas para utilização na produção de animais destinados à alimentação humana, como bovinos, suínos e aves. Segundo esse autor, deste valor, 42% é destinado à produção de suínos, seguido pela produção de bovino, com 41% do total comercializado. Se considerarmos ainda aqueles medicamentos não listados nas orientações da FDA, o total comercializado em 2019 foi de 5,2 ton², sendo 62% desse valor destinado ao tratamento de gado bovino e 25% aplicado na produção de frango. Estes antimicrobianos podem ser administrados aos animais por diferentes vias, porém a adição destes medicamentos no alimento e na água correspondem a mais de 90% das aplicações.

Zebrafish como organismo-modelo para estudos de ecotoxicologia

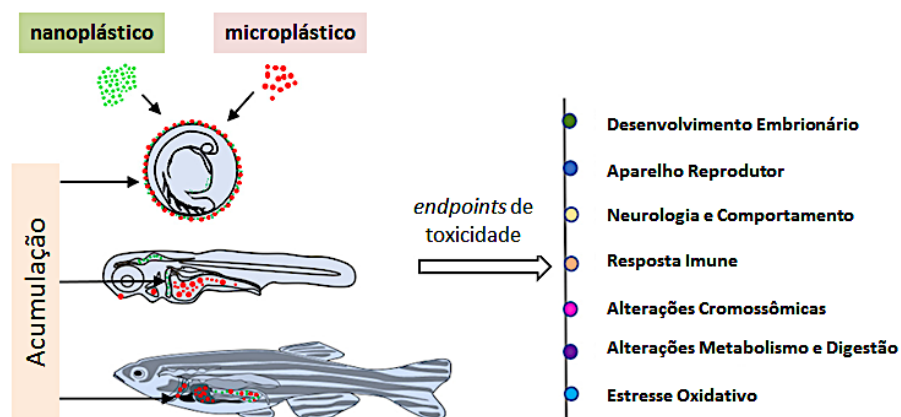


Figura 1: Micro e nanoplasticos têm recebido preocupação global devido à sua contaminação generalizada, ingestão em organismos aquáticos e capacidade de cruzar a barreira biológica. Nossa compreensão de sua bioacumulação, toxicidade e interação com outros poluentes ambientais vêm sendo ampliada pelo uso do zebrafish devido ao seu pequeno tamanho, facilidade de criação, ciclo de vida curto, manutenção barata e a natureza transparente de embriões e larvas (adaptado de BHAGAT *et al.*, 2020).

Um dos principais serviços ecossistêmicos oferecidos pelos corpos hídricos é a capacidade de autodepuração, que pode ser utilizada para a diluição de esgotos. Entretanto, a fragilidade dos serviços de saneamento e das políticas públicas, somadas ao crescimento populacional desordenado contribui significativamente para a degradação dos ecossistemas aquáticos, uma vez que estes não são capazes de promover a depuração completa destes poluentes. O esgoto doméstico é uma matriz bastante complexa formada por uma série de poluentes, dentre eles os hormônios (LIMA; STACHIW; MILITÃO, 2019).

Os hormônios podem ser de origem natural ou sintética. Os naturais são aqueles produzidos e liberados por diferentes glândulas de humanos e outras espécies animais. Dentre os hormônios naturais podemos citar o 17β -estradiol (E2), estriol, estrona (E1) e a testosterona. Por outro lado, os sintéticos são produzidos em laboratório e destinados a fins terapêuticos (GUEDES-ALONSO *et al.*, 2014).

Estima-se que a liberação diária *per capita* de estrogênio por humanos varia de 3,9 a 600 μg para estrona, de 1,6 a 259 μg para 17β -estradiol e de 1 a 6.000 μg para estriol, sendo os valores mais elevados referentes a excreção por mulheres. No caso do 17α -etinilestradiol, a excreção por mulheres que utilizam pílulas contraceptivas é de 35 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$ (JOHNSON; BELFROID; DI CORCIA, 2000). Além disso, animais criados para a alimentação humana como aves, bovinos e suínos também contribuem para a poluição hormonal aquática. Nesses, os níveis de liberação podem variar de 0,1 a 160 $\text{mg}\cdot\text{dia}^{-1}$ (RAMAN *et al.*, 2004).

Um dos principais representantes deste grupo é o 17α -etinilestradiol (EE2), que é usado em formulações de contraceptivos orais e é um dos medicamentos mais consumidos em todo o mundo. Assim, o esgoto doméstico é tido como a principal fonte de contaminação de ambientes aquáticos por estes poluentes (TANG *et al.*, 2021). Mesmo quando tratado, o esgoto ainda constitui uma fonte de hormônios, uma vez que os tratamentos convencionais não são capazes de remover por completo a carga de hormônios presentes nestes resíduos (CHEN *et al.*, 2021).

Além dos hormônios excretados por humanos e animais, existem aqueles compostos que podem atuar como desreguladores endócrinos. O Bisfenol A, conhecido por promover esta desregulação, é um composto sintético amplamente utilizado na indústria em todo o mundo (SILVA *et al.*, 2018). Estima-se em cerca de 3,6 bilhões de quilogramas a produção anual de Bisfenol A em todo o mundo. Devido ao seu grande uso, o Bisfenol A atinge ambientes aquáticos e, com isto, tem causado grande preocupação acerca dos seus efeitos sobre o ecossistema aquático (LIU *et al.*, 2017).

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS CONTAMINANTES

Quando se estuda um poluente ambiental que está presente em uma determinada área, uma etapa importante da investigação consiste em se averiguar as propriedades físicas e químicas desse composto. Elas poderão ajudar a prever qual o comportamento, a mobilidade e quais possíveis interações poderão ocorrer entre o poluente e todo o ecossistema à sua volta.

A fórmula estrutural, grupamentos químicos, solubilidade, pressão de vapor, coeficiente de partição água-octanol, polaridade, persistência e hidrofobicidade são algumas das características físicas e químicas a serem observadas nos poluentes de interesse (GEISSEN *et al.*, 2015).

Algumas dessas propriedades serão mais evidenciadas em função do poluente ou grupos de poluentes e que sempre haverá uma sinergia entre muitas destas propriedades. Somando-se também a complexidade e o dinamismo de matrizes de origem ambiental, o que poderá representar diferenças entre o esperado e a situação real.

São inúmeros os exemplos de como as características físicas e químicas exercem influência no comportamento dos poluentes em geral. A seguir, são descritas algumas delas:

- Alguns fármacos da categoria dos analgésicos (ibuprofeno e diclofenaco, por exemplo) possuem em sua fórmula estrutural a presença de grupos carboxila (COOH) e tem o pK_a (valor de pH onde a forma ionizada e não ionizada da molécula estão em equilíbrio) na faixa de 4,0 – 4,5. Em um corpo d'água, onde pH está na faixa de 7,0, estes grupamentos carboxílicos estão ionizados (COO⁻), o que possibilita interações mais fortes (do tipo iônico ou íon-dipolo) com outras moléculas presentes no corpo d'água - como sedimento do leito e/ou material dissolvido - além do aumento da solubilidade e, conseqüentemente, mobilidade (GEISSEN *et al.*, 2015)
- A pressão de vapor será importante quando o que estiver sendo estudado forem os contaminantes emergentes dispersos na atmosfera. Os chamados compostos orgânicos voláteis (conhecidos pela sigla VOC, *volatile organic compounds*) têm despertado interesse devido serem responsáveis por diversas doenças respiratórias. Como esta propriedade está diretamente relacionada à volatilidade, através dela é possível prever como será a mobilidade do poluente na atmosfera e qual distância, desde o ponto de emissão, ele poderá atingir (ENYOH *et al.*, 2020).
- O plastificante Bisfenol A e seus derivados têm sido investigados por apresentarem potencial na desregulação endócrina – devido a semelhanças na fórmula química estrutural, estes compostos podem imitar os hormônios naturais do corpo humano e desse modo interferir em sua produção natural. Eles têm muitos caminhos para entrarem no meio ambiente, um deles é através das estações de tratamento de esgoto, onde devido a sua hidrofobicidade, eles são capazes de adsorverem no lodo ativado da estação. Estes lodos são muitas vezes utilizados como fertilizantes na agricultura, o que não é o caso do Brasil, o que possibilita que estes compostos se espalhem na natureza (HU *et al.*, 2019; KLEYWEGT *et al.*, 2011; ŠAUER *et al.*, 2021).
- Ainda considerando a hidrofobicidade, um exemplo de como ela pode afetar a mobilidade de poluentes está relacionado com um dos contaminantes emergentes mais significativos dos tempos atuais; os microplásticos. Além de sua alta dispersão, eles também podem ser instrumento de concentração e movimentação de outros poluentes, tais como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e o diclorodifeniltricloroetano (DDT), que se adsorvem na superfície dos microplásticos disponíveis em ambientes aquáticos (ANTUNES *et al.*, 2013; MIZUKAWA *et al.*, 2013; WAGNER; LAMBERT, 2018).
- A estabilidade química, que pode ser relacionada com a persistência do contaminante no ambiente, é importante, por exemplo, no caso do triclosan. No meio ambiente ele pode ser degradado em subprodutos que resultarão na formação de dioxinas e até mesmo em metil-triclosan, que pode ser bioacumulado. Se o triclosan estiver na água potável, o contato com o cloro poderá ocasionar a formação de subprodutos com atividade carcinogênica (ROSENFELD; FENG, 2011).

QUANTIFICAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM CORPOS HÍDRICOS

Os principais MPs encontrados em ambientes de água doce e marinhos são o poliestireno, polipropileno e polietileno. O politereftalato de etileno, por sua vez, tem sido reportado apenas em ecossistemas de água doce (LI *et al.*, 2020). A literatura acerca dos MPs é constituída principalmente por trabalhos que buscaram compreender este tipo de poluição através da quantificação e avaliação da dinâmica destes poluentes nos ambientes marinhos (CASTRO; SILVA; ARAÚJO, 2018; XU *et al.*, 2020).

Estudos que buscam obter dados quantitativos sobre a poluição por MPs têm sido desenvolvidos tanto na água como no sedimento de corpos hídricos contaminados. Os valores podem variar muito entre corpos hídricos ou ainda ao longo de um mesmo compartimento hídrico. A distribuição e abundância de MPs nos corpos hídricos de água doce são altamente afetadas pelas atividades humanas. A proximidade do corpo hídrico com áreas urbanizadas, tamanho da população destas áreas e condições hidrológicas contribuem significativamente para o aumento nas concentrações de MPs (SILVA-CAVALCANTI *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2020). A chuva e as alterações climáticas também têm demonstrado a capacidade de influenciar significativamente a sua concentração (XIA *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020), tornando a avaliação desta contaminação ainda mais complexa e específica para cada local.

A concentração média de partículas de microplástico é mais alta nos fiordes com 7000 partículas kg^{-1} de sedimento seco (DS) seguido por 300 em ambientes estuarinos, 200 em praias, 200 em ambientes costeiros rasos, 50 em plataformas continentais e 80 partículas kg^{-1} DS para ambientes do mar profundo. As fibras são o tipo dominante de microplástico e representam 90% do microplástico nas praias (valor médio) e 49% das partículas em estuários dominados pela maré (HARRIS, 2020).

No Brasil, a literatura acerca da contaminação por MPs ainda é limitada. Rani-Borges; Martins; Pompêo (2021a) realizou um levantamento bibliográfico em bases de dados online para identificar os artigos publicados no Brasil até dezembro de 2020, representando apenas 18 artigos. Bertoldi *et al.* (2020) reportaram as primeiras evidências de contaminação por MPs no Lago Guaíba em Porto Alegre-RS. Todas as amostras analisadas apresentaram fragmentos de MPs e os valores médios variaram de 11,9 a 61,2 fragmentos por m^3 . Os polímeros mais encontrados foram polipropileno e polietileno. Em outro estudo, Gerolin *et al.* (2020) reportaram pela primeira vez a presença de MPs em sedimentos de rios da Bacia Amazônica. As concentrações de MPs, com tamanho variando entre 0,063 a 1 mm, atingiram até 5.725 partículas por quilo de sedimento seco. Estudos como estes demonstram como os MPs estão amplamente distribuídos em ambientes lânticos e lóticos e ressaltam a importância de se investigar este tipo de poluição.

Quanto à presença de antimicrobianos nos ambientes aquáticos, diferentes estudos têm buscado quantificar estes compostos na coluna d'água. Devido à grande utilização, a prevalência e persistência de antimicrobianos em ambientes aquáticos é considerada um sério problema global (LI *et al.*, 2020). Especialmente, quando consideramos que cerca de 70 a 90% dos antibióticos consumidos são excretados em sua forma inalterada ou como metabólitos ativos (MASSÉ; SAADY; GILBERT, 2014). Quanto aos antimicrobianos, a principal rota de entrada em ambientes aquáticos está associada à remoção incompleta destes compostos por estações de tratamento de esgoto (ETE). Por outro lado, drogas antimicrobianas veterinárias podem atingir os corpos hídricos através de mecanismos de escoamento superficial após a aplicação de estrume em áreas agrícolas. Mesmo após a metabolização destes compostos no organismo, vários medicamentos antimicrobianos têm sido encontrados em águas superficiais (GOESSENS *et al.*, 2020).

Duan *et al.* (2020) desenvolveram estudos quantitativos em rios localizados em Beijing, China, a fim de detectar a presença de antimicrobianos. Os antimicrobianos mais representativos dentre aqueles analisados foram o ácido nalidíxico, eritromicina e sulfametoxazol, que apresentaram as concentrações de 135, 64 e 77 ng.L^{-1} , respectivamente. Em outro trabalho, Valdés *et al.* (2021) detectaram 12 antimicrobianos (norfloxacina, ofloxacina, ciprofloxacina, cinoxacina, cefalexina, azitromicina, claritromicina, doxiciclina, clindamicina, sulfatiazol, trimetoprima e metronidazol) em 67% das amostras coletadas em um rio urbano em Córdoba, Argentina. A maior frequência de detecção de antimicrobianos (80%) foi observada na água e no perifíton. O sedimento, por sua vez, apresentou 40% de amostras positivas. As concentrações de antimicrobianos neste estudo variaram entre 0,003 e 0,29 $\mu\text{g.L}^{-1}$. No Brasil, Arsand *et al.* (2020) detectaram

a presença de azitromicina, cefalexina, ciprofloxacina, clindamicina, norfloxacina, sulfadiazina, sulfametoxazol e trimetoprima em amostras de água coletadas no Rio Dilúvio em Porto Alegre-RS; as concentrações destes compostos nas amostras coletadas variaram de 2,5 a 10 ng.L⁻¹.

Diferentes estudos já reportaram a ocorrência de hormônios em águas superficiais. De modo geral, estes poluentes são encontrados em concentrações na ordem de ng.L⁻¹. Zuo; Zhang; Deng (2006) avaliaram a presença dos hormônios E1, E2 e EE2 no estuário do Rio Acushnet, nos Estados Unidos. Os hormônios naturais E1 e E2 apresentaram concentrações de 1,2 e 0,83 ng.L⁻¹, respectivamente. Já o EE2, hormônio sintético, apresentou a maior concentração detectada, 4,7 ng.L⁻¹. Em outro estudo realizado no Rio Hawkesbury localizado na Austrália, os valores de EE2 variaram de 4,1 a 29,0 ng.L⁻¹ (URAIPONG *et al.*, 2017). O EE2 apresenta-se como o mais persistente dos compostos estrogênicos, com um tempo de meia-vida em água de aproximadamente 17 dias e uma baixa taxa de fotodegradação (CUNHA *et al.*, 2016).

Como representante de desregulador endócrino, o Bisfenol A também tem sido detectado em corpos hídricos em todo o mundo. Em seu estudo, Liu *et al.* (2017) demonstraram que a poluição por Bisfenol A na água do lago Taihu se agravou consideravelmente entre os anos 2013, cujo maior valor detectado foi 87 ng.L⁻¹, e 2016, com valor máximo de $9,5 \times 10^2$ ng.L⁻¹. A contaminação por Bisfenol A já foi observada em rios brasileiros; Sposito *et al.* (2018) detectaram concentrações que variaram de 15,3 a 29,5 ng.L⁻¹ em dois importantes rios do Mato Grosso do Sul, Rio Brilhante e Rio Dourados. Em outro estudo, Ramos *et al.* (2021) avaliaram a água coletada de um rio utilizado para o abastecimento de cidades do estado de Minas Gerais e a água após tratamento. Os pesquisadores detectaram a concentração média 0,53 µg.L⁻¹ na água do rio e 1,88 µg.L⁻¹ na água tratada. Este aumento, segundo os autores, pode estar associado a fatores associados ao processo de tratamento, uma vez que em algumas etapas da estação pode ocorrer o acúmulo deste composto.

A cafeína é outro poluente emergente altamente relacionado a fontes de contaminação humana. Está presente no café, chás, chocolate e em alguns medicamentos como os analgésicos. A cafeína é transformada, pelo fígado, em mais de 20 metabólitos, sendo o principal as dimetilxantinas (teobromina, teofilina e paraxantina). Considerando uma média diária de consumo de 300 mg por pessoa para o cálculo da excreção, a taxa que atinge os efluentes é de 16 mg por dia por pessoa (BUERGE *et al.*, 2003). A cafeína, já foi proposta como marcador antropogênico para contaminação de águas residuais e águas superficiais, principalmente por sua natureza estar intimamente ligada ao comportamento humano. Apesar da importância do monitoramento, até o momento não existe iniciativa no Brasil para a inclusão da cafeína no programa nacional de monitoramento.

O risco da contaminação aquática pela cafeína se dá por ser uma substância hidro e lipofílica, podendo se distribuir em todo o corpo e atravessar as membranas biológicas (PETRUCCI *et al.*, 2018). Sousa *et al.* (2014) detectaram no rio de Jundiá, em São Paulo, uma concentração de cafeína de 19,3 µg.L⁻¹ e estudos mostram que exposição a longo prazo a níveis residuais de cafeína pode acarretar a morte de alguns organismos aquáticos sensíveis.

Uma substância pouco usual no âmbito da toxicologia ambiental, mas que vem despertando a atenção dos especialistas é a cocaína. De acordo com o relatório mundial sobre drogas, a América do Sul é responsável pela maior parte da produção de cocaína do mundo, fortalecendo o mercado de drogas ilícitas de 269 milhões de pessoas. Após o consumo, a cocaína é metabolizada pelo fígado e 45% do seu metabólito (benzoilecgonina) é excretado pela urina e apenas 5% é excretado de forma inalterada. A alta quantidade de esgoto submarino é uma considerável fonte de poluição das águas dos mares (SUBTIL; MIERZWA; ORTIZ, 2012). Nos rios e lagos da Europa, a quantidade de cocaína encontrada variou de 0,5-44 ng.L⁻¹ (PAL *et al.*, 2013). Na baía de Santos, litoral do estado de São Paulo, essa concentração variou de 12,18 a 203,6 ng.L⁻¹ (FONTES *et al.*, 2019). Já no reservatório Guarapiranga, em São Paulo, López-Doval *et al.* (2017) encontrou na água bruta valores de cocaína e de benzoilecgonina de 3 a 12 ng.L⁻¹ e de 3,2 a 178 ng.L⁻¹, respectivamente.

Um programa de monitoramento em longo prazo se faz necessário para uma compreensão mais abrangente da fonte e destino ambiental da cocaína e seus metabólitos, a fim de prever e prevenir a

ocorrência de efeitos tóxicos para a biota aquática, tanto isoladamente como em sinergia com outros contaminantes.

ECOTOXICOLOGIA: A TOXICOLOGIA EM UMA PERSPECTIVA ECOLÓGICA

A ecotoxicologia é uma ciência que foi definida pela primeira vez por Jean-Michel Jouany em 1971 sucintamente como “o estudo dos distúrbios nas relações entre os organismos e seu ambiente”. Com o tempo, os conceitos evoluíram e inúmeras definições foram adicionadas. Atualmente é uma ciência integrativa e multidisciplinar que considera fatores físicos, químicos e biológicos. Por esta razão, está direcionada ao estudo do destino e efeitos das substâncias tóxicas naturais e artificiais nos ecossistemas, sendo sua característica essencial o enfoque nos níveis hierárquicos de organização biológica (do nível molecular, celular, sistemas, organismos, populações, comunidades e assim por diante até à biosfera); e as características espaço-temporais associadas como as vias de transferência, a dispersão de contaminantes e interações com dinâmicas ambientais (FÉRARD, 2013; CHAPMAN, 2006, HOFFMAN *et al.*, 2002). Nesse sentido, a ecotoxicologia compreende essencialmente a articulação de duas disciplinas complexas: a ecologia e a toxicologia (Fig. 2) (ZHOU *et al.*, 2018).

Os principais objetivos da ecotoxicologia são determinar os níveis de contaminantes no ambiente e seus destinos; estimar o grau de periculosidade dos contaminantes e seus metabólitos para os organismos vivos; indicar níveis máximos permitidos de contaminantes como parâmetro legal de regulamentação de qualidade de água, de efluentes e de sedimento; diagnosticar e prognosticar o efeito dos poluentes no ambiente e avaliar os riscos ecológicos da emissão de efluentes sobre indivíduos, populações e comunidades, sendo que tal sequência de eventos pode ser referida como cadeia de causalidade (COSTA *et al.*, 2008).



Figura 2: A ecotoxicologia representa a convergência de duas grandes ciências; trata da ecologia na presença de contaminantes e os efeitos desses compostos aos diversos níveis de organização biológica e suas inter-relações.

O desenvolvimento da ecotoxicologia surgiu da necessidade de entender e tomar decisões sobre os poluentes ambientais, uma vez que notadamente entre a Segunda Guerra Mundial e a década de 70 ocorreram diversos eventos de poluição no planeta de elevada magnitude (ZHOU *et al.*, 2018). Além disso, decorrente do concomitante acelerado progresso industrial, uma imensa gama de substâncias químicas foi produzida de forma intencional ou como subproduto de atividades produtivas. Algumas dessas substâncias são essencialmente artificiais, outras, apesar de também terem ocorrência natural, tiveram sua concentração aumentada no meio ambiente (MARIANI, 2021).

Outros compostos como pesticidas e drogas farmacêuticas não existiam na natureza, mas foram sintetizados. A esses compostos químicos alheios aos ambientes naturais é dado o nome de xenobiótico. Assim, xenobióticos são compostos químicos estranhos a um organismo ou sistemas biológicos geralmente derivados de manufatura ou de processos abióticos; o termo é também aplicado a substâncias presentes no ambiente em concentrações muito mais elevadas que o nível regular (CONNELL, 2018).

Sem dúvida, um momento marcante para a ecotoxicologia foi em 1962 através da publicação do livro *Primavera Silenciosa* (*Silent Spring*), por Rachel Carson, documentando os efeitos ambientais adversos causados pelo uso indiscriminado de pesticidas e que catalisou o foco para as questões ambientais e os efeitos negativos em organismos não-alvo. No livro descreve-se que a vocalização das aves diminuiu de tal forma que a estação da primavera se tornou nitidamente mais silenciosa (Fig. 3). Esse movimento levou não só a um desdobramento da toxicologia clássica a novas vertentes, mas também estimulou uma reversão na política nacional de pesticidas dos Estados Unidos, e conseqüentemente a proibição do DDT para uso agrícola e inspirou um discurso ambiental que levou à criação da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (*United States Environmental Protection Agency*).

Dentre todos os compartimentos ambientais, os ecossistemas aquáticos constituem os principais receptores de contaminantes domésticos, comercial, industrial e agrícola, pois as substâncias químicas ou misturas de drogas utilizadas para tratamento de doenças humanas e veterinárias são lançadas diretamente nos corpos d'água ou no sistema de esgoto por meio das descargas industriais ou pela disposição de efluentes de tratamento de águas residuais ou indiretamente através do escoamento superficial dos solos, pelo carreamento por meio da chuva ou correntes de ar até os corpos hídricos.



Figura 3: Em “Primavera Silenciosa”, Carson denunciou a indústria química de espalhar desinformação e os funcionários públicos de aceitar a propaganda da indústria sem questionar. Acima, retrato de Rachel Carson (*CBS Photo Archive*) e capa da versão original do seu livro (Editora Houghton Mifflin, 1ª ed. 1962), incluído em muitas listas dos melhores livros de não-ficção do século XX. Abaixo, campanhas publicitárias promovendo o uso indiscriminado e inconsciente do DDT entre as décadas de 40 e 50 com os dizeres: “DDT é bom para mim” (*Time Magazine*, 1947) e “DDT para o controle de pragas domésticas” (*Bureau of Entomology and Plant Quarantine, US Federal Government*).

A concentração, transporte, transformação e disposição final de um contaminante introduzido no ambiente aquático depende principalmente das características do ambiente e das propriedades do contaminante (COSTA *et al.*, 2008), conforme ilustrado na Fig. 4.

Os resultados isolados das análises químicas da água não exibem o verdadeiro impacto ambiental causado pelos poluentes porque não demonstram os efeitos sobre o ecossistema. Apenas os sistemas biológicos (ou partes deles) podem revelar os efeitos tóxicos das substâncias químicas. Assim se torna necessária a utilização de testes de toxicidade em seres vivos pertencentes ao ambiente aquático e sua relevância aumenta à medida que cresce a complexidade das transformações químicas no ambiente (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2018). Os seres aquáticos, justamente por estarem totalmente imersos na água e dependerem dela para respiração, alimentação, deslocamento, reprodução,

dentre outros hábitos relacionados, são os mais afetados; inclusive por diferentes vias de exposição, tornando-os assim os mais susceptíveis aos efeitos deletérios dos xenobióticos.

Por conseguinte, os organismos aquáticos são os melhores bioindicadores, ou seja, seres cuja presença, abundância e respostas fisiológicas podem fornecer as evidências mais assertivas sobre uma determinada condição ambiental e os riscos que os contaminantes podem suscitar; inferências que na sequência também podem ser extrapolados para outras formas de vida, como os animais terrestres, especialmente os seres humanos, ou semi-aquáticos, como os anfíbios.

Nesse contexto, os biomarcadores se tornaram uma abordagem cada vez mais útil para identificar o impacto da deterioração da qualidade da água. Um biomarcador é uma variação na estrutura celular ou em um processo bioquímico ou função que é induzida por um poluente e que pode ser medido, por exemplo, por alterações na atividade das enzimas no organismo-teste. Idealmente, um bioindicador deve responder a um poluente com uma mudança quantitativa de dose-resposta que é sensível às concentrações encontradas no ambiente e que é específico para uma determinada classe ou classes de poluentes, fornecendo um sinal de um problema potencial e como um indicador preditivo de efeitos adversos de longo prazo (BUSS; BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003).

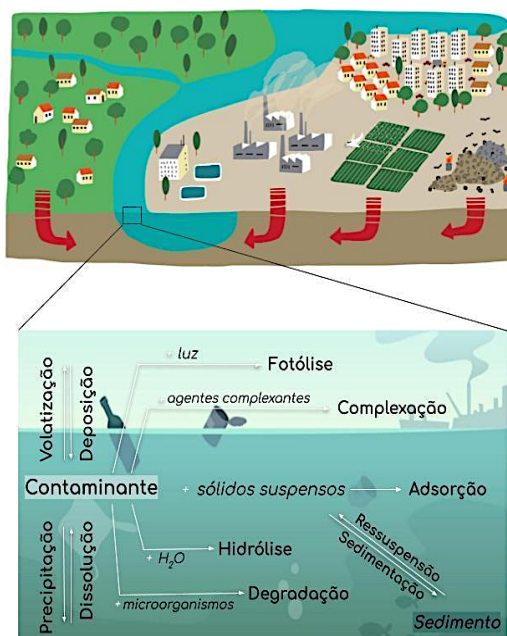


Figura 4: Representação dos ecossistemas aquáticos como receptores finais dos contaminantes oriundos de diversas fontes; em detalhe alguns processos de movimentação e transformação que afetam a forma e destino do xenobiótico no ambiente aquático (adaptado de COSTA *et al.*, 2008; KATAGI, 2006). Imagens: Plataforma Zebrafish e VectorStock.

De acordo com Johnson; Wiederholm; Rosenberg (1993), um indicador biológico ideal deve ser taxonomicamente bem definido e de fácil identificação; apresentar ampla distribuição geográfica; ser abundante ou de fácil coleta; ter baixa variabilidade genética e ecológica; preferencialmente possuir tamanho grande; apresentar baixa mobilidade e longo ciclo de vida; e ter possibilidade de uso em estudos laboratoriais. Por outro lado, segundo Livingstone (1993), biomarcadores podem ser fluídos corpóreos, células ou tecidos que indiquem em termos bioquímicos ou moleculares a presença e os efeitos dos contaminantes; também podem ser avaliadas respostas fisiológicas, reprodutivas e comportamentais dos organismos expostos.

Nesse âmbito, os peixes são os principais aliados da ecotoxicologia e biomonitoramento por representarem o grupo com a maior biodiversidade entre os vertebrados do planeta (53%) (NELSON;

GRANDE; WILSON, 2016). Além disso, estão distribuídos em todas as regiões geográficas, ocupam diferentes níveis na cadeia trófica, sofrem bioacumulação, são sensíveis aos agentes químicos em baixas concentrações e respondem como os mamíferos aos agentes tóxicos, uma vez que conservam geneticamente diversas enzimas e sistemas de detoxificação (Fig. 5) (HUSSAIN *et al.*, 2018; LINS *et al.*, 2010).

Nos últimos anos a agricultura tem se intensificado para suprir a demanda de alimentos devido ao crescimento populacional e como consequência, houve o aumento da utilização de produtos químicos em áreas agrícolas. Na região amazônica, a utilização desordenada de agrotóxicos tem causado contaminação tanto do solo como da água, sendo um risco para a biodiversidade dos organismos e manutenção do ecossistema (JARDIM; ANDRADE; QUEIROZ, 2009). Os rejeitos liberados pela extração de minérios nos garimpos também intensificaram a contaminação dos recursos hídricos (BARROS *et al.*, 2011). O problema se agrava quando a concentração máxima de diversas substâncias químicas utilizadas no Brasil ainda não está estabelecida em lei, além da carência de estudos dos efeitos ecotoxicológicos com espécies amazônicas (SOUZA, 2014).

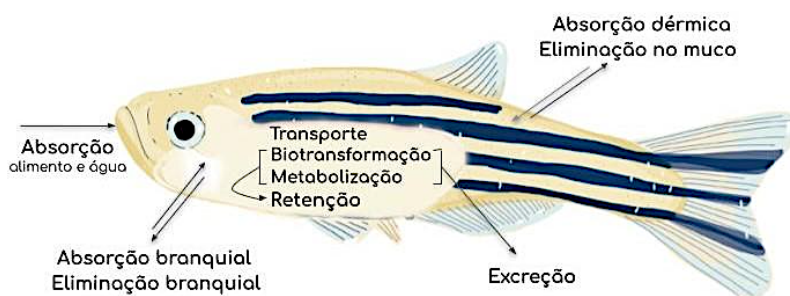


Figura 5: Principais vias de absorção, transformação e eliminação de compostos xenobióticos em peixes. Imagem: Plataforma Zebrafish.

Além dos resíduos químicos gerados pela indústria e agricultura há a utilização de inseticidas nas pisciculturas para o controle de parasitas aquáticos como copépodos, monogenéticos e odonatas que são grandes predadores das larvas de peixes (NOGA, 2010; SENHORINI *et al.*, 1991). Por isso, a avaliação dos efeitos da toxicidade aguda e crônica em peixes pode auxiliar na estimativa do risco ambiental nos corpos hídricos e na regulamentação de estratégias com doses seguras para o controle de predadores na aquicultura.

Em peixes, o estresse agudo é determinado quando a ocorrência da injúria é recente e provisória, causando efeitos momentâneos ou de alguns dias e que podem resultar em morbidade ou mesmo mortalidade neste curto período de tempo (OBA *et al.*, 2009). Geralmente, o efeito agudo ocorre devido à baixa concentração de oxigênio dissolvido na água, mudanças rápidas de temperatura e outros fatores que fazem com que ocorra o aumento dos níveis de lactato plasmático muscular, redução do pH e da concentração de oxigênio sanguíneo (CASTRO; FERNANDES, 2009; SHIELDS; SAZMA; YONELINAS, 2016).

Em sistemas de cultivo, a observação do padrão de coloração dos peixes é um dos melhores parâmetros para avaliação do estresse agudo, que na maioria das vezes é causado pelo manejo ou transporte dos animais (NOGA, 2010).

Os efeitos agudos de ecotoxicidade podem ser letais ou subletais, sendo que o primeiro se utiliza como padrão a dose que causa a morte de 50% dos organismos testados durante determinado tempo. Já as respostas subletais são analisadas com concentrações que possam causar algum efeito deletério nos animais amostrados (DAMATO; BARBIERI, 2011). Embora o efeito da toxicidade aguda de agrotóxicos possa causar mortalidade, em situações de contato com concentrações subletais as sequelas podem ainda ser fatais, pois podem alterar o comportamento dos peixes, a fisiologia reprodutiva, os hábitos alimentares e a interação entre predadores e presas (NWANI *et al.*, 2010).

Silva *et al.* (2017; 2018), através de ensaios em um sistema linear multicompartimentado, produzido com borossilicato, baseado nos estudos de Araújo *et al.* (2014), avaliou o comportamento do peixe *Poecilia reticulata* exposto a doses ambientais e subletais dos compostos emergentes Triclosan e Bisfenol A. Em ambos os experimentos, comprovou-se a fuga dos organismos para habitats com menores concentrações dos compostos. Houve um processo de redução das populações, com migração para ambientes mais favoráveis para a sua sobrevivência. Isso, por si só, é uma poderosa ferramenta complementar aos testes toxicológicos padrões, uma vez que há uma simulação da poluição que realmente ocorre nos corpos hídricos, subsidiando as análises de riscos ambientais da exposição de vertebrados aquáticos aos poluentes emergentes.

Souza (2014) ao avaliar o efeito agudo dos agrotóxicos deltametrina, imidacloprido, glifosato e diuron em cinco espécies de peixes amazônicos (*Carnegiella strigata*, *Corydoras schurtzi*, *Hemigrammus rhodostomus*, *Paracheirodon axelrodi* e *Colossoma macropomum*) em concentrações letais medianas dos agrotóxicos em 50% dos peixes em exposição de 96 horas, os resultados demonstraram que as menores concentrações de deltametrina foram as mais tóxicas para os peixes. Entretanto, mesmo os demais agrotóxicos estando dentro dos níveis aceitáveis, todas as espécies apresentaram alterações físicas e no comportamento, como coloração escura, agitação, natação em círculo e errante e perda do equilíbrio, evidenciando que mesmo em baixas dosagens os reagentes químicos alteram a fisiologia dos peixes.

Testes de toxicidade crônica são realizados para avaliar as consequências dos compostos químicos nas espécies aquáticas por um período que pode durar parcial ou integralmente o ciclo de vida dos organismos (COSTA *et al.*, 2008). O estresse crônico é definido como a dificuldade constante enfrentada por um indivíduo e seus efeitos são tipicamente desenvolvidos após algumas semanas de contato com o agente estressor, podendo resultar em efeitos deletérios e mortalidade, principalmente quando os peixes estão em más condições nutricionais ou inapetentes (NOGA, 2010; SHIELDS; SAZMA; YONELINAS, 2016).

Outro parâmetro analisado é a bioconcentração, que é definida como a concentração do elemento no organismo aquático acima da concentração na água, com resultado da exposição constante ao agente químico (HASHIZUME *et al.*, 2014).

As avaliações de risco tradicionalmente abrangem os poluentes da água, do ar e nos alimentos, porém há poucas informações sobre a exposição crônica dos organismos e do ambiente quando os níveis de contaminantes estão abaixo dos valores padrões aceitáveis, uma vez que geralmente são observados menos sinais clínicos nos indivíduos testados. Assim, alguns índices de avaliação de risco como a meta de quociente de perigo para efeitos não carcinogênicos (THQ = *target hazard quotient*) e o índice de perigo (HI = *hazard index*) são utilizados para interpretar o nível de poluição do ambiente bem como para estimar os limites aceitáveis para efeitos não carcinogênicos crônicos sobre a saúde humana decorrente da exposição de determinada substância química (TAKEUCHI, 2008, SHASAVANI *et al.*, 2017, ZAFARZADEH *et al.*, 2017). A maioria dos trabalhos científicos avaliando o quociente de perigo para efeitos não carcinogênicos apresentam valores abaixo de um (THQ <1), demonstrando improváveis efeitos carcinogênicos nos indivíduos que entraram em contato com substâncias químicas. Entretanto, não se pode ignorar a bioacumulação nos tecidos corporais dos organismos vivos que são, inclusive, consumidos pelos seres humanos.

LEGISLAÇÃO INTERNACIONAL: ESTUDO DE CASO SOBRE O BISFENOL E TRICLOSAN

Uma vez identificadas as substâncias tóxicas e concentrações potencialmente nocivas é necessário limitar por meio de regulamentações a quantidade dessas substâncias no meio ambiente (WERNER; HITZFELD, 2012). Neste sentido, o *Registration, Evaluation, Authorization of Chemical - REACH* (Registro, Avaliação, Autorização de Produtos Químicos) é um regulamento europeu adotado para melhorar a proteção da saúde humana e do meio ambiente, dos riscos que podem ser causados por produtos químicos, além de promover métodos alternativos de avaliação de substâncias, em vez da utilização de animais (TARAZONA; RAMOS-PERALONSO, 2014; EUROPEAN CHEMICAL AGENCY, 2021).

Outros órgãos de proteção ambiental, como *Environment Canada* ou a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos e de padronização, como *American Society for Testing and Materials* (ASTM), *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD), *Association of Analytical Communities* (AOAC) e *International Organization for Standardization* (ISO) têm se concentrado na elaboração e implementação de sistemas de diagnóstico, os quais constituem a base para a geração de estratégias que visam proteger os ecossistemas.

No caso do Brasil, há alguns anos a ecotoxicologia tem sido usada também como parâmetro legal de regulamentação da qualidade da água, de efluentes e de sedimentos. Existem diferentes legislações que regulamentam os efeitos nocivos aos seres vivos e ao meio ambiente. Por exemplo, os padrões de qualidade da água são regulamentados pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Por outro lado, o Decreto Federal nº 6.514/2008 é responsável pela regulamentação dos poluentes atmosféricos, assim como a Política Nacional de Resíduos Sólidos que desenvolve ações que permitem a gestão integral dos resíduos gerados pelas indústrias (GARCIA *et al.*, 2019).

A Resolução do CONAMA nº 344/2004 instituiu testes toxicológicos para casos de disposição de sedimento a ser dragado quando a concentração de algumas substâncias podem oferecer riscos; enquanto que a Resolução CONAMA nº 357/2005, além de estabelecer a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, também regulamenta as condições e padrões de lançamentos de efluentes, proibindo o lançamento em níveis nocivos e instituiu o uso de testes toxicológicos tanto como parâmetro de qualidade das águas como de efluentes. Essa resolução limita uma série de potenciais contaminantes no ambiente e acrescenta, em seu artigo 7º, § 4º, que “as possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados passíveis de causar danos aos seres vivos deverão ser investigados utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos”. Além dessas legislações em nível federal, diversos estados possuem legislações próprias que regulamentam e dão diretrizes para o uso desses testes, como os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Rio de Janeiro, São Paulo, dentre outros (MARIANI, 2021).

Os contaminantes emergentes são poluentes que, apesar de apresentarem efeitos de impacto na saúde humana e ecológica, ainda não foram incluídos nos programas de monitoramento ambientais e, tampouco, foram regulamentados pelos órgãos reguladores (ROCHA, 2014; GHANGREKAR; BHOWMICK; SATHE, 2020). O Brasil ainda não possui uma legislação que determine quantidades seguras desses contaminantes na água; o que pode levar a problemas futuros já que apesar de serem encontrados em pequenas concentrações, se consumidos por anos, podem trazer algum risco à saúde das pessoas e dos ecossistemas.

A falta de diretrizes que incluam os contaminantes emergentes e que regulamente sobre suas concentrações em resíduos e efluentes industriais, agrícolas, domésticos e em produtos de consumo, faz com que estes cada vez mais se apresentem em maiores quantidades no meio ambiente. Para que um contaminante emergente se torne candidato para legislações futuras, são consideradas as pesquisas sobre sua toxicidade, os estudos acerca de seus efeitos sobre a saúde, as percepções do público e seus dados de ocorrência nos diferentes ambientes (ROCHA, 2014). Assim, quando constatada a necessidade de regulamentação, esta se torna uma medida de controle e remediação deste tipo de contaminante, limitando sua ocorrência e seu contato com os seres humanos e o meio ambiente.

Desde 1980, o Bisfenol A têm recebido potencial preocupação de algumas agências americanas e de outros países (UNITED STATES ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY, 2010). Em 2008, o Canadá se tornou o primeiro país a declarar o Bisfenol A uma substância tóxica e a proibir o uso deste na confecção de mamadeiras, estabelecendo limites estritos para o composto em latas e produtos infantis (BERNARDO *et al.*, 2015). Na Dinamarca e na França, a proibição ocorreu um pouco depois, em 2010, com restrição do uso em materiais de contato com alimentos destinados a crianças com até 3 anos, na Dinamarca, e na França, na fabricação, importação, exportação e comercialização de mamadeiras (BESERRA *et al.*, 2012; BERNARDO *et al.*, 2015).

A União Europeia, por sua vez, procurou estabelecer tanto limites para a ingestão tolerável do composto por seres humanos, como limites para a migração do composto presente na embalagem para o alimento (ROCHA, 2014; BERNARDO *et al.*, 2015). A primeira foi definida pela *European Food Safety Authority* – EFSA, como sendo 0,05 mg Bisfenol A/kg de peso corporal (pc)/dia, o que se instituiu como a ingestão diária tolerável (ROCHA, 2014; BERNARDO *et al.*, 2015). Já para a migração específica foi estabelecido o limite máximo de 0,6 mg.Kg⁻¹ de material plástico, pela *EU Commission 2004* (ROCHA, 2014). Em 2011 a Comissão Europeia ainda regulamentou a proibição do Bisfenol A nas embalagens plásticas destinadas a envolver alimentos e banuiu o material da fabricação de mamadeiras (BERNARDO *et al.*, 2015).

Nos Estados Unidos, as regulamentações acerca do Bisfenol A ocorreram de forma regional nos estados de Connecticut, Minnesota, Wisconsin, Washington e Suffolk County e nas cidades de Chicago e Nova York, proibindo a venda de mamadeiras, recipientes para o armazenamento de alimentos e copos produzidos com o componente. Em Connecticut, foi proibida também a sua aplicação em latas de fórmula infantil e de todos os recipientes reutilizáveis de comidas e bebidas. No Condado de Suffolk a proibição passou a vigorar a partir de 2009. Em 2010, a medida passou a vigorar em Chicago, Wisconsin, Minnesota e Washington e, em 2011, em Connecticut (UNITED STATES ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY, 2010). Em 2015, a FDA-U.S. passou a incentivar o desenvolvimento de alternativas ao Bisfenol A para o revestir latas e recipientes de alimentos e a apoiar uma atualização da estruturação da legislação visando criar medidas de monitoramento do composto (UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2010; BERNARDO *et al.*, 2015).

Nos países pertencentes ao Mercosul, o Bisfenol A também é regulamentado, sendo utilizado o limite de migração específico de 0,6 mg.Kg⁻¹ de alimento. Atualmente, no Brasil, esse valor é adotado para a produção dos materiais destinados a ter contato com alimentos humanos (MÜCKE, 2020). A presença de Bisfenol A em utensílios para lactentes foi ainda proibida em 2012 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BESERRA *et al.*, 2012; ROCHA, 2014; BERNARDO *et al.*, 2015; SIMÕES, 2016). Contudo, a legislação brasileira ainda carece do estabelecimento de limites de concentração do composto para recursos hídricos em geral, incluindo as águas destinadas ao consumo humano (SIMÕES, 2016; MÜCKE, 2020), sendo esta medida importante principalmente para as regiões industriais.

Para cumprir os regulamentos de restrição do Bisfenol A, alguns de seus fabricantes passaram a buscar materiais análogos. Alguns dos substitutos escolhidos, tais como Bisfenol S, Bisfenol B, Bisfenol F e Bisfenol AF. No entanto, acabaram também apresentando toxicidade aguda, genotoxicidade e atividade estrogênica (LIAO; KANNAN, 2012a; LIAO; LIU; KANNAN, 2012b), sendo necessária a continuidade na busca de substitutos mais adequados para os seres humanos e para o meio ambiente, bem como o desenvolvimento de estudos para estabelecimento de limites também para estes compostos em utilização.

É importante também que estudos voltados para o potencial de bioacumulação do Bisfenol A sejam desenvolvidos (BERNARDO *et al.*, 2015), tendo em vista a presença do poluente no ambiente aquático e a necessidade de remediação deste para as próximas gerações. É importante que, além das proibições relacionadas à sua produção, também haja legislações que regulamentem a presença do composto em esgotos e águas para o consumo, visando impor normas e mudanças no sistema de tratamento e monitoramento de água (MÜCKE, 2020).

Outro exemplo de poluente emergente que tem passado por investigações e regulamentações em diferentes países é o Triclosan. Este é um composto amplamente utilizado como agente antibacteriano em diversos produtos de higiene, tais como sabonetes, pasta de dente, xampu, cosméticos, desodorantes, sendo também aplicados em produtos industriais e têxteis (TATARAZAKO *et al.*, 2004; TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014). Sua presença no ambiente tem sido detectada em diversos tipos de mananciais: superficiais, residuais, em águas destinadas ao consumo humano, em estações de tratamento de esgoto (ETE) e de água (ETA), em sedimentos, estando presente em diversas regiões do mundo, incluindo o Brasil (TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014; GOMES, 2019; LIMA *et al.*, 2020). Em Curitiba e na cidade de São Paulo, por exemplo, a principal matriz ambiental em que o poluente se apresenta é a água superficial. Isto ocorre analogamente na China e nos Estados Unidos. Já na Suíça, a principal matriz de exposição do triclosan são os sedimentos. No Japão, esta consiste nos efluentes e afluentes das estações de tratamento,

enquanto, na França, a principal matriz são os lodos oriundos das ETEs (GOMES, 2019). Além de mananciais, o triclosan também tem sido detectado em amostras de leite materno, em urina e sangue humano (TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014; LIMA *et al.*, 2020).

A entrada destes compostos no meio ambiente se deve, principalmente, à ineficiência dos tratamentos aplicados em esgotos domésticos, em efluentes industriais e devido à disposição incorreta de lodos em solos. Como nas ETEs a remoção do referido poluente é incompleta, este permanece presente ou no efluente, ou no lodo gerado. Os efluentes contaminados, por sua vez, podem atingir os ecossistemas aquáticos, gerando impacto e desequilíbrio em toda a biota aquática (TATARAZAKO *et al.*, 2004; TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014). O triclosan consiste em um composto altamente tóxico para diversos animais aquáticos, inclusive algas, que são organismos importantes por serem os primeiros produtores do ecossistema (TATARAZAKO *et al.*, 2004), além de também atingir crustáceos, bactérias, rotíferos e peixes (OORVOS *et al.*, 2002; CHALEW; HALDEN, 2009; HIGGINS *et al.*, 2009; HAN *et al.*, 2016; HO *et al.*, 2016).

Outro efeito nocivo do Triclosan é seu potencial de perturbação endócrina, uma vez que, mesmo presente em baixas quantidades, é capaz de causar desordens hormonais no desenvolvimento, metabolismo, comportamento e reprodução dos organismos (COOGAN *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2008; RAUTY; ANGUS, 2010; SCHULTZ; BARTELL; SCHOENFUSS, 2012; TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014).

Quando em excesso, sua presença no meio ambiente também pode ocasionar a sobrevivência e a alta reprodução de bactérias mais resistentes, uma vez que o excesso de antibacterianos e antibióticos no meio ambiente, muitas vezes, provoca a morte apenas das bactérias mais fracas, restando no ambiente apenas as mais resistentes (TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014).

O processo de degradação do Triclosan ainda se apresenta como mais um fator de impacto para o meio ambiente. Durante sua degradação, ele pode sofrer fototransformação, dando origem a substâncias cancerígenas (LATCH *et al.*, 2003; SANCHEZ-PRADO *et al.*, 2006). Além disso, pode acumular-se em sedimentos e perdurar durante um maior período no ambiente (TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014).

Assim, tais fatores levaram a agência reguladora estadunidense a proibir, em 2016, a comercialização de produtos que continham Triclosan, entre outros ingredientes ativos (LIMA *et al.*, 2020). Segundo a agência, uma série de estudos e pesquisas indicaram que o composto não possui garantia de segurança quando exposto ao meio ambiente e aos seres humanos. Desse modo, os fabricantes americanos ficaram comprometidos junto à agência a reformular ou remover os produtos com Triclosan do mercado dentro de um período de um ano. No entanto, esta regra não se aplicou à boa parte dos antissépticos, tendo em vista que a aplicação do Triclosan em cremes dentais, desinfetantes para as mãos e enxaguantes bucais, não foi suspensa pela agência (LIMA *et al.*, 2020).

Em 2017, a União Europeia também passou a proibir a utilização do Triclosan em produtos de higiene (LIMA *et al.*, 2020). No Brasil, apesar da ANVISA basear-se na legislação europeia para o seu controle de substâncias, o país ainda permite a concentração de Triclosan em produtos de higiene pessoal até um limite de 0,3% do composto (TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014). Este fato evidencia, portanto, a necessidade deste e dos demais países de reformular suas legislações e seus sistemas de monitoramento da qualidade da água, de forma a incluir o estudo do Triclosan e aprimorar os sistemas de tratamento de água e esgoto, visando reduzir os riscos ambientais em uma escala global (TIBURTIUS; SCHEFFER, 2014).

No Brasil o Triclosan esteve presente na água superficial do reservatório Guarapiranga (São Paulo), e em várias estações de coletas, abaixo do limite de quantificação, de 21 ng/L⁻¹, enquanto que o Bisfenol A entre 10 a 345 ng/L⁻¹ (LÓPEZ-DOVAL *et al.*, 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A lista de substâncias químicas produzidas está em constante crescimento e mais de 100 milhões de substâncias químicas estão atualmente registradas no *Chemical Abstracts Service* - CAS (que registra todas as substâncias químicas desde 1957 até o presente); com cerca de 4.000 novos compostos sendo

registrados todos os dias. De acordo com o número de substâncias registradas no REACH, entre 30.000 a 50.000 produtos químicos industriais são encontrados em itens de uso diário e são potencialmente lançados no meio ambiente, principalmente em ambientes aquáticos. No entanto, a maioria desses poluentes não está incluída em acordos internacionais com programas de monitoramento de rotina, portanto, seu impacto sobre o meio ambiente não é totalmente compreendido.

A crescente percepção da difusão global dos poluentes no meio ambiente, junto com as pronunciadas consequências ecológicas e toxicológicas potenciais - conhecidas e desconhecidas - atraiu o interesse não apenas de cientistas, mas também do público em geral e dos legisladores. Esse interesse surgiu a partir do crescente número de reportagens publicadas em jornais e mídias sociais, detalhando os efeitos visíveis e menos evidentes da poluição por poluentes emergentes como os plásticos e os desreguladores endócrinos, principalmente na vida marinha.

Isso vem possibilitando a implementação de uma ampla gama de diretrizes e políticas de vários graus de rigor. A utilização de organismos-modelos bioindicadores, como pelo emprego do *zebrafish* (*Danio rerio*), conhecido no Brasil como paulistinha, são ferramentas úteis da ecotoxicologia para a implantação de preceitos e constituem uma oportunidade única para preencher essas lacunas e criar políticas de regulamentações mais rígidas para combater a poluição por contaminantes emergentes.

Desta maneira, há de serem incentivados novos estudos ecotoxicológicos, visando compreender os efeitos dos compostos naturais e artificiais sobre o meio ambiente e a biota, e seu impacto na saúde humana, na intensão de desenvolver e aprimorar legislações que permitam inibir ou controlar os eventuais efeitos nocivos destes e de novos compostos.

REFERÊNCIAS

- ALIMI, O. S. *et al.* Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport. **Environ. Sci. Technol.**, v. 52, p. 1704-1724, 2018.
- ANTUNES, J. C. *et al.* Resin pellets from beaches of the Portuguese coast and adsorbed persistent organic pollutants. **Estuar. Coast. Shelf Sci.**, v. 130, p. 62-69, 2013.
- ARAÚJO, C. V. M. *et al.* Avoidance response of *Danio rerio* to a fungicide in a linear contamination gradient. **Sci. Total Environ.**, v. 484, n. 1, p. 36-42, 2014.
- ARAÚJO, F. G. *et al.* Biomarkers and bioindicators of the environmental condition using a fish species (*Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803) in a tropical reservoir in Southeastern Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 78, n. 2, p. 351-359, 2018.
- ARSAND, J. B. *et al.* Presence of antibiotic resistance genes and its association with antibiotic occurrence in Dilúvio River in southern Brazil. **Sci. Total Environ.**, v. 738, p. 139781, 2020.
- BARROS, B. C. V. *et al.* Cd, Cr and Al determination in fish tissue from Gelado river/APA, Carajás - PA forest. **HOLOS Environment**, v. 10, p. 195-208, 2011.
- BERNARDO, P. E. M. *et al.* Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade. Uma revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 74, n. 1, p. 1-11, 2015.
- BERTOLDI, C. *et al.* First evidence of microplastic contamination in the freshwater of Lake Guaíba, Porto Alegre, Brazil. **Sci. Total Environ.**, v. 759, p. 143503, 2020.
- BESERRA, M. R. *et al.* O Bisfenol A: sua utilização e a atual polêmica em relação aos possíveis danos à saúde humana. **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 5, n. 1 p. 37-46, 2012.
- BHAGAT, J. *et al.* Zebrafish: an emerging model to study microplastic and nanoplastic toxicity. **Sci. Total Environ.**, v. 728, p. 138707, 2020.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 344, de 25 de março de 2004. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 56-57, 07 maio 2004.

- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário da União**, Brasília, p. 58-63, 18 mar. 2003.
- BUERGE, I. J. *et al.* Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 4, p. 691-700, 2003.
- BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; NESSIMIAN, J. L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cad. Saúde Pública**, v. 19, n. 2, p. 465-473, 2003.
- CASTRO, F. J.; FERNANDES, M. N. Efeitos da infestação por parasitos argulídeos na fisiologia e mecanismos de defesa inata em peixes cultivados. *In*: TAVARES-DIAS, M. (org). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. p. 361-388.
- CASTRO, R. O.; SILVA, M. L.; ARAÚJO, F. V. Review on microplastic studies in Brazilian aquatic ecosystems. **Ocean Coast. Manag.**, v. 65, p. 385-400, 2018.
- CHALEW, T. E. A.; HALDEN, R. U. Environmental exposure of aquatic and terrestrial biota to triclosan and triclocarban. **Journal of the American Water Resources Association**, v. 45, n. 1, p. 4-13, 2009.
- CHAPMAN, P. M. Emerging substances — emerging problems? **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 1445-1447, 2006.
- CHEN, J. *et al.* Optimized constructed wetlands enhance the removal and reduce the risks of steroid hormones in domestic wastewater. **Sci. Total Environ.**, v. 757, p. 143773, 2021.
- CHEN, J. *et al.* Triclocarban enhances testosterone action: a new type of endocrine disruptor? **Endocrinology**, v. 149, n. 3, p. 1173-1179, 2008.
- CONNELL, D. W. **Bioaccumulation of xenobiotic compounds**. Boca Raton: CRC Press, 2018. 225 p.
- COOGAN, M. A. *et al.* Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream. **Chemosphere**, v. 67, n. 10, p. 1911-1918, 2007.
- COSTA, C. R. *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.
- COSTA, J. Microplastics—occurrence, fate and behaviour in the environment. *In*: ROCHA-SANTOS, A. P. T.; DUARTE, A. C. (eds.). **Comprehensive analytical chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 1-24.
- CUNHA, D. L. *et al.* Regulation of the synthetic estrogen 17 α -ethinylestradiol in water bodies in Europe, the United States, and Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v. 32, p. e00056715, 2016.
- DAMATO, M.; BARBIERI, E. Determinação da toxicidade aguda de cloreto de amônia para uma espécie de peixe (*Hyphessobrycon callistus*) indicadora regional. **O mundo da Saúde**, v. 34, n. 4, p. 401-407, 2011.
- DAUGHTON, C. G. Pharmaceuticals in the environment: sources and their management. *In*: BARCELO, D.; PETROVIC, M. (eds.). **Analysis, fate and removal of pharmaceuticals in the water cycle**. Amsterdam: Elsevier Science, 2007. p.1-58.
- DUAN, L. *et al.* Characteristics of pharmaceutically active compounds in surface water in Beijing, China: occurrence, spatial distribution and biennial variation from 2013 to 2017. **Environ. Pollut.**, v. 264, p. 114753, 2020.
- ENYOH, C. E. *et al.* An overview of emerging pollutants in air: method of analysis and potential public health concern from human environmental exposure. **Trends Environ. Anal. Chem.**, v. 28, p. e00107, 2020.
- EUROPEAN CHEMICAL AGENCY. **Understanding REACH**. Helsinki: ECHA, 2021 Disponível em: <https://echa.europa.eu/regulations/reach/understanding-reach>. Acesso em: 28 jan. 2021.
- FÉRARD, J. F. Ecotoxicology: historical overview and perspectives. *In*: FÉRARD, J. F.; BLAISE, C. (eds.). **Encyclopedia of aquatic ecotoxicology**. Dordrecht: Springer, 2013.
- FONTES, M. K. *et al.* Seasonal monitoring of cocaine and benzoylecgonine in a subtropical coastal zone (Santos Bay,

- Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 149, p. 110545, 2019.
- GARCIA, L. P. *et al.* **Environmental protection regulations in Brazil**. London: Lexology, 2019. Disponível em: <https://www.lexology.com/library/detail.aspx?g=eae2fd87-98ee-4778-b352-036af438c93b>. Acesso em: 28 jan. 2021.
- GEROLIN, C. R. *et al.* Microplastics in sediments from Amazon rivers, Brazil. **Sci. Total Environ.**, v. 749, p. 141604, 2020.
- GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Sci. Adv.**, v. 3, p. 25-29, 2017.
- GHANGREKAR, M. M.; BHOWMICK, G. D.; SATHE, S. M. An overview of membrane bioreactor coupled bioelectrochemical systems. *In*: ABBASSI, R. *et al.* (eds.). **Integrated microbial fuel cells for wastewater treatment**. Oxonia: Butterworth-Heinemann, 2020. p. 249-272.
- GEISSEN, V. *et al.* Emerging pollutants in the environment : a challenge for water resource management. **Int. Soil Water Conserv. Res.**, v. 3, p. 57-65, 2015.
- GOESSENS, T. *et al.* Multi-class analysis of 46 antimicrobial drug residues in pond water using UHPLC-Orbitrap-HRMS and application to freshwater ponds in Flanders, Belgium. **Talanta**, v. 220, p. 121326, 2020.
- GOMES, M. F. **Avaliação dos efeitos de triclosan, triclocarban e suas misturas em diferentes bioindicadores**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2019.
- GUEDES-ALONSO, R. *et al.* Liquid chromatography methodologies for the determination of steroid hormones in aquatic environmental systems. **Trends Environ. Anal. Chem.**, v. 3, p. 14-27, 2014.
- HAN, J. *et al.* Triclosan (TCS) and Triclocarban (TCC) cause lifespan reduction and reproductive impairment through oxidative stress-mediated expression of the defensome in the monogonont rotifer (*Brachionus koreanus*). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 185, p. 131-137, 2016.
- HARRIS, P. T. The fate of microplastic in marine sedimentary environments: a review and synthesis. **Marine Pollution Bulletin**, v. 158, p. 111398, 2020.
- HASHIZUME, N. *et al.* Prediction of the bioconcentration factor in common carp (*Cyprinus carpio* L.) using data from the dietary exposure bioaccumulation fish test. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 6, p. 1406-1414, 2014.
- HIGGINS, C. P. *et al.* Bioaccumulation of triclocarban in *Lumbriculus variegatus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 12, p. 2580-2586, 2009.
- HO, J. C. H. *et al.* Triclosan (TCS) exposure impairs lipid metabolism in zebrafish embryos. **Aquatic Toxicology**, v. 73, p. 29-35, 2016
- HOFFMAN D. J. *et al.* **Handbook of ecotoxicology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2002.
- HU, Y. *et al.* Occurrence, fate and risk assessment of BPA and its substituents in wastewater treatment plant: a review. **Environ. Res.**, v. 178, p. 108732, 2019.
- HUSSAIN, B. *et al.* Fish eco-genotoxicology: comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ biomarker of freshwater pollution. **Saudi J. Biol. Sci.**, v. 25, n. 2, p. 393-398, 2018.
- JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. A.; QUEIROZ, S. C. N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.
- JOHNSON, A. C.; BELFROID, A.; DI CORCIA, A., 2000. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. **Sci. Total Environ.**, v. 256, p. 163-173, 2000.
- JOHNSON, R. K.; WIEDERHOLM, T.; ROSENBERG, D. M. Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations, and species assemblages of benthic macroinvertebrates. *In*: ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. (eds.). **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman & Hall, 1993. p. 40-158.

- KATAGI, T. Behavior of pesticides in water - sediment systems. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 187, p. 133-251, 2006.
- KLEYWEGT, S. *et al.* Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada - occurrence and treatment efficiency. **Sci. Total Environ.**, v. 409, p. 1481-1488, 2011.
- KUSTER, M. *et al.* Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). **Journal of Hydrology**, v. 358, p. 112-123, 2008.
- LATCH, D. E. *et al.* Photochemical conversion of triclosan to 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin in aqueous solution. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 158, n. 1, p. 63-66, 2003.
- LI, C.; BUSQUETS, R.; CAMPOS, L. C. Assessment of microplastics in freshwater systems: a review. **Sci. Total Environ.**, v. 707, p. 135578, 2020.
- LI, Z. *et al.* Antibiotics in aquatic environments of China: a review and meta-analysis. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 199, p. 110668, 2020.
- LIAO, C.; KANNAN K. Determination of free and conjugated forms of bisphenol A in human urine and serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v. 46, p. 5003-5009, 2012a.
- LIAO, C.; LIU, F.; KANNAN K. Bisphenol S, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bill and its association with bisphenol A residues. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n.12, p. 6515-6622, 2012b.
- LIENERT, J.; GUEDEL, K.; ESCHER-BEATE, I. Screening method for ecotoxicological hazard assessment of 42 pharmaceuticals considering human metabolism and excretory routes. **Environ. Sci. Technol.**, v. 41, p. 4471-4478, 2007.
- LIMA, J. A. V.; STACHIW, R.; MILITÃO, J. S. L. T. A problemática ambiental dos poluentes emergentes: possíveis impactos por hormônios sexuais. **Nat. Conserv.**, v. 12, p. 66-74, 2019.
- LIMA, M. L. S. O. *et al.* A química dos saneantes em tempos de Covid-19: você sabe como isso funciona? **Quím. Nova**, v. 43, n. 5, p. 668-678, 2020.
- LINS, J. A. P. N. *et al.* Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 8, n. 4, p. 469-484, 2010.
- LIU, Y. *et al.* Occurrence, distribution and sources of bisphenol analogues in a shallow Chinese freshwater lake (Taihu Lake): implications for ecological and human health risk. **Sci. Total Environ.**, v. 599/600, p. 1090-1098, 2017.
- LIVINGSTONE, D. R. Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. **J. Chem. Tech. Biotechnol.**, v. 57, n. 3, p. 195-211, 1993.
- LÓPEZ-DOVAL, J. C. *et al.* Nutrients, emerging pollutants and pesticides in a tropical urbanreservoir: spatial distributions and risk assessment. *Science of the Total Environment*, v. 575, p. 1307-1324, 2017.
- MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.
- MARIANI, C. F. **Ecotoxicologia**: Portal de Ecologia Aquática. São Paulo: Instituto de Biociências da USP. Disponível em: http://ecologia.ib.usp.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=143&Itemid=419. Acesso em: 10 fev. 2021.
- MASSÉ, D. I.; SAADY, N. M. C.; GILBERT, Y. Potential of biological processes to eliminate antibiotics in livestock manure: an overview. **Animals**, v. 4, p. 146-163, 2014.
- MIZUKAWA, K. *et al.* Monitoring of a wide range of organic micropollutants on the Portuguese coast using plastic resin pellets. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 70, p. 296-302, 2013.
- MONTAGNER, C. C.; VIDALA, C.; ACAYABABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Quím. Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017.

- MÜCKE, J. S. **Avaliação da remoção de bisfenol-A em solução aquosa por adsorção em amostra de saibro contendo zeólita**. 2020. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Minas) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.
- NELSON, J. S.; GRANDE, T. C.; WILSON, M. V. H. **Fishes of the world**. 5 ed. Hoboken: John Wiley & Sons. 2016. 752 p.
- NOGA, E. J. **Fish disease: diagnosis and treatment**. 2. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2010. 536 p.
- NWANI, C. D. *et al.* Lethal concentration and toxicity stress of Carbosulfan, Glyphosate and Atrazine to freshwater air breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). **International Aquatic Research**, n. 2 p. 105-111, 2010.
- OBA, E. T.; MARIANO, W. S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. *In*: TAVARES-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009.
- OLIVEIRA, T. S. *et al.* Characterization of pharmaceuticals and personal care products in hospital effluent and waste water influent/effluent by direct-injection LC-MS-MS. **Sci. Total Environ.**, v. 518, p. 459-478, 2015.
- ORVOS, D. R. *et al.* Aquatic toxicity of triclosan. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 7, p. 1338-1349, 2002.
- PAL, R. *et al.* Illicit drugs and the environment - a review. **Sci Total Environ.**, v. 463/464, p. 1079-1092, 2013.
- PETRUCCI, R. *et al.* A new insight into the oxidative mechanism of caffeine and related methylxanthines in aprotic medium: may caffeine be really considered as an antioxidant? **Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.**, v. 1862, n. 8, p. 1781-1789, 2018.
- RAMAN, D. R. *et al.* Estrogen content of dairy and swine wastes. **Environ. Sci. Technol.**, v. 38, p. 3567-3573, 2004.
- RAMOS, R. L. *et al.* Phenolic compounds seasonal occurrence and risk assessment in surface and treated waters in Minas Gerais - Brazil. **Environ. Pollut.**, v. 268, p. 115782, 2021.
- RANI-BORGES, B.; MARTINS, T. F. G.; POMPÊO, M. Status of Brazilian research on microplastics present in aquatic ecosystems: freshwater. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 16, n. 1, p. 106-117, 2021a.
- RANI-BORGES, B.; MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPÊO, M. Microplastics and freshwater microalgae: what do we know so far? *Aquat. Ecol.*, v. 55 . 363-377, 2021b.
- RAUTY, S. A.; ANGUS, R. A. Triclosan has endocrine-disrupting effects in male western mosquitofish, *Gambusia affinis*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 6, p. 1287-1291, 2010.
- REIS FILHO, R. W.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes emergentes como desreguladores endócrinos. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 2, n. 3, p. 283-288, 2007.
- ROCHA, B. Contaminantes emergentes: Bisfenol a e análogos. **Nanocell News**, v. 2. n. 10, p. 15729, 2014.
- ROSENFELD, P. E.; FENG, L. G. H. **Emerging contaminants**. *In*: ROSENFELD, P. E.; FENG, L. G. H. (eds.). Risks of hazardous wastes. Boston: William Andrew Publishing, 2011. p. 215-222.
- SANCHEZ-PRADO, L. *et al.* Monitoring the photochemical degradation of triclosan in wastewater by UV light and sunlight using solid-phase microextraction. **Chemosphere**, v. 65, n. 8, p. 1338-1347, 2006.
- ŠAUER, P. *et al.* Bisphenols emerging in Norwegian and Czech aquatic environments show transthyretin binding potency and other less-studied endocrine-disrupting activities. **Sci. Total Environ.**, v. 751, p. 141801, 2021.
- SCHULTZ, M. M.; BARTELL, S. E.; SCHOENFUSS, H. L. Effects of triclosan and triclocarban, two ubiquitous environmental contaminants, on anatomy, physiology, and behavior of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 63, n. 1, p. 114-124, 2012.
- SENHORINI, J. A. *et al.* Larvicultura do pacu *Piaractus mesopotamicus* Holmbert, 1887 (Pisces, *Characidae*) em viveiros com e sem organofosforado (Folidol 60%). **Boletim Técnico CEPTA**, v. 4, n. 2, p. 11-22, 1991.

- SHAHSAVANI, A. *et al.* Risk assessment of heavy metals bioaccumulation: fished shrimps from the Persian Gulf. **Toxin Reviews**, v. 36, n. 4, p. 255-265, 2017.
- SHIELDS, G.; SAZMA, M.; YONELINAS, A. The effects of acute stress on core executive functions: a meta-analysis and comparison with cortisol. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 68, p. 651-668, 2016.
- SILVA-CAVALCANTI, J. S. Microplastics ingestion by a common tropical freshwater fishing resource. **Environ. Pollut.**, v. 221, p. 218-226, 2017.
- SILVA, D. C. V. R. *et al.* Bisphenol risk in fish exposed to a contamination gradient: triggering of spatial avoidance. **Aquat. Toxicol.**, v. 197, p. 1-6, 2018.
- SILVA, D. C. V. R. *et al.* Potential effects of triclosan on spatial displacement and local population decline of the fish *Poecilia reticulata* using a non-forced system. **Chemosphere**, v. 184, p. 329-336, 2017.
- SIMÕES, C. P. P. **Avaliação operacional e remoção de bisfenol-A no tratamento de água por diferentes tipos de membranas: avaliação em escala piloto.** 2016. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.
- SOUZA, R. R. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de disruptores endócrinos resultantes de atividades antrópicas nas águas da região do rio Paraíba do Sul, SP.** 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- SOUZA, T. C. **Toxicidade aguda de agrotóxicos e curva de sensibilidade de espécies para peixes amazônicos.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.
- SOUSA, D. N. *et al.* Electrical conductivity and emerging contaminant as markers of surface freshwater contamination by wastewater. **Sci Total Environ.**, v. 484, p. 19-26, 2014.
- SPOSITO, J. C. V. *et al.* Emerging contaminants in Brazilian rivers: occurrence and effects on gene expression in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Chemosphere**, v. 209, p. 696-704, 2018.
- SUBTIL, E. L.; MIERZWA, J. C.; ORTIZ, J. P. Influence of wastewater treatment level on the seawater quality in the discharge region of Santos Submarine Outfall. **Rev. Ambient. Água**, v. 7, n. 3, 2012.
- TAKEUCHI, E. **Aplicação da metodologia RBCA para o município de Porto Alegre: definição de níveis aceitáveis baseados no risco para hidrocarbonetos.** 2008. Dissertação de (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre, 2018.
- TANG, Z. *et al.* Occurrence and removal of 17 α -ethynylestradiol (EE2) in municipal wastewater treatment plants: current status and challenges. **Chemosphere**, v. 271, p. 129551, 2021.
- TARAZONA, J. V.; RAMOS-PERALONSO, M. J. Ecotoxicology. *In*: WEXLER, P. (ed.). **Encyclopedia of toxicology**. 3. ed. Cambridge: Academic Press, 2014. p. 276-280.
- TATARAZAKO, N. *et al.* Effects of triclosan on various aquatic organisms. **Environ. Sci.**, v. 11, p. 133-140, 2004.
- TIBURTIUS, E. R.; SCHEFFER, E. Triclosan: destino no meio ambiente e perspectivas no tratamento de águas de abastecimento público. **Rev. Virtual Quim.**, v. 6, n. 5, p. 1144-1159, 2014.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **Evidence rising: the emerging pollutants poisoning our environment.** Nairobi: UNEP, 2019. Disponível em: <https://www.unep.org/news-and-stories/story/evidence-rising-emerging-pollutants-poisoning-our-environment>. Acesso em: 14 fev. 2021.
- UNITED STATES ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY (EPA). **Bisphenol A action plan.** Washington, DC: EPA, 2010.
- UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Antimicrobials sold or distributed for use in food-producing animals.** Silver Spring: FDA, 2020. (Summary Report).

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Update on bisphenol A for use in food contact applications**. Silver Spring: FDA, 2010. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/78088/download>. Acesso em: 23 jan. 2021.

URAIPOG, C. *et al.* A survey of 17 α -ethinylestradiol and mestranol residues in Hawkesbury River, Australia, using a highly specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) demonstrates the levels of potential biological significance. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 144, p. 585-592, 2017.

VALDÉS, M. E. *et al.* Distribution of antibiotics in water, sediments and biofilm in an urban river (Córdoba, Argentina, LA). **Environ. Pollut.**, v. 269, p. 116133, 2021.

WAGNER, M.; LAMBERT, S (eds.). **Freshwater microplastics: emerging environmental contaminants?** Cham: Springer, 2018. (The Handbook of Environmental Chemistry, 58).

WERNER, I.; HITZFELD, B. 50 years of ecotoxicology since silent spring – a review. **GAIA - Ecological Perspectives for Science and Society**, v. 21, n. 3, p. 217-224, 2012.

WRIGHT, S. L.; KELLY, F. J. Plastic and human health: a micro issue? **Environ. Sci. Technol.**, v. 51, p. 6634-6647, 2017.

XIA, W. *et al.* Rainfall is a significant environmental factor of microplastic pollution in inland waters. **Sci. Total Environ.**, v. 732, p. 139065, 2020.

XU, J. *et al.* Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), and endocrine disrupting compounds (EDCS) in runoff from a potato field irrigated with treated wastewater in Southern California. **J. Health Sci.**, v. 55, p. 306-310, 2009.

XU, S. *et al.* Microplastics in aquatic environments: occurrence, accumulation, and biological effects. **Sci. Total Environ.**, v. 703, p. 134699, 2020.

ZAFARZADEH, A. *et al.* Heavy metal (Pb, Cu, Zn, and Cd) concentrations in the water and muscle of common carp (*Cyprinus carpio*) fish and associated non-carcinogenic risk assessment: alagol wetland in the Golestan, Iran. **Toxin Reviews**, v. 37, n. 2, p. 154-160, 2017.

ZHANG, Y. *et al.* How climate change and eutrophication interact with microplastic pollution and sediment resuspension in shallow lakes: a review. **Sci. Total Environ.**, v. 705, p. 135979, 2020.

ZHOU, H. *et al.* Ecotoxicology: the history and present direction. *In*: FATH, B. (ed.). **Encyclopedia of ecology**. 2. ed. Oxford: Elsevier, Oxford, 2018. p. 415-423.

ZUO, Y.; ZHANG, K.; DENG, Y. Occurrence and photochemical degradation of 17 α -ethinylestradiol in Acushnet River Estuary. **Chemosphere**, v. 63, p. 1583-1590, 2006.

CAPÍTULO 11

ASPECTOS DA ECOTOXICOLOGIA DE CIANOBACTÉRIAS

Gustavo Laranjeira de Melo-Santos¹

Karen de Souza Ferreira¹

Mariana Bizari Machado de Campos²

Kelly Afonsina Fernandes³

Bárbara Rani-Borges¹

Viviane Moschini-Carlos¹

Marcelo Pompêo⁴

1- Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

2- Instituto Federal de São Paulo, Campus de São Roque, São Roque, SP, Brasil

3- Universidade de São Paulo – USP, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, SP, Brasil

4- Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

A proliferação descontrolada de cianobactérias e a sua capacidade de produzir metabólitos secundários, as cianotoxinas, pode ser responsável por problemas econômicos, ambientais e de saúde pública. Esse intenso crescimento pode comprometer a qualidade da água e afetar as atividades antrópicas de base hídrica, como por exemplo, as atividades recreacionais, de geração de energia, de aquicultura, que envolve a produção de peixes (piscicultura), camarão (Carcinicultura) e moluscos, como ostras e mexilhões (Malacocultura), por exemplo. O crescimento excessivo das cianobactérias causa um desequilíbrio ecológico, associado à perda de habitats e à mortalidade de organismos de diferentes níveis tróficos, em decorrência da liberação das cianotoxinas. Assim, a eutrofização artificial se tornou um desafio para os cientistas, ambientalistas e autoridades, bem como para as agências e os órgãos reguladores, especialmente em reservatórios destinados ao abastecimento público, em decorrência da entrada de nutrientes no manancial e o subsequente crescimento das algas, particularmente das cianobactérias. Por isso, visando controlar e monitorar esses organismos, foi desenvolvida uma legislação específica para acompanhar a proliferação de cianobactérias em corpos d'água destinado ao abastecimento público, a fim de evitar danos à saúde humana e ao meio ambiente. Neste capítulo são apresentadas algumas informações acerca das cianobactérias, suas toxinas e as implicações para a saúde pública, contemplando as características gerais das cianobactérias, causas que levam a formação de florações e algumas medidas de controle.

CARACTERÍSTICAS GERAIS E AS PRINCIPAIS CAUSAS PARA A FORMAÇÃO DAS FLORAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS

As cianobactérias compreendem um grupo diverso de organismos procarióticos (BULLERJAHN; POST, 2014). Provavelmente são os primeiros organismos fotossintetizantes no planeta, além dos primeiros produtores primários de matéria orgânica a liberarem oxigênio na atmosfera primitiva (ESTEVES, 2017; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006). Podem ser terrestres, de água doce, salobra ou marinha, além de ocuparem habitats com condições ambientais e climáticas extremos, como fontes termais (temperaturas de até 74 °C), neve (temperaturas próximas ou baixo de 0 °C) e ambientes desérticos (SANT'ANNA *et al.*, 2006). Sua reprodução se dá por meio de divisão binária (reprodução assexuada) (SANT'ANNA *et al.*, 2006). Os ambientes de água doce, sobretudo os sistemas lênticos, fornecem as condições ideais ao desenvolvimento e à manutenção de populações de cianobactérias, com pH entre 6 à 9, com temperatura variando entre 15 e 30 °C e com altas concentrações de nitrogênio e fósforo, além de ter influência na retenção e no acúmulo das comunidades fitoplanctônicas e na produção de gases pelas cianobactérias (metano, hidrogênio, oxigênio etc.) (PINTO *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2020; GUO *et al.*, 2018).

As cianobactérias possuem a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, por meio de estruturas especializadas, os heterócitos (SILVA *et al.*, 2016). Estas estruturas formam células resistentes às condições não favoráveis, como sombreamento ou escassez de nutrientes, funcionando como esporos, os acinetos (PIMENTA, 2020). Outra estrutura especializada são os aerótopos, que regulam a posição da célula na coluna d'água pela flutuabilidade, regulando a quantidade de gás no seu interior (OLIVEIRA, 2007). As cianobactérias conseguem tolerar altas exposições aos raios ultravioleta (JACINAVICIUS *et al.*, 2021), altas concentrações de metais e outros parâmetros desfavoráveis (ZHANG *et al.*, 2019). Este conjunto de características permite a sua ampla distribuição geográfica e a ocupação em diferentes nichos.

O nome popular desses organismos, “algas azuis”, hoje não mais empregado, vem da coloração verde-azulada das células quando vistas ao microscópio. Isso ocorre, pois suas células contêm pigmentos fotossintéticos, como a clorofila-a, pigmento que dá a coloração esverdeada, juntamente com pigmentos acessórios como a ficocianina, caracterizado pela cor azul e carotenoides, caracterizado por tonalidades que variam do amarelo ao laranja. Além desses pigmentos, algumas espécies possuem também a ficoeritrina, de coloração vermelho, entre outros pigmentos acessórios pertencentes às ficobiliproteínas (SAINI *et al.*, 2018). Alguns destes pigmentos tem sido explorado em diferentes campos da indústria, devido à suas propriedades fluorescentes e antioxidantes (ERIKSEN, 2008; KHANRA *et al.*, 2018).

Uma das características mais intrigantes das cianobactérias é a sua capacidade de produzir metabólitos secundários, designados como cianotoxinas. Estas são classificadas de acordo com as suas características químicas e as suas propriedades toxicológicas, representadas pelas microcistinas, saxitoxinas, nodularinas, cilindrospermopsina e anatoxinas. As cianotoxinas são produzidas principalmente durante os eventos de florações de cianobactérias, que podem provocar desequilíbrios ecológicos e acumular nos organismos que compõem a comunidade aquática, podendo, inclusive, serem transferidas para outros níveis tróficos (TURNER *et al.*, 2018; CAMPOS; VASCONCELOS, 2010). Além disso, a formação de florações pode causar hipóxia e interromper as cadeias alimentares no ecossistema aquático (CHEUNG *et al.*, 2013).

Após o consumo acidental de água contendo células de cianobactérias produtoras de toxinas, relacionados aos ambientes com a ocorrência de florações, temos como efeitos severos a mortalidade de animais selvagens e domésticos. A disponibilidade de toxinas diretamente na água também tem sido alvo de preocupação constante das autoridades de fiscalização ambiental e de vigilância em saúde pública, pois podem causar danos à saúde humana. Por isso, as florações de cianobactérias tornaram-se também um problema de saúde pública, envolvendo órgãos públicos (ex. Vigilância Ambiental em Saúde), com vistas a ações que busquem a detecção e a prevenção de mudanças nos fatores determinantes e condicionantes do meio ambiente que interferem na saúde humana (AZEVEDO *et al.*, 2002).

Somado à disponibilidade de toxinas, altas densidades de cianobactérias na coluna d'água podem causar alterações no gosto e odor da água, devido a produção de outros metabólitos secundários, como MIB (2-metilisoborneol) e Geosmina. Essas substâncias, assim como as cianotoxinas, são indicadores da

qualidade de água e, na dependência de suas concentrações, podem tornar a água imprópria para o consumo humano, o que é uma situação bastante delicada do ponto de vista sanitário. As toxinas, bem como outros metabólitos secundários, nem sempre são removidos em sua totalidade pelos sistemas tradicionais de tratamento de água (DE ALMEIDA; AMÉRICO-PINHEIRO, 2018). Por esta razão, a proliferação de cianobactérias em mananciais de água potável tem sido objeto de grande preocupação pelas companhias de tratamento de água, já que a presença das toxinas, além de representar riscos para a biota local, reduz a qualidade da água destinada ao consumo humano. Por isso, as estações de tratamento de água tem investido em recursos tecnológicos, como uso de satélites e softwares para o monitoramento da proliferação de cianobactérias e padrões físico-químicos da água de forma a evitar a proliferação de cianobactérias, e também como forma de minimizar metodologias de remediação, ou seja, o tratamento em si, como pelo uso de algicidas e produtos químicos, que nem sempre produzem o efeito esperado como a eliminação de metabólitos prejudiciais a saúde do corpo d'água (WALKER, 2015).

O cenário atual de mudanças climáticas globais e o aumento das concentrações de CO₂ podem influenciar muito as comunidades microbianas em vários ambientes, principalmente em ecossistemas aquáticos, pois pode transportar microrganismos patogênicos levados pelas chuvas, os quais podem afetar a saúde humana, e os poluentes químicos orgânicos e inorgânicos dispostos no ar, que dependendo do tipo, podem afetar severamente as estruturas das comunidades dos ecossistemas (O'NEIL *et al.*, 2012; KLEINTEICH *et al.*, 2012).

As cianobactérias também podem ser alteradas por vários fatores físicos (condutividade elétrica, sólidos suspensos totais, temperatura da água, turbidez) e químicos (demanda bioquímica de oxigênio, fósforo total, nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal, nitrato, oxigênio dissolvido, pH, cloretos), incluindo mudanças nas condições ambientais, como mudanças climáticas, mudanças de temperatura d'água, radiação solar, mudança nos padrões de precipitação e no regime de chuvas entre outros, que são essenciais para compreender e prever as respostas dessas comunidades (PAERL; HUISMAN, 2008; EILER *et al.*, 2013; STEFFEN *et al.*, 2012).

Um dos fatores que leva ao desenvolvimento anormal de cianobactérias (florações), é o enriquecimento de nutrientes das águas doces e marinhas por atividades antrópicas, muitas vezes decorrentes da utilização de fertilizantes na agricultura, do despejo de ração na piscicultura, da falta de saneamento, do deságua sem tratamento de efluentes advindos de fábricas e cidades, entre outros (PAERL; PAUL, 2012; SUIKKANEN *et al.*, 2013; PAERL; HUISMAN, 2008; ELLIOTT, 2012). O esgoto "in natura" nos cursos d'água pode impulsionar o crescimento desequilibrado de cianobactérias. A produção de toxinas é promovida por cepas tóxicas, que realizam a biossíntese de toxinas, mas também pode ter a prevalência de espécies que não produzem toxinas.

Em ambos os cenários, com a presença de espécies tóxicas ou não tóxicas, as florações causam desequilíbrio ambiental (ZILLIGES *et al.*, 2011; KURMAYER, 2011; NEILAN *et al.*, 2013). Alguns desequilíbrios são conhecidos para as ordens Synechococcales, Chroococcales, Nostocales, Oscillatoriales e outras sob investigação (LOPES *et al.*, 2013; DA COSTA *et al.*, 2017). O que se sabe até agora, é que as florações com predominância de espécies tóxicas são de fato mais impactantes, mas florações com espécies não tóxicas também causam impactos. Além da produção de cianotoxinas, as cianobactérias produzem outros cianopeptídeos, como cianopetolinas, microgininas, anabaenopeptina. Estes cianopeptídeos podem causar efeitos adversos "in vivo", de acordo com a sua concentração e o tempo de exposição, podendo gerar aumento nas anormalidades morfológicas, como no caso de peixes, como edema abdominal e pericárdico e curvatura da coluna vertebral, demonstrando que a toxicidade pode ser causada por outras classes de metabólitos secundários de cianobactérias que contribuem para a toxicidade (FERNANDES *et al.*, 2019; NEILAN *et al.*, 2013). Portanto, a compreensão da influência das mudanças ambientais na formação do florescimento de cianobactérias e na produção de toxinas é crucial para o manejo do florescimento de cianobactérias tóxicas. Em função dos riscos potenciais que a presença de cianobactérias oferece às águas e à saúde humana, torna-se imprescindível medidas preventivas para o controle do crescimento desordenado desses organismos, além de estudos com interesse ambiental, farmacêuticos, tecnológico entre outros.

CIANOTOXINAS

Atualmente são conhecidos cerca de 150 gêneros e 2.000 espécies de cianobactérias, das quais aproximadamente 40 gêneros são descritos como produtores de cianotoxinas (PLAAS; PAERL, 2020; NABOUT *et al.*, 2013). Acredita-se que a finalidade ecológica da produção de cianotoxinas esteja relacionada aos mecanismos de defesa ou como ferramenta para auxiliar no processo de captação da luz solar (BURKHOLDER *et al.*, 2018).

Em ambientes aquáticos, as cianotoxinas estão contidas no interior das células das cianobactérias e apenas são liberadas em maior quantidade após o processo de lise celular, que ocorre durante a fase de senescência, a morte natural do organismo, pelo estresse celular, pelo uso de algicidas, como do sulfato de cobre e do peróxido de hidrogênio ou pela cloração (CAMACHO *et al.*, 2013). Contudo, a ocorrência de espécies potencialmente tóxicas em ambientes aquáticos precisa ser constantemente monitorada, a fim de se evitar perda da qualidade ambiental, danos à saúde humana e aos ecossistemas.

As cianotoxinas podem ser classificadas de acordo com seu mecanismo de ação, em quatro grupos, as hepatotóxicas, as neurotóxicas, as citotóxicas e as dermatotóxicas. As hepatotóxicas, que são as microcistinas e nodularinas; as neurotóxicas, representadas pela anatoxina-a, homoanatoxina-a, anatoxina-a(s) renomeada para Guanitoxina (FIORE *et al.*, 2020), citotóxicas pela cilindrospermopsina e as dermatotóxicas pelas aphysiatoxina debromoapophysiatoxina e a lyngbiatoxina-a.

HEPATOTOXINAS

A hepatotoxina é uma classe de cianotoxina produzida por alguns gêneros de cianobactérias, como *Microcystis*, *Dolichospermum*, *Pseudanabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Anabaenopsis*, *Nostoc*, *Hapalosiphon* (uma cianobactéria terrestre), *Planktothrix*, *Synechocystis* e *Lyngbya* (HE *et al.*, 2016). A ampla distribuição geográfica e a predominância de espécies pertencentes a estes gêneros parece ser um fator determinante para a maior ocorrência de casos de intoxicação por hepatotoxinas, quando comparado com outras classes de cianotoxinas (NISHIWAKI-MATSUSHIMA *et al.*, 1992).

Seu modo de ação afeta principalmente o fígado, onde ocorre a inibição enzimática das proteínas fosfatases serina/treonina, podendo causar danos severos, como hemorragia intra-hepática e choque hipovolêmico. Após a ingestão dessas hepatotoxinas, seja de modo acidental, ou por meio secundário, como, pela ingestão de alimentos contaminados (por exemplo peixes), os sinais observados são, prostração, vômitos, inapetência, dor abdominal e diarreia (CHEN *et al.*, 2011; WALKER, 2015). Estudos também mostram que a exposição crônica, através da ingestão acidental, pode aumentar o índice de câncer hepático (CHORUS; BARTRAM, 1999).

O efeito da intoxicação das microcistinas sobre o organismo humano está relacionado com a exposição crônica em baixas concentrações (MASSEY *et al.*, 2018). Isso ocorre através do consumo acidental de água e de alimentos contaminados, como produtos agrícolas, peixes e moluscos (CAMPOS; VASCONCELOS, 2010). Os efeitos atribuídos a exposição crônica a microcistinas são as gastroenterites, principalmente, mas também podem causar outras doenças e reações alérgicas. Algumas lesões mais graves são tumores hepáticos e colo-retais (SVIRČEV *et al.*, 2017).

As principais hepatotoxinas são as microcistinas e as nodularinas. As microcistinas são peptídeos cíclicos formados por sete aminoácidos (cinco D-aminoácidos e dois L-aminoácidos), sendo que duas posições na cadeia (2 e 4) podem ser ocupadas por diferentes aminoácidos, formando uma série de variantes, como por exemplo a microcistina-RR, -YR, -LR, -LA (VAN APELDOORN *et al.*, 2007).

De acordo com Sá *et al.* (2010), os casos recorrentes de intoxicação *in vivo* referem-se a microcistina-LR, principalmente. Isso ocorre mais comumente com as LR, pois há uma grande diversidade de espécies do gênero *Microcystis*, principal produtor da variante, com ampla distribuição geográfica de espécies produtoras microcistinas, além de questões relacionadas a adaptação que apresenta. A microcistina-LR tem-se mostrado um potente inibidor das fosfatases 1 e 2A em mamíferos e plantas

superiores, e seus efeitos crônicos são similares àqueles obtidos com substâncias conhecidas como carcinogênicas. A estrutura geral das microcistinas e as principais variantes são apresentadas na Fig. 1.

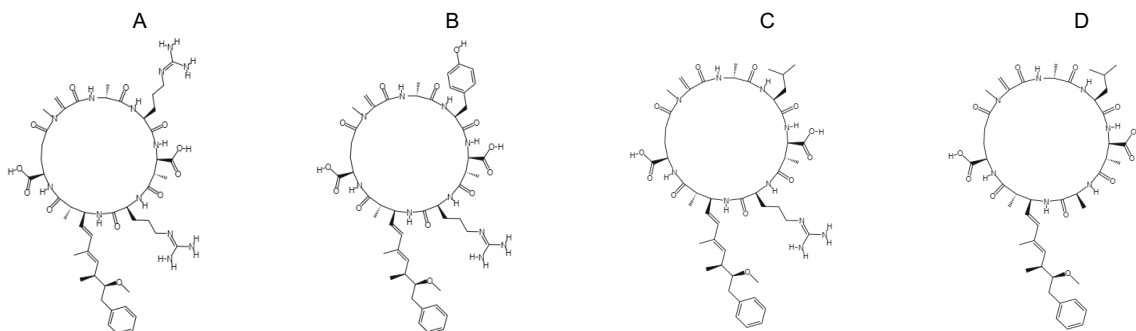


Figura 1: Estrutura geral das microcistinas e as principais variantes: A: Microcistina-RR (arginina-arginina). B: Microcistina-YR (tirosina-arginina). C: Microcistina-LR (leucina-arginina). D: Microcistina-LA (leucina-alanina). Fonte do próprio autor.

As microcistinas são solúveis em água, etanol e outras substâncias, além de serem altamente estáveis na água e resistentes a grandes variações de temperatura e pH (PIMENTEL; GIANI, 2014). Os níveis de toxicidade são mantidos mesmo após período de fervura e, em condições naturais, na ausência de luz, pode persistir por longos períodos. A toxicidade entre as microcistinas é praticamente a mesma, quase todas apresentam dose letal média (DL_{50}) intraperitoneal (i.p.) entre 50-600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ em sua estrutura (WATANABE *et al.*, 1988).

A nodularina é produzida principalmente pela *Nodularia spumigena* (MSAGATI *et al.*, 2006), geralmente encontrada em regiões estuarinas e de água salobra. É um pentapeptídeo cíclico (Fig. 2), cujos aminoácidos são semelhantes aos das microcistinas. Sua estrutura é denominada como ciclo-(D-MeAsp1-L-Arg2-Adda3-D-glutâmico4-Mdmb5), no qual o Mdmb é o ácido 2-metilamino-2-butírico. Existem variantes também dessa molécula dependendo dos aminoácidos que se ligam na sua estrutura na posição 2, ou ainda outras modificações, porém somente 7 variantes foram reportadas (VAN APELDOORN *et al.*, 2007).

Dentre os diversos danos às células hepáticas que essa classe desempenha pode-se citar a desorganização do citoesqueleto, a peroxidação lipídica, a perda da integridade da membrana, a fragmentação do DNA, a apoptose, a dilaceração celular, a necrose e o sangramento intra-hepático (CHORUS; BARTRAM, 1999; DITTMANN; WIEGAND, 2006). A DL_{50} (i.p.) da nodularina em camundongos varia entre 50-70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corpóreo (SAITO *et al.*, 2001; CHORUS *et al.*, 2000).

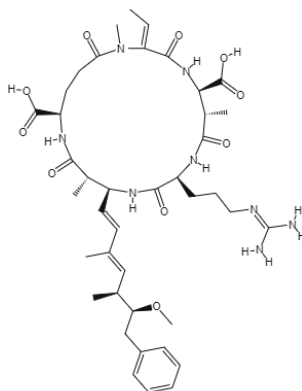


Figura 2: Estrutura geral das nodularinas. Fonte do próprio autor.

NEUROTOXINAS

As neurotoxinas são caracterizadas pela ação rápida, causando a morte por parada respiratória em poucos minutos após à exposição. O mecanismo de ação geral das neurotoxinas produzidas por cianobactérias é causado pelo bloqueio do sistema de propagação de estímulos nervosos sobre os músculos, provocando a paralisia muscular e a possível morte por falência respiratória (CARMICHAEL, 1994; MIRANDA *et al.*, 2017).

Torres *et al.* (2016) afirmam que as neurotoxinas são produzidas por espécies dos gêneros *Dolichospermum*, *Sphaerospermopsis*, *Chrysochlorum*, *Oscillatoria*, *Trichodesmium* e *Raphidiopsis*. São conhecidas pelo menos cinco neurotoxinas produzidas a partir de espécies desses gêneros (TORRES *et al.*, 2016). As neurotoxinas anatoxina-a, homoanatoxina-a, Guanitoxina e saxitoxina são produzidas, principalmente, pelos gêneros *Dolichospermum*, *Sphaerospermopsis* e *Raphidiopsis* (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006; RICHARDSON *et al.*, 2018).

A anatoxina-a foi a primeira toxina a ser química e funcionalmente definida, e trata-se de uma amina secundária (DEVLIN *et al.*, 1977) (Fig. 3A). Os sintomas de intoxicação por essa toxina em animais incluem o desequilíbrio, a fasciculação muscular, a respiração ofegante e as convulsões. A morte ocorre em decorrência da parada respiratória, em questão de poucos minutos há algumas horas, a depender da concentração. A anatoxina-a é um alcaloide potente, bloqueador de funções neuromuscular pós-sináptico de receptores nicotínicos e colinérgicos. A anatoxina-a se liga irreversivelmente a receptores de acetilcolina, desencadeando a contração contínua das células musculares. A anatoxina-a funciona como um análogo da acetilcolina, porém, não sofre a degradação comum realizada pela enzima acetilcolinesterase. Conseqüentemente, a ligação da anatoxina-a em receptores da acetilcolina provoca exaustão na contração muscular. A DL₅₀ (i.p.) em camundongos é de 200 mg/kg de peso corpóreo, com tempo de sobrevivência de 1 a 20 minutos. A letalidade aguda pode ocorrer quando animais ingerem por via oral pequena quantidade de água da superfície com florações tóxicas (CARMICHAEL, 1994).

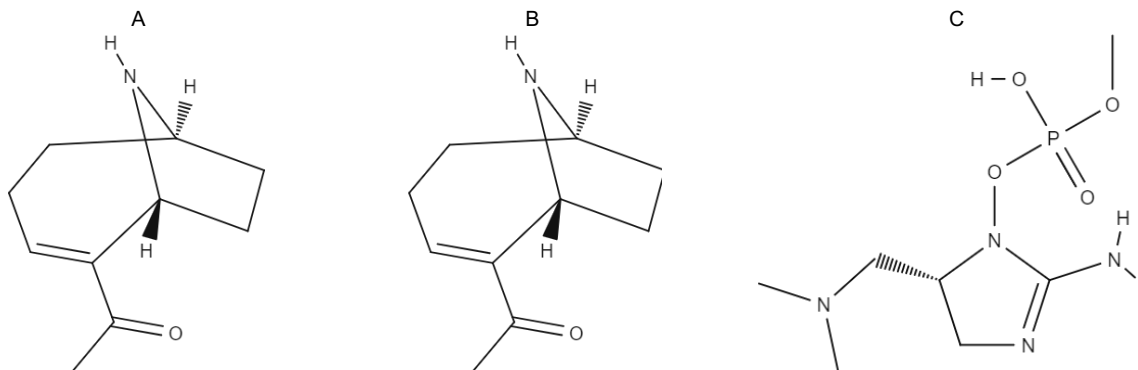


Figura 3: Estruturas das neurotoxinas. A: Anatoxina-a. B: Homoanatoxina-a. C: Guanitoxina. Fonte do próprio autor.

O homólogo da anatoxina-a, a homoanatoxina-a (Fig. 3B), demonstrou não ser tão tóxica como a anterior, em doses de até 2 mg/kg em ratos por via intraperitoneal (NAMIKOSHI *et al.*, 2003). Outra neurotoxina, a Guanitoxina, foi caracterizada posteriormente, e constatou-se que esta apresenta sinais semelhantes de intoxicação da anatoxina-a, acrescidos de intensa salivação (OLIVEIRA *et al.*, 2011) (Fig. 3C). A Guanitoxina tem um mecanismo de ação análogo ao da anatoxina-a, no entanto, a se liga a enzima acetilcolinesterase inibindo a sua ação e impedindo assim a degradação da acetilcolina ligada aos receptores, sendo mais tóxica que a anatoxina-a, já que a dose letal dela é menor.

A DL₅₀ (i.p.) em camundongos é de 20 mg/kg de peso corpóreo e, portanto, dez vezes mais potente que a anatoxina-a (CARMICHAEL; BOYER, 2016).

As saxitoxinas (Fig. 4) são alcaloides produzidos tanto por cianobactérias quanto por dinoflagelados marinhos (GRADÍSSIMO *et al.*, 2020). A multiplicação destas cianobactérias já levou a maciça mortandade de peixes e outros animais, bem como a contaminação de recursos hídricos. As saxitoxinas podem se acumular na cadeia alimentar como em animais consumidos pelo homem (peixes, algas e outros), ou em frutos do mar (mariscos e ostras). Isso ocorre pelo fato desses animais se alimentarem do fitoplâncton resistente à toxina, que acumulam a saxitoxina em altas concentrações, sem perceberem o seu efeito (SCHRAMM; PROENÇA, 2005).

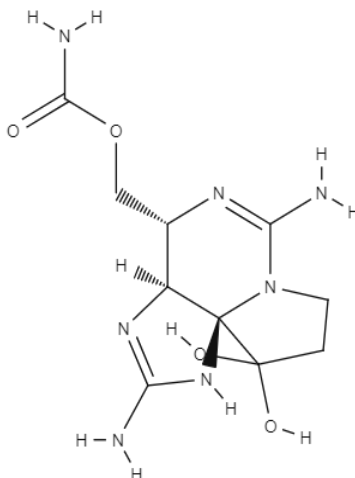


Figura 4: Estrutura da saxitoxina. Fonte do próprio autor.

O mecanismo de ação da saxitoxina pode ser semelhante ao das neurotoxinas, porém modificam-se em alguns aspectos, ocorrendo principalmente na junção neuromuscular, onde a transmissão nervosa é bloqueada quando a porção guanidínica da toxina se liga ao sítio, um dos canais de sódio, impedindo a abertura dos neurônios e induzindo a paralisia muscular (KALAITZIS *et al.*, 2010). As evidências do acúmulo e dos efeitos das neurotoxinas em peixes ainda são escassas. Monserrat *et al.* (2001), Yotsu-Yamashita *et al.* (2001) e Osswald *et al.* (2007) mostraram o acúmulo de ANTX-a em juvenis de carpa comum (*Cyprinus carpio*) exposto a células liofilizadas de *Dolichospermum sp.*

Os sintomas que seguem a exposição geralmente se iniciam após 30 minutos e começam com a sensação de formigamento ou queimação nos lábios, língua e garganta, evoluindo para uma total dormência do rosto. Outros sintomas incluem sudorese, vômitos e diarreia. Nos casos de intoxicação aguda, a dormência pode se espalhar para o pescoço e as extremidades, progredindo para fraqueza muscular, perda da coordenação motora e, finalmente, para uma paralisia total. A DL50 (i.p.) em camundongos é de 10 mg/kg de peso corpóreo e geralmente propicia a falência cardiorrespiratória devido à paralisia muscular (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006; PEARSON *et al.*, 2010).

CITOTOXINAS

A representante principal das citotoxinas é a cilindrospermopsina (Fig. 5), produzida por cianobactérias do gênero *Raphidiopsis sp.* É um alcaloide tricíclico, cuja estrutura molecular é composta por uma guanina tricíclica combinada com um hidroximetiluracil (VAN APELDOORN *et al.*, 2007). São conhecidos dois análogos da molécula, a 7-deoxicilindrospermopsina e a 7-epicilindrospermopsina (PEARSON *et al.*, 2010). Diferentes espécies de cianobactérias já foram reportadas como produtoras desta toxina, como *Raphidiopsis raciborskii*, *Chrysoosporum ovalisporum*, *Dolichospermum flos-aquae*, *Umezakia natans*, *Raphidiopsis curvata*, *Chrysoosporum bergii*, *Anabaena lapponica* Borge e *Microseira wollei* (PEARSON *et al.*, 2010).

A cilindropermopsina inibe a síntese de proteínas e pode causar a necrose do fígado, tendo sido observados em camundongos danos em células renais, cardíacas, pulmonares e em células da mucosa gástrica. A DL50 (i.p.) para camundongos é de 2 µg/kg (após 24h) e 0,2 µg/kg (após cinco dias) (FALCONER, 1999; TERAO *et al.*, 1994; DA SILVA MIRANDA, 2014).

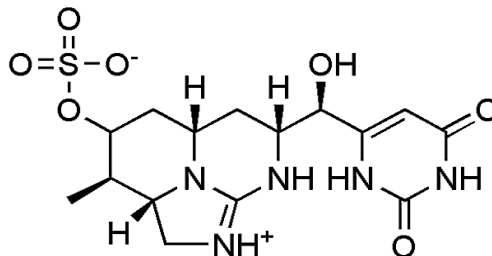


Figura 5: Estrutura da Cilindropermopsina. Fonte do próprio autor.

DERMATOTOXINAS

As dermatotoxinas, conhecidas como toxinas irritantes, são responsáveis pela irritação cutânea, produzindo dermatites, que culminam na formação de vesículas nas regiões em que ocorre o contato direto, além de alterarem os níveis de glicose e afetarem a resistência do organismo, alterando a coagulação sanguínea (CAMPOS; DUARTE, 2011). Os principais gêneros envolvidos nessas intoxicações são *Lyngbya*, *Nodularia*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Gloeotrichia* e *Schizothrix* (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Dentre as dermatotoxinas, as mais comuns são aplysiatoxina debromoaplysiatoxina e a lyngbiatoxina-a, produzidas principalmente por cianobactérias bentônicas marinhas tropicais e subtropicais, como *Oscillatoria*, *Lyngbya* e *Schizothrix* (CHORUS; BARTRAM, 1999). A ação tóxica associada à dermatite é característica de aplisiatoxinas e debromoaplysiatoxinas, que são potentes promotores de tumor e ativadores de proteína quinase C (MYNDERSE *et al.*, 1977; HALL; STRICHARTZ, 1990; JEFFREY; LISKAMP, 1986), enquanto que lyngbiatoxina-a causa dermatite e inflamação oral ou gastrointestinal, podendo ser confundidos alguns sintomas se não houver um estudo mais detalhado e rápido sobre o problema (CARDELLINA *et al.*, 1979).

As dermatotoxinas geradas pelas espécies de cianobactérias, ainda produzem lipopolissacarídeos (LPS). O contato dos LPS de cianobactérias com a pele humana pode provocar vermelhidão e lesões na pele, irritação nos olhos, conjuntivite, urticária, obstrução nasal e asma (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Ainda entre as dermatotoxinas, as lyngbiatoxinas são o agente causador de uma dermatite com bolhas chamada "coceira do nadador", que foi frequentemente relatada por surfistas no Havaí (CARDELLINA *et al.*, 1979).

A irritação cutânea foi mais intensa quando as células cianobacterianas foram capturadas sob a roupa de banho das mulheres. Em 1958, nas praias do Havaí, 125 pessoas sofreram de dermatite aguda. Poucas horas após o contato com *Lyngbya majuscula*, apresentaram sintomas de eritema e sensação de queimação, seguidos de formação de bolhas e descamação profunda, que durou vários dias. Sintomas semelhantes foram desenvolvidos em quase 90% das pessoas que tomavam banho nas praias de Okinawa em 1968. As partes do corpo mais gravemente afetadas foram os genitais, olhos e lábios (BURKE; TESTER, 2002). As toxinas produzidas por *Lyngbya majuscula* se acumularam em peixes e causaram a mortalidade em massa do camarão azul *Penaeus stylirostris*.

ECOTOXICOLOGIA DAS CIANOTOXINAS: EFEITOS EM ANIMAIS E IMPLICAÇÕES NA SAÚDE PÚBLICA

No ambiente aquático, os contaminantes geralmente são capazes de provocar danos através das respostas letais (mortalidade) e subletais (reprodução, alimentação e imobilidade), constantemente

estudadas pela ecotoxicologia, ciência aplicada a interpretar como os agentes possivelmente tóxicos afetam os organismos (RAND *et al.*, 2020; SPARLING, 2016). Os desafios nas descobertas recentes na área da ecotoxicologia, carecem que se complementem com os conhecimentos de outras esferas, que não somente a toxicologia, assim como da biologia molecular, química, antropologia, matemática e evolução (RODRÍGUEZ-ROMERO *et al.*, 2021).

A ecotoxicologia, como ciência multidisciplinar, estuda os efeitos das substâncias químicas naturais ou sintéticas sobre organismos testes expostos ou tratados com doses determinadas por tempo de exposição. Assim, nos fenômenos relacionados às florações de cianobactérias, é importante compreender a dimensão dos efeitos relacionados com a exposição às cianotoxinas sobre outros organismos de níveis tróficos distintos, através de bioensaios (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

De acordo com Castro *et al.* (2020), nos ensaios ecotoxicológicos, os efeitos agudos sobre a sobrevivência ou imobilidade dos organismos-teste são vistos quando esses organismos são submetidos à presença de substâncias em altas concentrações, durante curtos períodos de tempo. Já os efeitos crônicos são comumente notados sobre o crescimento, a reprodução, o comportamento, entre outros, pois a dose da substância administrada está em baixas concentrações e em contato por longos períodos, possibilitando assim o surgimento de efeitos sistêmicos específicos sobre o ciclo de vida dos organismos (COSTA *et al.*, 2008). Na ausência desses efeitos, deve-se levar em consideração o acúmulo das substâncias químicas, que podem atingir níveis elevados no organismo, causando efeitos deletérios ao longo do tempo e intoxicação.

Estudos da exposição crônica à microcistina-LR (MC-LR) foram realizados através da repetida administração oral da toxina em várias concentrações e testadas inicialmente em ratos. O NOAEL (*no observed adverse effect level*), ou seja, o nível ou a concentração na qual não foram observados efeitos adversos, foi de 40 µg/kg peso corpóreo em ratos. Mudanças no fígado foi observado em animais após a administração de doses mais elevadas de MC-LR, como a degeneração do tecido e também outras desordens envolvendo as enzimas hepáticas. O LOAEL (*lowest observed adverse effect level*), ou seja, o menor nível ou concentração na foram observados efeitos adversos, foi determinado em porcos na concentração de 100 µg/kg (DITTMANN; WIEGAND, 2006). Foi observado também que o contato de variantes de microcistina (LR ou RR) com macrófitas aquáticas pode reduzir os teores de clorofila a e b, interferindo na fotossíntese de muitas espécies, com concentrações variando entre 1 a 5 µg.L⁻¹ por pelo menos três semanas de contato (WIEGAND; PFLUGMACHER, 2005). Outro efeito relaciona-se ao incremento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), responsáveis por alterações bioquímicas que inativam enzimas, promovem mutações no DNA e a peroxidação de lipídios de membrana (WIEGAND; PFLUGMACHER, 2005).

O mais antigo caso que se conhece de intoxicação de animais, foi descrito, em fevereiro de 1878 por Francis na Austrália, divulgada pela Nature. De acordo com Olson (1951), tratava-se de uma cianófitica denominada *Nodularia spumigena* que, em ocasiões de temperaturas elevadas reproduzia-se com grande intensidade provocando morte rápida do gado que as ingeria a água contaminada. O autor ainda detalha em seu trabalho o tempo de sobrevivência de outros animais (cães, porcos, carneiros, cavalos) após ingestão da água em questão (BRANCO, 1959).

Outros registros de animais domésticos afetados por algas tóxicas ocorreram em 1882, 1883 e 1884, e foram relatadas nos Lagos Cordova, Sakatah e Teton- ka em Waterville, Minnesota por Porter (1886), Arthur (1886, 1886a) e Stalker (1886), respectivamente. Em 28 de setembro de 1933, outras mortes de animais domésticos no Lago Lac qui Parle em Milão (Minnesota, EUA) foram investigadas. Neste caso, 45 perus, 4 patos e 2 gansos foram vítimas de algas tóxicas, incluindo *Microcystis flosaquae*, *Dolichospermum flos-aquae* e *Aphanizomenon flos-aquae*. Uma segunda morte foi observada em 4 de novembro de 1933, envolvendo as mesmas espécies de algas. Os animais relatados como mortos nessa época eram vacas, porcos, cavalos e aves. Em 1933, três bovinos foram relatados como mortos por uma proliferação de algas tóxicas, consistindo em *Microcystis* e *Dolichospermum* nas proximidades de Grand Rapids, também em Minnesota.

Após esses casos ocorridos em humanos e animais, surgiu um possível surto de gastroenterite humana, envolvendo supostos suprimentos de água, na cidade de Charleston, West Virginia, do final de outubro até o início de novembro de 1930, no qual entre 8.000 a 10.000 pessoas foram afetadas, segundo estudo de Tisdale (1931).

Apesar desses ocorridos, sobre a mortalidade de animais selvagens e domésticos, após o consumo de água com a presença de cianobactérias tóxicas, ou pelo contato direto com as cianobactérias em eventos de floração, a atenção se voltou para as cianobactérias após uma fatalidade. Pacientes que faziam hemodiálise em Caruaru/PE (Brasil) vieram a óbito após o hospital receber água de um açude com florações de *Microcystis sp.*, divulgado pelo British Medical Journal (1996).

A matéria em questão discorreu sobre o fato ocorrido no Brasil, na cidade de Caruaru, onde após tratamento de diálise renal de rotina em uma clínica, pacientes começaram a se queixar de dor de cabeça, dor nos olhos, visão turva, náuseas e vômitos. Posteriormente, 100 pacientes desenvolveram insuficiência hepática aguda e 52 morreram com uma síndrome comum que foi chamada de “Síndrome de Caruaru” (BARRETO *et al.*, 1996; JOCHIMSEN *et al.*, 1998). Carmichael *et al.* (2001) coletaram amostras adicionais da água, bem como do fígado e sangue de pacientes que morreram, sendo detectada a presença da microcistina-LR produzido pela microalga *Microcystis aeruginosa*, que é altamente tóxica. Segundo Dunn (1996), a microcistina-LR causa hemorragia intra-hepática e geralmente induz a morte, ao produzir choque hipovolêmico e insuficiência hepática aguda.

Após o evento de Caruaru, testes *in vivo* foram intensificados, para obter um melhor conhecimento sobre a toxicidade e o mecanismo de ação de diferentes classes de toxinas sobre diferentes organismos testes, especialmente organismos aquáticos, como *Danio rerio* e *Daphnia*, entre outros (BAGANZ *et al.*, 1998; WIEGAND *et al.*, 1999). A partir desses resultados, foi possível realizar inferências do impacto desses compostos tóxicos sobre a biota aquática e terrestre (WALTER *et al.*, 2018). Já Rastogi *et al.* (2014) citam que os estudos envolvendo cianobactérias vem crescendo cada vez mais, sendo muitas vezes sugeridos testes *in vivo* a fim de tentar reproduzir o ambiente do organismo estudado, visto seu potencial toxicológico e seu rápido desenvolvimento, podendo muitas vezes ser letal, exigindo assim cada vez mais testes que possibilitem desenvolver técnicas mais rápidas para verificar os riscos de suas toxinas, tratamentos, e entendimento da morfologia e fisiologia dessa microalgas para assim realizar de forma efetiva seu controle. Oliveira *et al.* (2011) ressaltam a necessidade da otimização das técnicas de quantificação e identificação das cianotoxinas, além disso, também discutem sobre a necessidade de ensaios biológicos para conhecer os efeitos sistemáticos das cianotoxinas nos organismos aquáticos.

Atualmente há significativo número de institutos e pesquisadores que trabalham com cianobactérias em diferentes temáticas, tais como taxonomia, monitoramento, análise química, etc. Em função da importância e dos riscos que esses organismos representam, em decorrência da liberação na água de compostos potencialmente tóxicos, outras pesquisas foram e vem sendo desenvolvidas com o intuito de se entender mais sobre a morfologia e a toxicidade dessas microalgas. Um exemplo é o artigo escrito por Gurbuz *et al.* (2016), onde os autores provam a ocorrência do acúmulo excessivo da microcistina no fígado e tecidos musculares de peixes, um pouco na água, sedimento e plantas no entorno; demonstrando assim que os peixes são capazes de acumular toxinas e podem transferi-las por diferentes níveis tróficos (VASCONCELOS, 1995).

Os peixes são animais normalmente vulneráveis aos períodos de florações de cianobactérias. Seus fígado e rins são alvos de microcistinas. Estudos realizados com espécies de trutas, tilápias, carpas e *zebrafish* foram capazes de demonstrar alguns aspectos toxicocinéticos e toxicodinâmicos, das microcistinas nos organismos, desconhecidos até então (WIEGAND; PFLUGMACHER, 2005). Entretanto, ainda são necessários mais estudos para verificar as suscetibilidades específicas, tanto para microcistinas quanto para as demais cianotoxinas.

Sun *et al.* (2018) e Prescott (1948), apresentaram evidências que sugerem a possibilidade das mortes de peixes, sendo causadas pela ação tóxica de *Aphanizomenon flos-aquae* em decomposição. Dados experimentais coletados pelos autores indicam que os peixes usados em seus experimentos não foram mortos pela ausência de oxigênio dissolvido. Em condições naturais, as algas seriam decompostas

pela ação bacteriana, com o potencial de reduzir a concentração de oxigênio dissolvido a níveis críticos, resultando em peixes mortos (BOYD *et al.*, 2018).

Assim como em peixes e anfíbios, os moluscos bivalves e o zooplâncton também sofrem os efeitos da exposição a cianobactérias, pelo fato desses organismos filtrarem parte de água, bioacumulando toxinas (WIEGAND; PFLUGMACHER, 2005). Todavia, a capacidade de depuração de alguns moluscos impressiona. A espécie *Dreissena polymorpha*, durante um período de floração de cianobactérias tóxicas, é capaz de produzir pseudofeces (partículas que não são assimiladas pelos organismos, e que são expelidas, integradas a muco) e eliminar células produtoras de toxinas (DIONÍSIO-PIRES; VAN DONK, 2002). Vanderploeg *et al.* (2001) mostrou que a filtração seletiva por parte deste organismo eliminava, através das pseudofeces, células intactas de *Microcystis aeruginosa*, fato que poderia contribuir para o retorno da cianobactéria para a coluna d'água, observando também que as pseudofeces eram facilmente ressuspensas em água e ainda continham células viáveis de *Microcystis* (JUHEL *et al.*, 2006).

As cianobactérias também podem causar efeitos adversos a outros vertebrados aquáticos. Oberemm *et al.* (1999) testaram os efeitos de cepas de cianobactérias em dois anfíbios caudados e em uma espécie de rã. Os autores comprovaram que quando expostos a longos períodos (35 dias), resultaram em membros inferiores menos desenvolvidos. As evidências de bioacumulação e toxicidade de cianotoxinas para outros vertebrados aquáticos, como répteis e aves, são muito escassas, e a literatura é baseada principalmente em relatos de mortalidade em massa de pássaros e aves aquáticas, insuficientemente ligada à presença de cianotoxinas. Revisões sobre envenenamento de pássaros podem ser encontrado em Stewart *et al.* (2008) e em Ibelings; Havens (2008).

Branco (1959), detalhou em sua publicação sobre toxicologia de algas, a importância na classificação das algas, para entender os efeitos de toxinas sobre os animais, sobre o homem, a variação da toxidez, o controle das toxinas na água de abastecimento e as consequências do ponto de vista da saúde pública. Nessa publicação de 1959, o autor também enfatizou que há tempos já se estudava, mas era preciso ampliar o conhecimento sobre a fisiologia das microalgas. Há também que desenvolver estudos visando controlar a quantidade de cianobactérias, de forma a não impactar o ambiente, tentando sempre utilizar formas naturais e não agressivas de controle, visto que uma vez que tudo que é utilizado para controlar o crescimento irá se depositar no sedimento, como observado por Leal *et al.* (2018), pelo uso de sulfato de cobre para o crescimento de algas. Em decorrência das constantes aplicações do sulfato de cobre, esses autores observaram elevadíssimas concentrações de cobre no sedimento superficial do reservatório Guarapiranga (Brasil), com cerca de 80 % de sua área com concentrações acima de PEL (*probable effect level*).

Domogalla (1952) publicou um artigo intitulado: “Matando algas na água com sais de cobre alcanolaminas,” porém, os questionamentos que deveriam ser feitos são: será que esse componente químico não afetará a flora, a fauna e a qualidade da água? Será que essa substância não voltaria para as mesas como alimento e seria potencialmente prejudicial à saúde humana? Esses questionamentos feitos aqui, bem como diversos outros no campo da ciência investigativa, devem ser feitos com base em hipóteses antes de se desenvolver uma pesquisa. No caso de estudos direcionados aos ecossistemas aquáticos, o ideal seria ter uma avaliação limnológica como estudo complementar, tanto da fauna, flora, como de todo ambiente no entorno, visando obter respostas sobre os danos a longo, médio e curto prazo, para o homem e ao ecossistema.

Pela alta frequência e ocorrência de eventos de florações de cianobactérias produtoras de toxinas hepatotóxicas, a Organização Mundial da Saúde (OMS) apontou a necessidade do monitoramento de microcistinas durante o processo de gestão de água, visando a garantia de sua qualidade da água para o consumo humano. Em 1999, a OMS estabeleceu o limite máximo aceitável de 1,0 µg/l para toxinas de cianobactérias em águas destinadas ao consumo humano, sendo este valor correspondente ao somatório das concentrações de todas as variantes detectadas e de 3 µg equivalente de saxitoxina por litro. Além dessas concentrações, quando detectada a presença de gêneros produtores de cilindrospermopsina ou Guanitoxina, é recomendada a análise da referida cianotoxina, observando valor máximo aceitável de cilindrospermopsina, porém, não se refere a concentração de anatoxina-a(S), somente recomendando-se a análise da presença da mesma (BRASIL, 2011).

Cada vez há mais interesse nos estudos sobre os efeitos tóxicos das microalgas de água doce nos animais, em parte por causa dos aumentos no número de casos de envenenamento animal relacionados à proliferação de algas. Von Sperling (1995) diz ainda que, outra fonte de interesse origina-se de uma apreciação crescente dos problemas estritamente científicos e biológicos que envolvem a fisiologia das algas, especialmente aquelas que produzem substâncias tóxicas, antibióticos e excreções estimuladoras do crescimento. Os esgotos domésticos constituem uma das principais preocupações, uma vez que o seu lançamento sem tratamento causa sérios problemas à qualidade de vida e coloca em risco o abastecimento de água da população, por causa da eutrofização das águas (TORREMORELL *et al.*, 2021) e da disseminação de doenças. Além das implicações causadas pelas cianobactérias e o excesso de nutrientes aos recursos hídricos, é necessário considerar, também, a contribuição dos agrotóxicos e dos metais disponíveis. Devendo assim, serem criadas e aplicadas normativas cada vez mais consistentes a fim de controlar a quantidade da carga despejada nesses ambientes. É imprescindível instituir e aprimorar normas que imponham medidas para manter os corpos de água minimamente utilizáveis, garantindo sua sustentabilidade no longo prazo.

LEGISLAÇÃO

Há legislação que obriga o monitoramento de cianobactérias e de coliformes no Brasil (CONAMA 357/2005, CONAMA 247/2000; Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021). No caso dos coliformes, o monitoramento visa evitar a contaminação no abastecimento público e garantir a segurança no contato primário, principalmente. No caso das cianobactérias, a Portaria GM/MS nº 888 “se aplica à água destinada ao consumo humano proveniente de sistema e solução alternativa de abastecimento de água”, com a finalidade maior de acompanhar o desenvolvimento de organismos potencialmente tóxicos, particularmente as cianobactérias. Diferentemente do olhar meramente utilitarista do recurso hídrico, é importante aplicar uma abordagem ecológica tanto no monitoramento como no manejo, visto as interações que ocorrem entre todos os componentes do ecossistema, a biota e o meio físico, pois, como apontado por Straškraba e Tundisi (2000), a conservação da qualidade e quantidade das águas de reservatórios é um problema complexo e que demanda um conhecimento científico integrado e interdisciplinar.

Esta visão ecológica permitirá integrar todos os componentes e compartimentos do ecossistema, e não apenas um aspecto, o controle do crescimento de cianobactérias, por exemplo, o que garantirá sustentabilidade ambiental no longo prazo. Nesse sentido, as normativas que preconizam o monitoramento e manejo visando a manutenção dos bons potenciais químico e ecológico de reservatórios, segundo a Diretiva Quadro da Água, por exemplo (EC, 2000; MOSS, 2008; CARDOSO-SILVA *et al.*, 2013), são muito promissoras e inovadoras.

A Resolução Conama 357 (Brasil, 2005), dispõe de forma mais aprofundada sobre a classificação dos corpos de água conforme o tipo de uso e dá diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Segundo essa Resolução, a qualidade das águas dos reservatórios do Sistema Cantareira, (São Paulo, Brasil), por exemplo, é enquadrada como Classe 1, que são águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado. Para a Classe 1 o limite superior para a presença de cianobactérias é de 20.000 células/ml. No entanto, para boa parte do ano, segundo Pompêo *et al.* (2021), os reservatórios Jaguari, Jacarei e Cachoeira não estão em conformidade à classe de enquadramento, sendo observados elevados números de células de cianobactérias. Em alguns períodos do ano esses reservatórios estão enquadrados à Classe 2, 3 e às vezes até a 4, a menos restritiva das classes.

Segundo o Conama 357, o número de células de cianobactérias máximo permitido é de 50.000 células /ml para a Classe 2. Para a Classe 3 é de 100.000 células/ml e não há limite superior para o número de células para a Classe 4. À Classe 2 é destinado o uso para o abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; à Classe 3 destinada ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; e à Classe 4 é destinada apenas à navegação e à harmonia paisagística e não poderá ser empregada para o abastecimento público.

A Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021 (BRASIL, 2021), altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e

de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Essa portaria determina que se a contagem de células de cianobactérias representar 10% ou mais do fitoplâncton, deve ser realizado monitoramento semanal de cianobactérias no manancial, no ponto de captação. Quando a contagem de células de cianobactérias exceder 10.000 células/ml, o monitoramento em mananciais superficiais de abastecimento de água deve ser semanal. Quando a contagem de células de cianobactérias exceder 20.000 células/ml, deve-se realizar análise das cianotoxinas microcistinas, saxitoxinas e cilindrospermopsinas no ponto de captação com frequência no mínimo semanal. Deste modo, baseado nos números de células de cianobactérias estimados nos reservatórios do Sistema Cantareira (Pompêo *et al.*, 2021), estes em algum momento têm a necessidade de acompanhamento complementar, com avaliações quantitativas semanais dos teores de cianotoxinas. No entanto, esta portaria traz um retrocesso, quando comparado com a normativa anterior, pois no § 3º discorre que “alternativamente ao monitoramento de cianobactérias pode ser realizado o monitoramento semanal de cianotoxinas na água bruta (entrada da ETA)” e no inciso I, “quando o monitoramento de cianotoxinas for realizado semanalmente na água bruta, fica dispensada a realização do monitoramento de cianobactérias e clorofila-a no ponto de captação”. Deste modo, caso sejam analisadas apenas as cianotoxinas no ponto de captação, a legislação não exigirá acompanhar o crescimento das cianobactérias. Isso é muito preocupante, pois é fundamental ter uma análise qualitativa e quantitativa do fitoplâncton presente, em especial das cianobactérias, para a construção de um sólido programa de manejo ambiental. Com base nesta legislação, foi reduzida a qualidade da informação ambiental, passando a ser apenas a quantificação de cianotoxinas, excluindo ainda a possibilidade de monitorar o reservatório como um todo, mas apenas o ponto de captação.

O monitoramento ambiental, inserido num programa de gestão da qualidade das águas e das comunidades constituintes do entorno do reservatório, tem que ser entendido como um passo essencial e anterior ao próprio manejo, pois espera-se que estudos prévios, decorrentes da contínua avaliação no campo (o monitoramento), melhor disciplinem as tomadas de decisões para as ações de controle (o manejo) com vistas aos tratamentos diversificados, compreendendo as aplicações de agentes físicos (temperatura, radiação, filtração, dessecação, remoção de oxigênio, vibração ultrassônica etc.), químicos (reagentes químicos, substâncias nocivas, etc.) ou biológico no controle do crescimento de qualquer outro organismo aquático, conforme preconiza a CONAMA 467, se necessário e provado a sua eficácia (POMPÊO, 2017).

É fundamental a continuidade do monitoramento após tomadas as medidas de controle, como um mecanismo de *feedback*, permitindo acompanhar sua efetividade e seu impacto no corpo d'água e sobre os organismos, as espécies alvo e não alvo da ação de controle e, com base nos acontecimentos futuros, decidir se serão aplicadas novas medidas corretivas ou paliativas, se necessárias (POMPÊO, 2017).

OCORRÊNCIA DE CIANOTOXINAS EM RESERVATÓRIOS NO BRASIL

Durante as florações, as cianobactérias atingem densidades superiores à $10^5 - 10^7$ células.ml⁻¹, provocando a formação de uma densa camada verde sobre a superfície dos reservatórios, afetando a biota e a qualidade da água (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020). Conforme discutido anteriormente, as implicações das florações não se resumem aos impactos ambientais, vão mais além, principalmente quando os eventos ocorrem em reservatórios destinados para diversos usos e principalmente para o consumo humano. Vale reforçar que a legislação brasileira apenas legisla sobre algumas cianotoxinas, isso implica em possíveis problemas decorrentes destas toxinas não legisladas atingirem aos consumidores (humanos e animais).

No Brasil, existem diversos relatos de presença de cianobactérias em reservatórios, conforme descrito por Teixeira *et al.* (1993), Hirooka *et al.* (1999), Chellappa *et al.* (2000), Matthiensen *et al.* (2000), Azevedo *et al.* (2002), Carvalho *et al.* (2007), Moschini-Carlos *et al.* (2009), Guedes *et al.* (2014), Lopes *et al.* (2017). O estudo publicado por Teixeira *et al.* (1993) descreve que entre março e abril de 1988 houve florações de cianobactérias no reservatório de Itaparica (Bahia) e que, provavelmente em decorrência deste evento, 200 pessoas foram intoxicadas pelo consumo de água contaminada e 88 pessoas vieram a óbito.

Os reservatórios do estado de São Paulo, também são exemplos de ambientes sujeitos aos *blooms* de cianobactérias, já que, por conta da entrada constante de efluentes domésticos e industriais sem tratamento e a lixiviação de fertilizantes de áreas agrícolas do entorno, apresentam aumento do seu estado

trófico (CUNHA; CALIJURI, 2011; CUNHA *et al.*, 2011). Esse cenário propicia ambiente ideal para o crescimento desordenado das cianobactérias. Segundo Carvalho *et al.* (2007), entre os anos de 2000 e 2001, nas águas superficiais dos reservatórios Billings e Guarapiranga foram constatadas a presença de cianobactérias, apesar da biodiversidade e o número de espécies potencialmente tóxicas serem maiores na Billings do que no Guarapiranga. No Guarapiranga a presença de microcistina dissolvida foi detectada apenas uma vez, em uma amostra contendo *Microcystis*. Segundo os autores, os resultados condizem com as florações que são observadas com maior frequência na Billings (MOSCHINI-CARLOS *et al.*, 2009).

Em 2019, Sonobe *et al.* (2019) avaliaram variáveis da água de relevância sanitária em sete reservatórios utilizados para captação de água bruta para o abastecimento público monitorados pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) em São Paulo. Os autores constataram que os reservatórios se apresentaram predominantemente eutrofizados durante o período analisado, segundo o Índice de Estado Trófico (IET). Com relação à presença de cianobactérias, as maiores densidades de cianobactérias foram observadas nos reservatórios Billings, Ituparanga, Cascata e Guarapiranga, respectivamente de 277.132, 169.671, 177.996 e 50.247 células.ml⁻¹ (SONOBE *et al.*, 2019). Estes números sugerem que a ocorrência desses microrganismos é comum e que as densidades frequentemente ultrapassaram o limite de 50.000 células.ml⁻¹ estabelecido pela Resolução CONAMA nº 357/2005. Sonobe *et al.* (2019) ainda observaram florações tóxicas e a presença de microcistina, principalmente nos reservatórios Billings e Cascata. No reservatório Jaguari foram observadas concentrações acima de 1 µg.l⁻¹, concentração acima do permitido segundo a legislação vigente para água de consumo.

Além dos problemas relacionados a cianobactérias, destaca-se também as questões de gosto e odor, que são mais observados pelos consumidores, além de serem de maior dificuldade de controle, normalmente associados aos compostos orgânicos originários de fontes biogênicas (ORTENBERG; TELSCH, 2003; SMITH, 2011; ZAMYADI *et al.*, 2015). Dentre os compostos gerados por cianobactérias que conferem um gosto de terra, gramíneo ou mofo à água de abastecimento, destacam-se MIB (2-metil-isoborneol - C₁₁H₂₀O) e Geosmina (trans⁻¹, 10- dimetil-trans-9 decalol - C₁₂H₂₂O) (ORTENBERG; TELSCH, 2003; EDZWALD, 2011; CRITTENDEN *et al.*, 2012; SU *et al.*, 2015; ZAMYADI *et al.*, 2015). Apesar de não serem tóxicos aos seres humanos, como outros compostos orgânicos (DIONIGI *et al.*, 1993; HO *et al.*, 2012), a presença de MIB e de Geosmina deve ser controlada, porque são perceptíveis pelos consumidores em baixas concentrações (LLOYD *et al.*, 1998; SRINIVASAN; SORIAL, 2011).

O lançamento de esgoto sem tratamento contribui diretamente para o aporte de nutrientes, chave para o intenso crescimento do fitoplâncton e das cianobactérias, em particular. Esta prática precisa ser urgentemente descontinuada, com a necessidade de constantes estudos utilizando microalgas (SILVEIRA *et al.*, 2019; DA SILVA *et al.*, 2021) e as cianobactérias (DE SOUSA *et al.*, 2020; JUNIOR *et al.*, 2018).

MÉTODOS DE DETECÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E REMOÇÃO DE CIANOTOXINAS

Neste tópico, serão apresentados de modo simplificado alguns métodos empregados na detecção e na quantificação de cianotoxinas, como o Método ELISA, Carvão ativado em pó, Osmose reversa e membranas de microfiltração, nanofiltração e ultrafiltração, Processos oxidativos avançados e Coagulação e Floculação. Os métodos geralmente empregados na detecção e quantificação das cianotoxinas podem ser de natureza biológica, bioquímica ou ainda físico-química. Portanto, cada método se baseia em uma determinada propriedade. Pesquisadores brasileiros muito tem contribuído nesse campo, colaborando com agências reguladoras na identificação, monitoramento e quantificação de cianotoxinas em sistemas híbridos, especialmente os que são destinados à captação de água para o abastecimento público, cujos estudos se baseiam em cianobactérias, métodos de quantificação, determinação e demais metodologias, (PINTO *et al.*, 2000; PINTO *et al.*, 2003; PINTO *et al.*, 2011; FELIZARDO *et al.*, 2020; GUAJARDO-BARBOSE, 2018; GERALDES *et al.*, 2020; GERALDES; PINTO, 2021).

Método ELISA e Cromatografia a Líquido e a Gás acoplada à Espectrometria de Massas

O método ELISA é um método bioquímico, que quando aplicado para cianotoxinas é conhecido por ADDA-ELISA. Este nome se deve ao mecanismo de ação desempenhado durante o ensaio, no qual são utilizados anticorpos direcionados ao aminoácido ADDA, presente em todas as microcistinas e

nodularinas, sendo possível assim, detectar e medir semi-quantitativamente as microcistinas presentes na amostra (BIRBECK *et al.*, 2019; GUO *et al.*, 2017). É um método muito sensível e de baixa especificidade, bastante utilizado em amostras ambientais, já que é capaz de detectar concentrações baixas de microcistinas (MSAGATI *et al.*, 2006; GERALDES *et al.*, 2020).

Já os métodos físico-químicos se baseiam nas propriedades físico-químicas das cianotoxinas, como a presença de cromóforos ultravioletas nas suas estruturas e também nos seus respectivos pesos moleculares. Dentre as técnicas utilizadas estão a cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC - *High Pressure Liquid Chromatography*) e Cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas (LC-MS - *Liquid Chromatography and Mass Spectrometry*) (MSAGATI *et al.*, 2006).

A técnica de HPLC é popular devido à sua capacidade de efetuar determinações precisas e separar os compostos não voláteis, e ao facto de possuir uma grande aplicabilidade a substâncias com interesse para a indústria e a investigação científica. É uma técnica moderna e cara, mas valiosa visando a determinação dos metabolitos secundários potencialmente tóxicos das cianobactérias (LINO *et al.*, 2006; SMITH, 2018), sobretudo aplicada a amostras naturais, onde as percentagens de recuperação destes compostos podem ser afetadas pela composição da matriz da amostra (RODRIGUES *et al.*, 2013).

A cromatografia gasosa (GC), ocorre com detecção de captura de elétrons (STEVENS; KRIEGER, 1988), permitindo que as cepas de cianobactérias que produzem geosmina e MIB possam ser identificadas usando SPME GC-MS (SUURNÄKKI *et al.*, 2015). A técnica de GC é comumente empregada para análise de compostos voláteis, termicamente estáveis e/ou com baixo peso molecular, enquanto que HPLC permite a análise de uma gama mais ampla de analitos, incluindo não-voláteis, termolábeis e/ou com elevado peso molecular (WU; FRENCH, 2013). Apresenta alta especificidade e resultados com altos índices de confiabilidade, apesar de requerer um grande investimento em equipamentos e em mão de obra especializada (BRANDHORST *et al.*, 2012; OEHRLE *et al.*, 2010).

Carvão ativado em pó

Uma associação do processo de flotação com adsorção em carvão ativado, pode ser uma alternativa para a remoção das toxinas produzidas pelas cianobactérias em águas de abastecimento público. As toxinas na forma intracelular seriam removidas pela flotação e as dissolvidas, ou seja, na forma extracelular, seriam removidas pela adsorção em carvão ativado (EPA, 2014; FERREIR; DANIEL, 2004).

Entre as vantagens do carvão ativado está o fato de ser o mais efetivo na eliminação de cianobactérias e conseqüentemente de toxinas, porém, a elevada diversidade de estruturas e propriedades dos carvões ativados afeta a sua capacidade de adsorção. Tornando-se necessária a caracterização de diferentes carvões a fim de conhecer suas potencialidades na adsorção dos poluentes-alvo como a microcistina (SILVA, 2005).

Osmose reversa e membranas de microfiltração, nanofiltração e ultrafiltração

O método de osmose reversa associado às membranas de microfiltração, nanofiltração e ultrafiltração é uma forma eficiente para remover tanto cianotoxinas quanto as células em amostras de água. Contudo, um fator bastante limitante para o emprego desta tecnologia está relacionado ao seu alto custo (MULLER *et al.*, 2018). A osmose reversa nada mais é que um processo em que a água é forçada sob pressão, através de uma membrana semipermeável formada por filmes poliméricos contendo hidrofílicos. A água obtida por este processo é considerada de altíssima pureza química e microbiológica, sendo, inclusive, recomendada para o uso em clínicas de hemodiálise (SANCHES *et al.*, 2012).

Processos oxidativos avançados

Considerando a complexidade do processo de remoção de cianotoxinas em sistemas de tratamento de água, uma opção eficaz e segura que tem sido aplicada é a combinação de um processo oxidativo avançado com processos físico-químicos convencionais de reservatórios (ANTONOPOULOU *et al.*, 2014). Dentre os processos oxidativos avançados que existem disponíveis hoje, pode-se citar radiação

ultravioleta (UV), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), reação de Fenton, fotocatalise, ozônio (O_3), dióxido de titânio (TiO_2) e feixe de elétrons. Esses processos podem ser aplicados individualmente ou associados. O mecanismo de ação desses processos favorece a degradação de espécies orgânicas pela ação do radical hidroxila (OH) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; FIOREZE *et al.*, 2014).

Coagulação e Floculação

No sistema de tratamento convencional, a etapa de coagulação-floculação é considerada um dos processos mais importantes no tratamento químico da água, uma vez que esta etapa impactará na eficiência das etapas subseqüentes, como a sedimentação ou flotação e a filtração. A principal função desta etapa é facilitar a remoção de cor e turbidez presentes nas águas naturais, na maioria das vezes, decorrentes da presença de substâncias húmicas e coloides, além da eliminação de bactérias, vírus, patógenos e do plâncton e de substâncias responsáveis pelo sabor e odor na água (ARBOLEDA, 1992).

A floculação corresponde a aglomeração das partículas desestabilizadas na etapa de coagulação, formando flocos com tamanho e densidade adequadas para serem removidos por sedimentação, flotação ou filtração. Enquanto na coagulação ocorre a desestabilização das partículas por meio de reações químicas entre o coagulante e os coloides, a floculação é responsável pelo transporte das partículas, causando a colisão necessária entre elas e a subseqüente agregação ou dispersão dos flocos (JIN, 2005).

A coagulação anula as forças de repulsão entre as partículas coloidais, por meio de mecanismos de ligação e adsorção na superfície da partícula coloidal, pela adição de agentes químicos, denominados de eletrólitos (CPRH, 2001). Segundo Di Bernado; Dantas (2005), para que o processo de coagulação seja eficiente, este deve ser realizado por meio de agitação intensa (mistura rápida) para que ocorram interações entre o coagulante e a água (efluente).

A floculação das partículas já coaguladas pela ação do eletrólito resulta das várias forças de atração que atuam entre as partículas, que se agregam umas às outras, formando os denominados flocos. A velocidade de formação desses flocos, no início, depende do movimento Browniano e, ao atingirem um tamanho de cerca de 0,1 mm, depende também da agitação mecânica do meio. Evidentemente, essa agitação mecânica deve ser em nível moderado (mistura lenta), pois, do contrário, poderá provocar a desagregação dos flocos já formados, o que dificultará a sua remoção (CPRH, 2001).

CONCLUSÃO

A disponibilidade de água de qualidade para o consumo humano é essencial para o desenvolvimento social e econômico. Entretanto, com a expansão das atividades industriais e agrícolas, houve um incremento de nutrientes nos corpos d'água, especialmente na região sudeste do Brasil. Além disso, o despejo de esgoto sem tratamento, continua sendo um problema no Brasil e um grande desafio para gestores e formuladores de políticas públicas (POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS, 2012, 2020; TORREMORELL *et al.*, 2021). Nesse cenário de poluição aquática, o ser humano criou um ambiente bastante favorável para o desenvolvimento de cianobactérias, que trazem dificuldades para os processos que visem a potabilidade da água, aumentando os custos de tratamento, além dos perigos inerentes às intoxicações potenciais por toxinas. O despejo de esgoto sem tratamento, o subseqüente enriquecimento pelo aporte de nutrientes exógenos e os atuais procedimentos de gestão dos recursos hídricos brasileiros, não tem contribuído para o melhor controle do *bloom* de cianobactérias.

A toxicidade potencial das cianobactérias, pela presença de suas cianotoxinas, é um risco para a população e para a biota aquática. Assim, o monitoramento dos mananciais é uma ferramenta básica, fundamental e mais confiável para a manutenção da qualidade da água, sendo importante melhorar a gestão e a governança dos recursos hídricos, instituindo políticas de universalização da coleta e do tratamento dos esgotos, pelo menos. Tratar a água bruta, em eficientes estações de tratamento de água para o consumo humano, é importante etapa, mas a posteriori. Há que monitorar a qualidade da água bruta, não apenas no ponto de captação, e garantir sólido programa de manejo específico para o controle do crescimento das cianobactérias, mas também garantindo o monitoramento e o manejo das demais

comunidades, como o fitoplâncton, no geral, o zooplâncton e os peixes, por exemplo, o que garantirá a sustentabilidade do manancial no longo prazo.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, M. V. C.; CARTAXO, A. S. B.; SILVA, M. C. C. P. e; RAMOS, R. O.; SÁTIRO, J. R.; LOPES, W. S. Remoção de cianobactérias e cianotoxinas presentes em águas de reservatórios eutrofizados por processos oxidativos avançados (POAs). **Brazilian Journal of Development**. v. 6, n. 8, p. 61234- 61248, 2020.
- ANTONOPOULOU, M. *et al.* A review on advanced oxidation processes for the removal of taste and odor compounds from aqueous media. **Water research**. v. 53, p. 215- 234, 2014
- ARBOLEDA, J. V. **Teoría y Práctica de la Purificación del Agua**. Asociación Colombiana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental – ACODAL, 684p., 1992.
- ARTHUR, J. C. **Second report on some algae of Minnesota supposed to be poisonous**. Fourth Biennial Rept. of Board of Regents, Univ. of Minn., Suppl. I, Dept. of Agriculture, p. 109, 1886a.
- ARTHUR, J. C. Some algae of Minnesota supposed to be poisonous. **Journal of the Minnesota Academy of Science**. v. 3, n. 1, p. 97-103, 1886.
- AZEVEDO, S.M.F.O.; CARMICHAEL, W.W.; JOCHIMSEN, E.M.; RINEHART, K.L.; LAU, S.; SHAW, G.R.; EAGLESHAM, G.K. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru - Brazil. **Toxicology**. v. 181-182, p. 441- 446, 2002.
- BAGANZ, D.; STAAKS, G.; STEINBERG, C. Impact of the cyanobacteria toxin, microcystin-LR on behaviour of zebrafish, *Danio rerio*. **Water Research**, 32(3), 948-952, 1998.
- BARRETO, V.; LIRA, V.; FIGUEIREDO, J.; FITTIPALDI, H.; JUCA, N.; GAYOTTO, L. C.; RAPOSO, F.; BARBOSA, J.; HOLMES, C.; CARDO, D.; AZEVEDO, S.; CARMICHAEL, W. W. Caruaru syndrome — a previously undescribed form of acute toxic liver-disease in humans caused by microcystin-LR with a high lethality rate. **Hepatology**. v. 24, n. 244, 1996.
- BIRBECK, J. A.; WESTRICK, J. A.; O'NEILL, G. M.; SPIES, B.; SZLAG, D. C. Comparative Analysis of Microcystin Prevalence in Michigan Lakes by Online Concentration LC/MS/MS and ELISA. **Toxins**. v. 11, n. 13, 2019.
- BOYD, C. E.; TORRANS, E. L.; TUCKER, C. S. Dissolved oxygen and aeration in ictalurid catfish aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 49, n. 1, p. 7-70, 2018.
- BRANCO, S. M. Algas tóxicas-controle das toxinas em águas de abastecimento. **Revista do Departamento de Água e Esgoto de São Paulo**, v. 20, p. 47-53, 1959.
- BRANDHORST, G.; OELLERICH, M.; MAINE, G.; TAYLOR, P.; VEEN, G.; WALLEMACQ, P. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry or Automated Immunoassays: What Are the Future Trends in Therapeutic Drug Monitoring? **Clin. Chem.**, v.58, n.5, p. 821- 825, 2012.
- BRASIL, **Portaria MS n. 2.914/2011**, Ministério da Saúde, Série E. Legislação de Saúde, Brasília, DF, 2012, Disponível em: <http://177.153.6.85/portaria2914/theme/documentos/002.pdf>.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente **Resolução CONAMA nº. 357/2005**, 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.
- BRASIL. **Portaria GM/MS nº 888**, de 4 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017 Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
- BRASIL. **Portaria de consolidação de nº de 28** de setembro de 2017 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, 2017.
- BULLERJAHN, G. S.; POST, A. F. Physiology and molecular biology of aquatic cyanobacteria. **Front. Microbiol.** v. 5, n. 359, 2014.

- BURKE, W. A.; TESTER, P. A.; Skin problems related to non-infectious coastal microorganisms. **Dermatologic Therapy**. v. 15, p. 10- 17, 2002.
- BURKHOLDER, J. M.; SHUMWAY, S. E.; GLIBERT, P. M. Food web and ecosystem impacts of harmful algae. **Harmful Algal Blooms**, p. 243-336, 2018.
- CAMACHO, F. P. *et al.* Remoção de *Microcystis aeruginosa* e microcistina em água eutrofizada através do processo combinado de coagulação/floculação seguido de nanofiltração. **E-xacta**. v. 6, n. 2, p. 45- 53, 2013.
- CAMPOS, A.; VASCONCELOS, V. Molecular mechanisms of microcystin toxicity in animal cells. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 11, n. 1, p. 268-287, 2010.
- CAMPOS, F. M.; DUARTE, L. M. **Cianobactérias: um panorama geral**. Ecodebate. Cidadania e Meio Ambiente. 2011. Disponível em: <<https://www.ecodebate.com.br/2011/10/28/cianobacterias-um-panorama-geral-artigo-de-fernanda-de-matos-campos-e-lourdes-maria-duarte/>>. Acesso em: 29 mar. 2021.
- CARDELLINA, J. H.; MARNER, F.-J.; MOORE, R. E. Seaweed dermatitis: structure of lyngbyatoxin A. **Science**, v. 204, n. 4389, p. 193-195, 1979.
- CARDOSO-SILVA, S.; FERREIRA, T.; POMPÊO, M. Diretiva Quadro da Água: uma revisão crítica e a possibilidade de aplicação ao Brasil, **Ambiente & Sociedade**, v.16, n.1. p. 39-58, 2013.
- CARMICHAEL, W. W.; BOYER, G. L. Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. **Harmful Algae**. v. 54, p. 194- 212, 2016.
- CARMICHAEL, W. W.; AZEVEDO, S. M.; AN, J. S.; MOLICA, R. J.; JOCHIMSEN, E. M., LAU, S.; RINEHART, K. L.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G.K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health Perspectives**. v. 109, n. 7, p. 663-668, 2001.
- CARMICHAEL, W.W. The toxins of cyanobacteria. **Scientific American**. v. 270, n. 1, p. 64-70, 1994.
- CARVALHO, L. R.; SANT'ANNA, C. L.; GEMELGO, M. C. P.; AZEVEDO, M. T. P. Cyanobacterial occurrence and detection of microcystin by planar chromatography in surface water of Billings and Guarapiranga Reservoirs, SP, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 30, n. 1, p. 141- 148, 2007.
- CASTRO, G. B. *et al.* Is the development of *Daphnia magna* neonates affected by short-term exposure to polyethylene microplastics? **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 55, n. 8, p. 935-946, 2020.
- CHELLAPPA, N. T.; COSTA, M. A. A. M.; MARINHO, I. R. Harmful cyanobacterial blooms from semi-arid freshwater ecosystems of Northeast Brazil. **Australian Society for Limnology**. v. 38, p. 45- 49, 2000.
- CHEN, H.; BURKE, J. M.; PREPAS, E. E. **Cyanobacterial Toxins in Fresh Waters**. Encyclopedia of Environmental Health. p. 860- 871, 2011.
- CHEUNG, M. Y.; LIANG, S.; LEE, J. Toxin-producing cyanobacteria in freshwater: A review of the problems, impact on drinking water safety, and efforts for protecting public health. **J. Microbiol.** v. 51, p. 1- 10, 2013.
- CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences**, Monitoring and Management. Routledge, London, UK. 400 p. 1999.
- CHORUS, I.; FALCONER, I. R.; SALAS, H. J.; BARTRAM, J. Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational waters. **J. Toxicol. Environ. Health Part B**. v. 3, p. 323- 347, 2000.
- COSTA, C. R. *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.
- CPRH, COMPANHIA PERNAMBUCANA DO MEIO AMBIENTE. **Roteiro Complementar de Licenciamento e Fiscalização: Tipologia Galvanoplastia**. Recife: CPRH/GTZ. 2001.
- CRITTENDEN, J. C.; TRUSSELL, R. R.; HAND, D. W.; HOWE, K. J.; TCHOBANOGLIOUS, G. **Water Treatment: Principles and Design**. 3o ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2012.

CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, M. C. Variação sazonal dos grupos funcionais fitoplanctônicos em braços de um reservatório tropical de usos múltiplos no estado de São Paulo (Brasil). **Acta Botanica Brasilica**. v. 25, n. 4, p. 822-831, 2011.

CUNHA, D. G. F.; GRULL, D.; DAMATO, M.; BLUM, J. R.; LUTTI, J. E.; EIGER, S.; MANCUSO, P. C. S. Trophic state evolution in a subtropical reservoir over 34 years in response to different management procedures. **Water Science and Technology**. v. 64, n. 12, p. 2338-2344, 2011.

DA COSTA, R. L. et al. Florações de cianobactérias potencialmente tóxicas em tanques de pisciculturas da região centro sul do estado de mato grosso. **Biodiversidade**, v. 16, n. 1, 2017.

DA SILVA MIRANDA, M. A. **Ocorrência de cianobactérias e cianotoxinas na água de cinco importantes rios no Estado de Minas Gerais-Brasil**. 2014.

DA SILVA, V. C. et al. O potencial da biorremediação baseada em microalgas para o tratamento de efluentes contaminados: uma revisão bibliográfica sistemática. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v. 2, n. 3, p. 19-19, 2021.

DE ALMEIDA, J. M.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P. Efeitos de cianobactérias tóxicas em ambientes aquáticos. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 14, n. 2, 2018.

DE SOUSA, E. B. et al. Composição, riqueza e índices ecológicos do fitoplâncton do lago Bolonha (Belém, Pará). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 3263-3275, 2020.

DEVLIN, J. P.; EDWARDS, O. E.; GORHAM, P. R.; HUNTER, N. R.; PIKE, R. K.; STAVRICH, B. Anatoxin-a a toxic alkaloid from *Dolichospermum flos-aquae* NRC-44h. **Canadian Journal of Chemistry**. v. 55, p. 1367- 1371, 1977.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água**. 2ª ed., v. 1. São Carlos: Rima. 2005.

DIONIGI, C. P.; LAWLOR, T. E.; MCFARLAND, J. E.; JOHNSEN, P. B. Evaluation of geosmin and 2-methylisoborneol on the histidine dependence of TA98 and TA100 *Salmonella typhimurium* tester strains. **Water Research**, v. 27, n. 11, p. 1615–1618, 1993.

DIONISIO PIRES, L. M.; VAN DONK, E. Comparing grazing by *Dreissena polymorpha* on phytoplankton in the presence of toxic and non-toxic cyanobacteria. **Freshwater Biology**, v. 47, n. 10, p. 1855-1865, 2002.

DITTMANN, E.; WIEGAND, C. Cyanobacterial toxins - occurrence, biosynthesis and impact on human affairs. **Molecular Nutrition Food Research**. v. 50, n. 1, 7- 17, 2006.

DOMOGALLA, B. **Killing algae in water with copper alkanolamne salts**. United States Patent Office. v. 270, n. 733,1952.

DUNN, J. Algae kills dialysis patients in Brazil. **BMJ**. v. 312, p. 1183- 1186, 1996.

EC - European Commission (2000) **Directive 2000/60/EC** of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy. Official Journal 22, December 2000 L 327/1. European Commission, Brussels.

EDZWALD, J. K. (ORG.). **Water Quality & Treatment: A Handbook on Drinking Water**. 6o ed. New York, 2011.

EILER, A.; DRAKARE, S.; BERTILSSON, S.; PERNTHALER, J.; PEURA, S.; ROFNER, C.; SIMEK, K.; YANG, Y.; ZNACHOR, P.; LINDSTRÅM, E. S. Unveiling distribution patterns of freshwater phytoplankton by a next generation sequencing based approach. **PLoS One**. v. 8, e53516, 2013.

ELLIOTT, J. A. Is the future blue-green? A review of the current model predictions of how climate change could affect pelagic freshwater cyanobacteria. **Water Res**. v. 46, p. 1364- 1371, 2012.

EPA – United States Environmental Protection Agency. **Cyanobacteria and Cyanotoxins: Information for Drinking Water Systems**. 2014. https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-08/documents/cyanobacteria_factsheet.pdf

ERIKSEN, N. T. Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology biotechnology, foods and medicine.

Appl Microbiol Biotechnol. v. 80, p.1- 14, 2008.

ESTEVES, L. M. **Meio ambiente & botânica.** Senac, 2017.

FALCONER, I. R. An overview of problems caused by toxic blue-green algae (cyanobacteria) in drinking and recreational water. **Environmental Toxicology: An International Journal.** v. 14, n. 1, p. 5- 12, 1999.

FELIZARDO, J. R. *et al.* INFLUÊNCIA DA SALINIDADE NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA E DE LIPÍDIOS DURANTE O CULTIVO DAS MICROALGAS *Tetraselmis gracilis* E *Phaeodactylum tricornutum*. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental,** v. 9, n. 01, p. 140-155, 2020.

FERNANDES, K. *et al.* Toxicity of cyanopeptides from two *Microcystis* strains on larval development of *Astyanax altiparanae*. **Toxins,** v. 11, n. 4, p. 220, 2019.

FERREIRA, I. V. L.; DANIEL, L. A. Fotocatálise heterogênea com TiO₂ aplicada ao tratamento de esgoto sanitário secundário. **Engenharia Sanitária e Ambiental.** v. 9, n. 4, p. 335- 342, 2004.

FIOREZE, M.; SANTOS, E. P.; SCHMACHTENBERG, N. Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental.** v. 18, p. 79- 91, 2014.

FRANCIS, G. Poisonous Australian Lake. **Nature.** v. 18, n. 11, 1878.

GERALDES, V. *et al.* Development and validation of a rapid LC-MS/MS method for the quantification of mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) from cyanobacteria. **Algal Research,** v. 46, p. 101796, 2020.

GERALDES, V.; PINTO, E. Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs): Biology, Chemistry and Identification Features. **Pharmaceuticals,** v. 14, n. 1, p. 63, 2021.

GRADÍSSIMO, D. G.; MOURÃO, M. M.; SANTOS, A. V. Importância do Monitoramento de Cianobactérias e Suas Toxinas em Águas Para Consumo Humano. **Revista Brasileira de Criminalística,** v. 9, n. 2, p. 15-21, 2020.

GUAJARDO-BARBOSE, C. Evaluación de la actividad antioxidante de los carotenoides totales producidos por la microalga *Haematococcus pluvialis* bajo distintos periodos de estrés. **Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina** (ISSN: 2448-8380), p. 22-22, 2018.

GUEDES, I. A.; COSTA LEITE, D. M.; MANHÃES, L. A.; BISCH, P. M.; AZEVEDO, S. M. F. O.; PACHECO, A. B. F. Fluctuations in microcystin concentrations, potentially toxic *Microcystis* and genotype diversity in a cyanobacterial community from a tropical reservoir. **Harmful Algae.** v. 39, p. 303- 309, 2014.

GUO, Y. C.; LEE, A. K.; YATES, R. S.; LIANG, S.; ROCHELLE, P. A. Analysis of microcystins in drinking water by ELISA and LC/MS/MS. **Journal American Water Works Association.** v. 109, n. 3, p. 13- 25, 2017.

GUO, Z. *et al.* Cellular taphonomy of well-preserved Gaoyuzhuang microfossils: A window into the preservation of ancient cyanobacteria. **Precambrian Research.** v. 304, p. 88- 98, 2018.

GURBUZ, F. *et al.* Occurrence of microcystins in water, bloom, sediment and fish from a public water supply. **Science of the Total Environment.** v. 562, p. 860- 868, 2016.

HALL, S.; STRICHARTZ, G. **Marine Toxins Origin, Structure, and Molecular Pharmacology.** Army Medical Research Inst of Infectious Diseases Fort Detrick Md, 1990.

HE, Y.; XU, J.; GUO, C. L. V. J.; ZHANG, Y.; MENG, W. Bioassay-directed identification of toxicants in sediments of Liaohe River, northeast China. **Environmental Pollution.** v. 219 p. 663- 671, 2016.

HIROOKA, E. Y.; PINOTTI, M. H. P.; TSUTSUMI, T.; YOSHIDA, F.; UENO, Y. Survey of Microcystins in water between 1995 and 1996 in Paraná, Brazil using ELISA. **Natural Toxins.** v. 7, n. 3, p. 103- 109, 1999.

HO, L.; SAWADE, E.; NEWCOMBE, G. Biological treatment options for cyanobacteria metabolite removal - A review. **Water Research,** v. 46, n. 5, p. 1536- 1548, 2012.

IBELINGS, B. W.; HAVENS, K. E. Cyanobacterial Toxins: A Qualitative Meta-Analysis of Concentrations, Dosage and Effects in Freshwater, Estuarine and Marine Biota. In **Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs**; Hudnell, H. K., Ed.; Springer Science: New York, NY, USA, v. 619, n. 32, p. 675- 732, 2008.

JACINAVICIUS, F. R. *et al.* Effect of ultraviolet radiation on the metabolomic profiles of potentially toxic cyanobacteria. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 97, n. 1, p. f1aa243, 2021.

JEFFREY, A. M.; LISKAMP R. M. Computer-assisted molecular modeling of tumor promoters: rationale for the activity of phorbol esters, teleocidin B, and aplysiatoxin. **P Natl Acad Sci USA**. v. 83, p. 241- 245, 1986.

JIN, Y. **Use of a high-resolution photographic technique for studying coagulation/flocculation in water treatment**. 152 p. Thesis (Master in Science in Civil and Geological Engineering) - University of Saskatchewan Saskatoon, 2005.

JOCHIMSEN, E. M. *et al.* Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **New England Journal of Medicine**. v. 338, n. 13, p. 873- 878, 1998.

JUHEL, G.; DAVENPORT, J.; O'HALLORAN, J.; CULLOTY, S.; RAMSAY, R.; JAMES, K.; FUREY, A.; ALLIS, O. Pseudodiarrhoea in zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas) exposed to microcystins. **Journal Experimental Biology**. 209, 810-816, 2006.

JUNIOR, A. R. *et al.* Composição de cianobacteria planctônicas em um reservatório de abastecimento público, Ceará, Brasil. **Desafios**, v. 5, n. 1, p. 100-110, 2018.

KALAITZIS, J. A.; CHAU, R.; KOHLI, G. S.; MURRAY, S. A.; NEILAN, B. A. Biosynthesis of toxic naturally occurring seafood contaminants. **Toxicon**. v. 56, n. 2, p. 244- 258, 2010.

KHANRA, S.; MONDAL, M.; HALDER, G. *et al.* Downstream processing of microalgae for pigments, protein and carbohydrate in industrial application: A review. **Food Bioprod Process**. v. 110, p. 60- 84, 2018.

KLEINTEICH, J. *et al.* Temperature-related changes in polar cyanobacterial mat diversity and toxin production. **Nature Climate Change**. v. 2, n. 5, p. 356- 360, 2012.

KURMAYER, R. The toxic cyanobacterium *Nostoc* sp. strain 152 produces highest amounts of microcystin and nostophycin under stress conditions. **J. Phycol.** v. 47, p. 200- 207, 2011.

LEAL, P.R. *et al.* Impact of copper sulfate application at an urban Brazilian reservoir: A geostatistical and ecotoxicological approach. **Science of the Total Environment**, v. 618, p. 621-634, 2018.

LINO, C. M.; SILVA, L. J.; PENA, A. S. Metodologias analíticas para determinação das fumonisinas em milho e alimentos à base de milho. **Quim. Nova**. v. 29, n. 2, p. 293- 299, 2006.

LLOYD, S. W.; LEA, J. M.; ZIMBA, P. V.; GRIMM, C. C. Rapid analysis of geosmin and 2-methylisoborneol in water using solid phase micro extraction procedures. **Water Research**, v. 32, n. 7, p. 2140-2146, 1998.

LOPES, A. M. M. B.; GOMES, L. N. L.; MARTINS, F. C.; CERQUEIRA, D. A.; MOTA FILHO, C. R.; VON SPERLING, E.; PÁDUA, V. L. Dinâmica de protozoários patogênicos e cianobactérias em um reservatório de abastecimento público de água no sudeste do Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 22, n. 1, p. 25- 43, 2017.

LOPES, I. K. C.; CAPELO-NETO, J.; ABREU, A. Z. Determinação de toxicidade de cianobactérias da comunidade fitoplanctônica do Açude Sítios Novos, Caucaia-Ce. **Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos-Água, Desenvolvimento econômico e socioambiental, Bento Gonçalves/RS**, 2013.

MASSEY, I. Y. *et al.* Exposure routes and health effects of microcystins on animals and humans: A mini-review. **Toxicon**, v. 151, p. 156-162, 2018.

MATTHIENSEN, A.; BEATTIE, K. A.; YUNES, J. S.; KAYA, K.; CODD, G. A. [d-Leu1]Microcystin-LR, from the cyanobacterium *Microcystis* RST 9501 and from a *Microcystis* bloom in the Patos Lagoon estuary, Brazil. **Phytochemistry**. v. 55, n. 5, p. 383- 387, 2000.

MIRANDA, M.; NOYMA, N.; PACHECO, F. S.; MAGALHÃES, L.; PINTO, E. *et al.* The efficiency of combined coagulant and ballast to remove harmful cyanobacterial blooms in a tropical shallow system. **Harmful Algae**. v. 65, p. 27-39, 2017.

- MONSERRAT, J. M.; YUNES, J. S.; BIANCHINI, A. Effects of *Anabaena spiroides* (cyanobacteria) aqueous extracts on the acetylcholinesterase activity of aquatic species. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 20, n. 6, p. 1228-1235, 2001.
- MOSCHINI-CARLOS, V. *et al.* Cyanobacteria and cyanotoxin in the Billings reservoir (São Paulo, SP, Brazil). **Limnetica**. v. 28, n. 2, p. 0273- 282, 2009.
- MOSS, B. The Water Framework Directive: total environment or political compromise? **Science of the Total Environment**, v. 400, n. 1-3, p. 32-41, 2008.
- MSAGATI, T. A. M.; SIAME, B. A.; SHUSHU, D. D. Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterial hepatotoxins. **Aquatic Toxicology**. v. 78, n. 4, p. 382- 397, 2006.
- MULLER, L.; PAGIORO, T.A.; FREITAS, A.M; PAGIORO, L.M. Cianobactérias, cianotoxinas e o tratamento químico da água: uma análise bibliométrica da produção científica mundial. **Revista Brasileira de Planejamento e Desenvolvimento**. v. 7, n. 4, p. 570- 596, 2018.
- MYNDERSE, J. S.; MOORE, R. E.; KASHIWAGI, M.; NORTON, T. R. Antileukemic activity in the Oscillatoriaceae, isolation of debromoaplysiatoxin from *Lyngbya*. **Science**. v. 196, p. 538- 540, 1977.
- NABOUT, J. C. *et al.* How many species of Cyanobacteria are there? Using a discovery curve to predict the species number. **Biodiversity and Conservation**, v. 22, n. 12, p. 2907-2918, 2013.
- NAMIKOSHI, M.; MURAKAMI, T.; WATANABE, M. F.; ODA, T.; YAMADA, J.; TSUJIMURA, S.; NAGAI, H.; OISHI, S. Simultaneous production of homoanatoxin-a, antitoxin-a, and a new non-toxic 4-hydroxyhomoanatoxin-a by the cyanobacterium *Raphidiopsis mediterranea* Skuja. **Toxicon**. v. 42, n. 5, p. 533-538, 2003.
- NEILAN, B. A.; PEARSON, L. A.; MUENCHHOFF, J.; MOFFITT, M. C.; DITTMANN, E. Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. **Environ. Microbiol.** v. 15, p. 1239- 1253, 2013.
- NISHIWAKI-MATSUSHIMA, R.; OHTA, T.; NISHIWAKI, S.; SUGANUMA, M.; KOHYAMA, K.; ISHIKAWA, T.; *et al.* Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. **J Cancer Res Clin Oncol.** v. 118, n. 6, p. 420- 424, 1992.
- O'NEIL, J. M.; DAVIS, T. W.; BURFORD, M. A.; GOBLER, C. J. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. **Harmful Algae**. v. 14, p. 313- 334, 2012.
- OBEREMM, A.; BECKER, J.; CODD, G. A.; STEINBERG, C. Effects of cyanobacterial toxins and aqueous crude extracts of cyanobacteria on the development of fish and amphibians. **Environ. Toxicol.** v. 14, p. 77- 88, 1999.
- OEHRLE, S.; SOUTHWELL, B.; WESTRICK, J. Detection of various freshwater cyanobacterial toxins using ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Toxicon**. v. 55, n. 5, p. 965- 72, 2010.
- OLIVEIRA, O. G. de. **Desenvolvimento de um equipamento óptico para o estudo do movimento vertical de cianobactérias – *Cylindrospermopsis raciborskii***. Dissertação de Mestrado em Ecologia Aplicada ao Manejo e Conservação de Recursos Naturais – Universidade Federal de Juiz de Fora, 2007.
- OLIVEIRA, M. M. *et al.* Toxinas de cianobactérias e microalgas marinhas: um desafio para a ecotoxicologia aquática. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, v. 4, n. 1, p. 57-80, 2011.
- OLSON, T. A. **Toxic Plancton**. Mimeografado, USA, 1951.
- ORTENBERG, E.; TELSCH, B. Taste and odour problems in potable water. In: D. M. e N. Horan (Org.) **Handbook of Water and Wastewater Microbiology**. 1st ed., p.777- 793, 2003.
- OSSWALD, T.; RELLÁN, S.; CARVALHO, A. P.; GAGO, A.; VASCONCELOS, V. Acute effects of na anatoxin-a producing cyanobacterium on juvenile fish - *Cyprinus carpio* L. **Toxicon**. v. 49, p. 693- 698, 2007.
- PAERL, H. W.; HUISMAN, J. Blooms like it hot. **Science**. v. 320, p. 57- 58, 2008.
- PAERL, H. W.; PAUL, V. J. Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria. **Water Res.** v. 46, p. 1349- 1363, 2012.

PEARSON, L.; MIHALI, T.; MOFFITT, M.; KELLMANN, R.; NEILAN, B. On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. **Marine Drugs**. v. 8, n. 5, p. 1650-1680, 2010.

PIMENTA, L. L. **Efeito da limitação de luz e nutrientes na alocação para estruturas adaptativas em cianobactérias associadas epifiticamente às raízes de *Salvinia auriculata***. Dissertação de Mestrado em Ecologia Aplicada - Universidade Federal de Lavras, 2020.

PIMENTEL, J.S.; GIANI, A. Microcystin production and regulation under nutrient stress conditions in toxic microcystis strains. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 80, n. 18, p. 5836- 5843, 2014.

PINTO, E. *et al.* Density-dependent patterns of thiamine and pigment production in the diatom *Nitzschia microcephala*. **Phytochemistry**. v. 63, n. 2, p. 155- 163, 2003.

PINTO, E. *et al.* Effects of heavy metals and light levels on the biosynthesis of carotenoids and fatty acids in the macroalgae *Gracilaria tenuistipitata* (var. liui Zhang & Xia). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 2, p. 349-354, 2011.

PINTO, E. *et al.* Peridinin as the major biological carotenoid quencher of singlet oxygen in marine algae *Gonyaulax polyedra*. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 268, n. 2, p. 496-500, 2000.

PLAAS, H. E.; PAERL, H. W. Toxic cyanobacteria: a growing threat to water and air quality. **Environmental Science & Technology**, v. 55, n. 1, p. 44-64, 2020.

POMPÊO, M. **Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas em reservatórios tropicais brasileiros**, São Paulo; Instituto de Biociências da USP, 138 p., 2017. Disponível em <http://www.ecologia.ib.usp.br/portal/macrofitas/>.

POMPÊO, M. *et al.* Water quality assessment using Sentinel-2 imagery with estimates of chlorophyll a, Secchi disk depth, and Cyanobacteria cell number: the Cantareira System reservoirs (São Paulo, Brazil), **Environmental Science and Pollution Research**, 28, 34990–35011, 2021.

POMPÊO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V. O abastecimento de água e o esgotamento sanitário: propostas para minimizar os problemas no Brasil. In: **Meio ambiente e sustentabilidade**. Rosa, A.H.; Fraceto, L.F.; Moschini-Carlos, V. (Org.). Porto Alegre: Bookman Companhia Editora LTDA, 2012.

POMPÊO, M., MOSCHINI-CARLOS, V. (Orgs.) **Reservatórios que abastecem São Paulo: problemas e perspectivas**. 136. ed. São Paulo: Instituto de Biociências, 2020.

PORTER, E. M. **Investigation of supposed poisonous vegetation in the waters of some of the lakes of Minnesota**. Fourth Biennial Rept., Board of Regents, Univ. of Minn., Suppl. I, Dept. of Agriculture, p. 109, 1886.

PRESCOTT, G. W. Objectionable algae with reference to the killing of fish and other animals. **Hydrobiologia**. v. 1, n. 1-4, p. 1-13, 1948.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. Introduction to aquatic toxicology. In: **Fundamentals of aquatic toxicology**. CRC Press, p. 3-67, 2020.

RASTOGI, R. P.; SINHA, R. P.; INCHAROENSAKDI, A. The cyanotoxin-microcystins: current overview. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**. v. 13, n. 2, p. 215- 249, 2014.

RICHARDSON, J. *et al.* Effects of multiple stressors on cyanobacteria abundance vary with lake type. **Global Change Biology**. v. 24, n. 11, p. 5044- 5055, 2018.

RODRIGUES, M. A.; REIS, M. P.; MATEUS, M. C. Liquid chromatography/negative electrospray ionization ion trap MS(2) mass spectrometry application for the determination of microcystins occurrence in Southern Portugal water reservoirs. **Toxicon**. v. 74, p.8- 18, 2013.

RODRÍGUEZ-ROMERO, A.; VIGURI, J. R.; CALOSI, P. Acquiring an evolutionary perspective in marine ecotoxicology to tackle emerging concerns in a rapidly changing ocean. **Science of The Total Environment**, v. 764, p. 142816, 2021.

SÁ, L. L. C. *et al.* Occurrence of toxic cyanobacterial bloom in the left margin of the Tapajós river, in the Municipality of Santarém (Pará State, Brazil). **Rev Pan-Amaz Saude**, p. 159-166, 2010.

SAINI, D. K.; PABBI, S.; SHUKLA, P. Cyanobacterial pigments: Perspectives and biotechnological approaches. **Food Chem Toxicol.** v. 120, p. 616- 624, 2018.

SAITO, K.; KONNO, A.; ISHII, H.; SAITO, H. *et al.*, Nodularin-Har, a new nodularin from *Nodularia*. **J. Nat. Prod.** v. 64, p. 139- 141, 2001.

SANCHES, S. M.; PRADO, E. L.; FERREIRA, I.M.; BRAGA, H. F.; VIEIRA, E.M. Presença da toxina microcistina em água, impactos na saúde pública e medidas de controle. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.** v. 33, n. 2, p. 181- 187, 2012.

SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.; AGUJARO, L.F., CARVALHO, M. C.; CARVALHO, L.R.; SOUZA, R.C.R. **Manual ilustrado para identificação e contagem de 40 cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras.** Rio de Janeiro: Interciência; São Paulo: Sociedade Brasileira de Ficologia – SBFic, 2006.

SCHRAMM, M. A.; PROENÇA, L. A. O. Floração de Algas Nocivas e o Risco de Ficotoxinas em Moluscos. **Panorama da Aquicultura.** v. 15, n. 89, 2005.

SILVA, T. F. das G. *et al.* Modelagem da Lagoa da Pampulha: uma ferramenta para avaliar o impacto da bacia hidrográfica na dinâmica do fitoplâncton. **Engenharia Sanitária e Ambiental.** v. 21, n. 01, 2016.

SILVA, A. S. **Avaliação da capacidade de remoção de saxitoxinas por diferentes tipos de carvão ativado em pó (CAP) produzidos no Brasil.** Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH. DM-083/05, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 115p. 2005.

SILVEIRA, E. O. *et al.* Sistema integrado com microalgas e wetland construído de fluxo vertical no tratamento de efluentes urbanos. **Engenharia Sanitária e Ambiental,** v. 24, p. 305-313, 2019.

SMITH, C. **Disadvantages & Advantages of an HPLC,** 2018. Disponível em: <http://www.ehow.com/list_5911530_disadvantages-advantages-hplc.html> Acesso em: 01 de abril de 2021.

SMITH, K. M. **Characterization of Activated Carbon for Taste and Odour Control.** University of Toronto. 2011.

SONOBE, H.G.; LAMPARELLI, M.C.; CUNHA, D.G.F. Avaliação espacial e temporal de aspectos sanitários de reservatórios com captação de água para abastecimento em SP com ênfase em cianobactérias e cianotoxinas. **Engenharia Sanitária e Ambiental.** v. 24, n. 5, p. 909- 918, 2019.

SPARLING, D.W. **Ecotoxicology essentials: environmental contaminants and their biological effects on animals and plants.** Índia: Academic Press, 2016.

SRINIVASAN, R.; SORIAL, G. A. Treatment of taste and odor causing compounds 2- methyl isoborneol and geosmin in drinking water: A critical review. **Journal of Environmental Sciences,** v. 23, n. 1, p. 1–13, 2011.

STALKER, M. **On the Waterville cattle disease.** University of Minnesota, Dept. of Agric. Biennial Report of the Board of Regents, n. 4, p. 105, 1886.

STEFFEN, M.M.; LI, Z.; EFFLER, T.C.; HAUSER, L.J.; BOYER, G.L.; WILHELM, S.W. Comparative metagenomics of toxic freshwater Cyanobacteria bloom communities on two continents. **PLoS One,** v. 7, e44002, 2012.

STEVENS, D. K.; KRIEGER, R. I. Analysis of Anatoxin-a by GCIECD, **Journal of Analytical Toxicology,** v. 12, n. 3, p. 126-131, 1988.

STEWART, I.; SEAWRIGHT, A. A.; SHAW, G. R. Cyanobacterial Poisoning in Livestock, Wild Mammals and Birds— An Overview. In **Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs;** Hudnell, H. K., Ed.; Springer Science: New York, NY, USA, v. 619, n. 28, p. 613- 637, 2008.

STRAŠKRABA, M.; TUNDISI, J. G. **Gerenciamento da qualidade da água de represas.** Tradução Dino Vannucci. São Carlos: International Lake Environmental Committee. 280 p., Série Diretrizes para o Gerenciamento de Lagos, v. 9, 2000.

SU, M.; YU, J.; ZHANG, J.; *et al.* MIB-producing cyanobacteria (*Planktothrix* sp.) in a drinking water reservoir: distribution and odor producing potential. **Water Research,** v. 68, p. 444–453, 2015.

- SUIKKANEN, S.; PULINA, S.; ENGSTROM-OST, J.; LEHTINIEMI, M.; LEHTINEN, S.; BRUTEMARK, A. Climate change and eutrophication induced shifts in northern summer plankton communities. **PLoS One**. v. 8, e66475, 2013.
- SUN, R. *et al.* Métodos baseados em microrganismos para o controle da proliferação de algas nocivas: uma revisão. **Bioresource technology**, v. 248, p. 12- 20, 2018.
- SUURNÄKKI, S. *et al.* Identification of geosmin and 2-methylisoborneol in cyanobacteria and molecular detection methods for the producers of these compounds. **Water research**, v. 68, p. 56-66, 2015.
- SVIRČEV, Z. *et al.* Toxicology of microcystins with reference to cases of human intoxications and epidemiological investigations of exposures to cyanobacteria and cyanotoxins. **Archives of toxicology**, v. 91, n. 2, p. 621-650, 2017.
- TEIXEIRA, M. G. L. C.; COSTA, M. C. N.; CARVALHO, V. L. P.; PEREIRA, M. S.; HAGE, E. Epidemia de gastroenterite na área de barragem de Itaparica, Bahia. **Boletim of Sanitary Panamerican**. v. 114, p. 502- 512, 1993.
- TERAO, K.; OHMORI, S.; IGARASHI, K.; OHTANI, I.; WATANABE, M.F.; HARADA, K.I.; ITO, E.; WATANABE, M. electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green algae *Umezakia natans*. **Toxicol.** v. 32, n. 7, p. 833- 843, 1994.
- TISDALE, E. S. Epidemic of intestinal disorders in Charleston, West Virginia, occurring simultaneously with unprecedented water supply conditions. **Amer. Jour. Public Health**. v. 21, p. 198- 200, 1931.
- TORREMORELL, A *et al.* Present and future threats for the ecological quality management of South American freshwater ecosystems. **Inland Waters**, v. 11, n. 2, p. 125-140, 2021.
- TORRES, M. A. **Avaliação da inativação de *Microcystis aeruginosa* Kützing e degradação de Microcistina-LR por processo foto-Fenton.** Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.
- TURNER, A. D. *et al.* Analysis of microcystins in cyanobacterial blooms from freshwater bodies in England. **Toxins**. v. 10, n. 1, p. 39, 2018.
- VAN APELDOORN, M.E.; VAN EGMOND, H.P.; SPEIJERS, G.J.A.; BAKKER, G.J.I. Toxins of cyanobacteria. **Mol. Nutr. Food Res.** v. 51, p. 7- 60, 2007.
- VANDERPLOEG, H. A.; SARNELE, O.; LIEBIG, J. R.; MOREHEAD, N. R.; ROBINSON, S. D.; JOHENGEN, T. H.; HORST, G. P. Seston quality drives feeding, stoichiometry and excretion of zebra mussels. **Freshwater Biology**. 62, 664-680, 2017.
- VASCONCELOS, V. Uptake and depuration of the peptide toxin microcystin-LR in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. **Aquat. Toxicol.** v. 32, p. 227- 237, 1995.
- VON SPERLING, M. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**, v.01. Minas Gerais: ABES, 1995.
- WALKER, H.W. **Harmful Algae Blooms in Drinking Water: Removal of Cyanobacterial Cells and Toxins.** Taylor and Francis, Boca Raton, Florida. 151 p., 2015.
- WALTER, J. M. *et al.* Occurrence of harmful cyanobacteria in drinking water from a severely drought-impacted semi-arid region. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 176, 2018.
- WATANABE, M.F.; OISHI, S.; HARADA, K.-I.; MATSUURA, K.; KAWAI, H; SUZUKI, M. Toxins contained in *Microcystis* species of cyanobacteria (blue-green algae). **Toxicol.** v. 26, n. 11, p.1017- 1025, 1988.
- WIEGAND, C.; PFLUGMACHER, S. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. **Toxicology and Applied Pharmacology**. v. 203, n. 3, p. 201- 218, 2005.
- WIEGAND, C.; PFLUGMACHER, S.; OBEREMM, A.; MEEMS, N.; BEATTIE, K. A.; STEINBERG, C. E.; CODD, G. A. Uptake and effects of microcystin-LR on detoxication enzymes of early life stages of the zebra fish (*Danio rerio*). **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 14, n. 1: p. 89-95, 1999.
- WU, A. H.; FRENCH, D. Implementation of liquid chromatography/mass spectrometry into the clinical laboratory. **Clinica Chimica Acta**, v. 420, p. 4- 10, 2013.

YOTSU-YAMASHITA, M.; SUGIMOTO, A.; TERAKAWA, T.; SHOJI, Y.; MIYAZAWA, T.; YASUMOTO, T. Purification, characterization, and cDNA cloning of a novel soluble saxitoxin and tetrodotoxin binding protein from plasma of the puffer fish, *Fugu pardalis*. **European Journal of Biochemistry**, 268(22), 5937-5946, 2001.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações**. São Carlos: Rima; 2006.

ZAMYADI, A.; HENDERSON, R.; STUETZ, R. *et al.* Fate of geosmin and 2- methylisoborneol in full-scale water treatment plants. **Water Research**, v. 83, p. 171– 183, 2015.

ZHANG, X. *et al.* Functional role of bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix* in ecologically shaping aquatic environments. **Science of the Total Environment**. v. 710, n. 25, 2020.

ZHANG, Z.-C. *et al.* Widespread occurrence and unexpected diversity of red-shifted chlorophyll producing cyanobacteria in humid subtropical forest ecosystems. **Environmental Microbiology**. v. 21, n. 4, p. 1497- 1510, 2019.

ZILLIGES, Y.; KEHR, J.-C.; MEISSNER, S.; ISHIDA, K.; MIKKAT, S.; HAGEMANN, M.; KAPLAN, A.; BÖRNER, T.; DITTMANN, E. The cyanobacterial hepatotoxin microcystin binds to proteins and increases the fitness of *Microcystis* under oxidative stress conditions. **PLoS One**. v. 6, e17615, 2011.

CAPÍTULO 12

A ECOTOXICOLOGIA COMO FERRAMENTA NA AVALIAÇÃO DOS MANANCIAIS DA REGIÃO METROPOLITANA DE SÃO PAULO

Karen de Souza Ferreira¹

Marcelo Pompêo²

1- Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

2- Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Ecologia, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Devido ao crescimento desordenado, os reservatórios da Região Metropolitana de São Paulo sofrem a influência de diferentes atividades antrópicas no seu entorno. Os mananciais paulistas estão cercados pelo maior aglomerado urbano do país, que demanda cada vez mais por água para múltiplos usos. Neste contexto, o uso e ocupação do solo, a poluição difusa, descarte de lixo sólido e principalmente o despejo de esgoto *in natura* são fatores que causam a degradação da qualidade das águas dos reservatórios. A aplicação de sulfato de cobre pentahidratado (CuSO_4) é uma prática recorrente em vários reservatórios paulistas, sendo utilizado no controle de florações de algas e cianobactérias. Não apenas a água, mas o sedimento também desempenha uma função importante na avaliação dos corpos d'água, eles acumulam compostos e contaminantes e assim são testemunho do processo de gestão da qualidade da água e em particular do manejo realizado no reservatório. Este capítulo aborda como a ecotoxicidade pode ser utilizada como ferramenta da avaliação e monitoramento do ecossistema aquático urbano, com a possível observação de gradientes de qualidades dentro do mesmo sistema. Os testes ecotoxicológicos são boas ferramentas e de baixo custo em comparação a outras análises. Os bioensaios podem ser *in situ* (no local) ou *ex situ* (em laboratório), de exposição de curta (aguda) e ou longa (crônico) duração e as respostas dos organismos vão muito além da mortalidade. A resolução Conama nº 357/05 preconiza o uso de ensaios ecotoxicológicos na avaliação das águas e de efluentes. O monitoramento constante de rios e reservatórios é crucial, e deve visar à prevenção, a manutenção da qualidade e a correção de modo precoce, quando observados impactos negativos gerados pela poluição. A utilização de organismos representativos para cada matriz ambiental gera embasamento e subsidia a tomada de decisões de áreas de suma importância para a população em geral e com conflitos de uso.

INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial traz a necessidade cada vez maior por água, e em muitos locais a escassez já é realidade, em breve cerca de 50% da população mundial será afetada de alguma forma com a falta de água (YANG; FRENCH, 2017). A Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) não é exceção. Entre os anos 2013 e 2015 ocorreu grave crise hídrica na RMSP, que causou desabastecimento de toda a RMSP, reflexo da falta de planejamento estratégico e das mudanças climáticas, e todo este processo acarretou na perda de capacidade de produção *per capita* dos mananciais provedores (CÔRTEZ *et al.*, 2015).

As águas dos reservatórios são um recurso vital para todos os organismos vivos, não apenas para aqueles que tem o reservatório como seu habitat. Além da manutenção da vida, os reservatórios também fornecem água para os mais diversos fins, como agricultura, indústria e para o consumo humano (CHOU *et al.*, 2018). Infelizmente, poluentes provenientes dos diversos usos, podem reduzir a qualidade da água, e às vezes levam a danos irreparáveis para o ambiente (MONFARED *et al.*, 2017). Para a produção de água é necessária a preservação das condições do entorno do manancial, principalmente a manutenção da vegetação dos tributários, e o equilíbrio hidrológico é constantemente ameaçado por diversos fatores, como supressão da mata para agricultura e o crescimento urbano desordenado, formado principalmente por loteamentos irregulares (BORELLI, 2006; WHATELY *et al.*, 2008b).

A urbanização irregular e a falta de esgotamento sanitário contribuem para alteração da qualidade da água dos reservatórios. O acréscimo de nutrientes oriundos de esgotos domésticos, industriais e lixiviação das zonas rurais, provocam o aumento do estado trófico, e este incremento traz a reboque outros elementos, como patógenos, metais, agrotóxicos, fármacos (humanos e veterinários) e drogas ilícitas (ROSOLEN *et al.*, 2009; MAXIMIANO *et al.*, 2005; CAMPESTRI; JARDIM, 2017). Isto acarreta na perda dos serviços prestados pelos reservatórios, em decorrência de floração de cianobactérias, bioacumulação de substâncias tóxicas nos organismos e como consequência, culminando na perda da biodiversidade local (TUNDISI, 2008; MOSCHINI-CARLOS *et al.*, 2009; VOIGT *et al.*, 2015).

As bacias do Guarapiranga e do Complexo Billings, da RMSP, sofrem intensa pressão causada pela urbanização, resultando em impactos na quantidade e qualidade de suas águas (SEPE, 2008). Isto traz a visão da necessidade pungente do monitoramento integrado dos corpos hídricos. A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) realiza monitoramento anual nos corpos hídricos, com levantamento de dados físicos, químicos e biológicos, subsidiando políticas públicas para o gerenciamento dos reservatórios. Contudo, outras pesquisas como as realizadas por Ogashawara *et al.* (2014a), Nanini-Costa *et al.* (2016), López-Doval *et al.* (2017), Furlan *et al.* (2018), Leal *et al.* (2018), Cardoso-Silva *et al.* (2018), Cervi *et al.* (2019) entre outras, trazem diversas abordagens para observação dos diferentes efeitos sofridos nos reservatórios da RMSP. A reunião destas informações possibilita a formulação de panoramas mais precisos das reais condições ambientais desses reservatórios.

Os levantamentos de informações ecotoxicológicas contribuem para auxiliar na montagem destes panoramas relativos à qualidade dos reservatórios e auxiliam a nortear as discussões de políticas públicas para a recuperação e a conservação dos ecossistemas. Segundo Zagatto (2014), os ensaios ecotoxicológicos permitem avaliar o comportamento e os danos histológicos e/ou bioquímicos causados aos organismos aquáticos ocorridos pelo contato com vários produtos químicos, efluentes domésticos e industriais, e também permitem prever impactos futuros pela exposição prolongada dos organismos a esses compostos.

Este capítulo tem como objetivo mostrar um breve panorama sobre alguns dos principais reservatórios da RMSP, em particular o Billings e a Guarapiranga, tendo em vista as análises da qualidade das águas, sedimentos e de estudos ecotoxicológicos. O objetivo principal é trazer luz às discussões sobre a gestão dos recursos hídricos, através da seleção do que foi feito nos últimos anos, analisando a aplicação dos ensaios ecotoxicológicos como ferramenta auxiliar na gestão e no monitoramento de ecossistemas aquáticos urbanos.

BREVE HISTÓRICO DOS RESERVATÓRIOS GUARAPIRANGA E COMPLEXO BILLINGS

A RMSP foi criada em 1973 e reformulada em 2011 pela Lei Complementar Estadual nº 1.139/2011, compreendendo 39 municípios do entorno da Cidade de São Paulo (SÃO PAULO, 2011). É a maior região metropolitana do país, com uma população estimada de 21,7 milhões de habitantes (IBGE, 2019). Na RMSP existem 23 reservatórios e vários estão próximos ou em zonas urbanas, sendo 8 os principais sistemas produtores formados pelos reservatórios da Cabeceira do Tietê, Cantareira, Guarapiranga e Billings (WHATELY *et al.*, 2008b).

O reservatório Guarapiranga (Fig. 1) é formado pelos rios Capivari, Monos e o riacho Taquacetuba, este último ligando ao reservatório Billings. Sua construção se deu entre 1906 e 1908, para regular a vazão do Rio Tietê e produzir energia para a cidade que estava em franco crescimento industrial, posteriormente, passou a ser usado para o abastecimento público em 1927 (SEPE, 2008; LEAL; POMPÊO, 2020). A sua extensão é de 630 km², abrangendo diferentes municípios da RMSP como Embu-Guaçu, Itapecerica da Serra, São Lourenço da Serra, Juquitiba, Embu e São Paulo. Estima-se que quase 800.000 habitantes moram em suas margens e 60% deles são residentes na cidade de São Paulo (SABESP, 2008).

Baltrusis; Ancona (2006) elaboraram um compilado sobre as características socioambientais dos moradores circundantes da Guarapiranga e, concluíram que o processo de reurbanização de favelas resultou numa melhora significativa nas condições físico-ambientais, mas não o suficiente para recuperar os problemas causados pela ocupação das margens e da qualidade do reservatório.

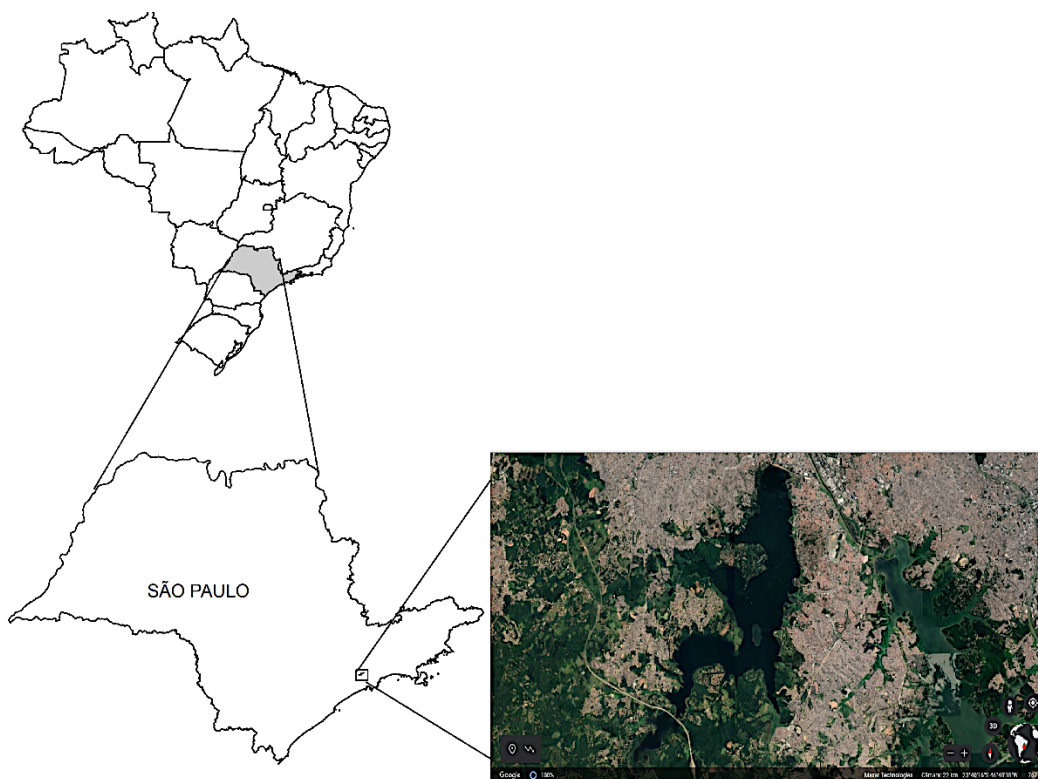


Figura 1: Localização geoespacial do reservatório Guarapiranga. Fonte: Autores.

A Represa Billings (Fig. 2) foi construída na década de 1920, com o objetivo de gerar energia elétrica, mas atualmente a sua principal função é o abastecimento público. Como parte integrante de um complexo sistema, que reverteu o curso do rio Tietê, através do bombeamento das águas do Rio Pinheiros

para dentro da represa (WHATELY *et al.*, 2008a). O reservatório faz divisa com 6 municípios (Diadema, Ribeirão Pires, Rio Grande da Serra, Santo André, São Bernardo do Campo e São Caetano do Sul) na RMSP e a região sul da cidade de São Paulo, e ainda, fornece água por bombeamento à usina hidrelétrica de Henry Borden em Cubatão, para aproveitar o potencial da decida da Serra do Mar (ESCAMES, 2011). O sistema Billings possui 8 braços fornecedores, porém o Braço do Rio Grande é o único separado do corpo central pela barragem da Rodovia Anchieta (WHATELY *et al.*, 2008a). Almeida; Silva (2017) salientam os problemas ocorridos devido a ocupação irregular da área de proteção permanente (APP) do Reservatório Billings no município de São Paulo, que é necessário implementar políticas fundiárias para recuperação da qualidade ambiental e proteção social, além de mitigar os passivos ambientais decorrentes do modelo de urbanização excludente.

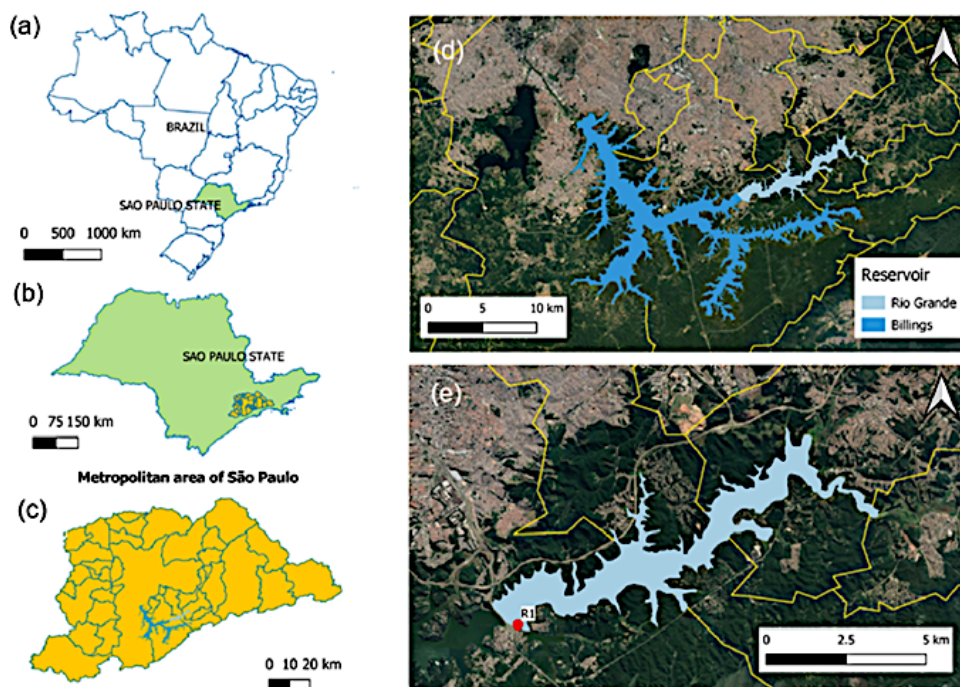


Figura 2: Localização geoespacial do reservatório Billings e o reservatório Rio Grande em destaque. Fonte: PEDUTO *et al.* 2020.

QUALIDADE DE ÁGUA E DOS SEDIMENTOS

A eutrofização é apontada como um dos principais problemas ambientais em todo mundo, incluindo o Brasil (COSTA *et al.*, 2018; TORREMORELL *et al.*, 2021). O estado trófico é acelerado, especialmente em reservatórios, devido a fatores como a entrada de fertilizantes utilizados nas propriedades rurais na área de drenagem da bacia hidrográfica, a entrada de efluentes domésticos e industriais, com alta carga de nitrogênio e fósforo e o grande tempo de residência das águas nestes ecossistemas (SOARES *et al.* 2012). Este excesso de nutrientes, de forma rápida, cria condições para o crescimento excessivo na quantidade do fitoplâncton e macrófitas (Fig. 3) (ESTEVES, 2011; POMPÊO, 2008). Este aumento, reduz a quantidade de luz na coluna d'água e contribui para o crescimento de bactérias nitrificantes, podendo diminuir a concentração de oxigênio dissolvido nas camadas mais profundas da coluna d'água, e assim, causando a mortalidade dos organismos mais sensíveis (BRASIL, 2006; COSTA *et al.*, 2008).

Na classificação e tipificação dos corpos hídricos, são verificados parâmetros físicos, químicos e biológicos da água, como fósforo e nitrogênio totais, turbidez, sólidos totais, oxigênio dissolvido, pH, demanda bioquímica de oxigênio - DBO, temperatura, coliformes termotolerantes, variáveis utilizadas no índice de qualidade de água – IQA, índice frequentemente aplicado no Brasil. Outras variáveis como clorofila *a*, matéria orgânica, fito e zooplâncton, organismos bentônicos, metais, são utilizadas no cálculo

do índice de qualidade das águas para proteção da vida aquática e de comunidades aquáticas – IVA o qual inclui também o índice do estado trófico – IET. O IET, é calculado com base nos teores de clorofila-a e fósforo total. Outras características levantadas incluem morfologia e granulometria do sedimento (GLÓRIA *et al.*, 2017; CETESB, 2019).



Figura 3: Grande presença de macrófitas no reservatório Guarapiranga, próximo ao Parque Ecológico da Guarapiranga. Fonte: Autores.

Os sedimentos são essenciais para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos e são reconhecidos como o repositório final da maioria dos contaminantes lançados nos corpos d'água (CERVI; POLETO, 2018). Então é de fundamental importância a avaliação dos sedimentos nos reservatórios, um dos critérios utilizados para avaliar os sedimentos são os estabelecidos pela Agência Canadense de Proteção Ambiental – CCME através do protocolo guia de Qualidade de Sedimentos para Proteção da Vida Aquática (*Canadian Water Quality Guidelines For The Protection Of Aquatic Life*), onde são estabelecidos valores orientadores de concentração para os metais em amostras de sedimentos, conhecidos como TEL (*Threshold Effect Level*) e PEL (*Probable Effect Level*) (CCME, 2001). A CETESB, derivando deste protocolo canadense, estabeleceu os Critérios de Avaliação dos Sedimentos – CQS, que são os valores orientadores baseados em variáveis toxicológicas, oriundas de ensaios de toxicidade, considerando também a biodisponibilidade e toxicidade do metal (CETESB, 2004).

Temos que levar em conta que estes reservatórios sofrem impactos há muitos anos. Para o Guarapiranga há relatos desde a década de 1960 e para a Billings desde os anos 1980. No reservatório Billings, de maneira a salvaguardar a qualidade das águas em um dos braços para garantir o abastecimento público, foi construído a Barragem da Anchieta no Braço no Rio Grande (BALTRUSIS; ANCONA 2006, CARDOSO-SILVA *et al.*, 2014), separando-o assim das demais porções do reservatório.

Baseando-se em trabalhos acadêmicos e nos relatórios da CETESB será apresentado um panorama da qualidade das águas e sedimentos dos reservatórios Guarapiranga e Billings dos últimos anos. Com respeito os dados levantados, é de fundamental importância compreender que é apenas um fragmento temporal da dinâmica do ambiente aquático.

O Guarapiranga é um reservatório eutrofizado (PIRES *et al.*, 2015) e isso não mudou nestes últimos anos. Já na década de 30, Paranhos (1937) alertava sobre os possíveis impactos futuros na qualidade de suas águas, hoje uma realidade. Oliver *et al.* (2020) levantaram que florações de cianobactérias ocorrem

sazonalmente no reservatório, além da influência do clima, isto também ocorre pela entrada de fertilizantes usados nas propriedades agrícolas do entorno da bacia do Guarapiranga e pelo despejo de efluentes domésticos. Pela determinação do IET, Silva *et al.* (2018) observaram um aumento no grau de trofia nos reservatórios Guarapiranga e Billings no período chuvoso, em decorrência ao escoamento superficial no entorno destes reservatórios. Gargiulo *et al.* (2016) evidenciam que o reservatório Billings é hipereutrófico, com processo de degradação ambiental acelerado. A Cetesb (2020) divulgou que nos reservatórios Billings e Guarapiranga apresentaram cerca de 100% de resultados não conformes para fósforo, um dos nutrientes que contribuem para o processo de eutrofização das águas. Melhorias ocorreram com relação ao nível de trofia em determinados pontos, em comparação a outros anos, mas ainda os reservatórios são extremamente eutrofizados (CETESB, 2020). Este aumento de trofia, pode ocasionar em florações de cianobactérias, difíceis de serem removidas da água pelos meios convencionais (OLIVER; RIBEIRO, 2014).

Em relação aos sedimentos, o reservatório de Guarapiranga apresenta toxicidade elevada para cobre (Leal *et al.*, 2018). Já o Billings possui altas concentrações de metais nos sedimentos, o que aponta para a fragilidade ambiental deste sistema, que sofre com os despejos irregulares dos efluentes industriais e domésticos em seus mananciais (SOUZA-SILVA *et al.*, 2017). O monitoramento realizado pela CETESB (2019) indicou que não houve melhora na qualidade do sedimento neste reservatório. Em pontos amostrados nos reservatórios Guarapiranga e Billings em 2019, os metais cobre, zinco, chumbo, cádmio, arsênio, mercúrio, níquel e cromo, apresentaram concentrações iguais ou acima dos critérios de TEL e PEL em pelo menos um dos pontos amostrados (CETESB, 2020). Contudo, o reservatório Guarapiranga é menos impactado do que o Billings em relação aos metais nos sedimentos. Dos metais acima citados, mercúrio, níquel e cromo apresentaram concentrações abaixo de TEL, demonstrando que não houve neste caso, origem antrópica, quando comparado ao valor de referência regional (VRR). Este aporte excessivo de metais, podem causar riscos ecológicos, com potencial de bioacumular nos organismos aquáticos, acarretando em danos ecotoxicológicos com o passar do tempo, interferindo na dinâmica do ecossistema aquático (COSTA *et al.*, 2008; MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008; NANINI-COSTA *et al.*; 2016).

Diante disso, é evidente que é necessário o monitoramento constante e, principalmente, uma mudança do modo de gestão do recurso hídrico na RMSP (BUCKERIDGE; RIBEIRO, 2018; GOMES; BARBIERI, 2004).

ORGANISMOS BIOINDICADORES E BIOMARCADORES

A biota aquática está constantemente exposta a um grande número de substâncias tóxicas lançadas no ambiente, que podem gerar graves desequilíbrios ecológicos (ARAIIS *et al.*, 2007). Magalhães; Ferrão-Filho (2008) destacam que os organismos aquáticos são boas ferramentas para avaliação e observação da dinâmica do ambiente, por terem grande parte ou a totalidade da vida dentro da água ou nos sedimentos. A utilização de organismos como bioindicadores da qualidade do recurso hídrico não é atual, estudos apontam que os primeiros organismos utilizados para este fim foram os peixes (BAE; PARK, 2014). As técnicas de manutenção dos organismos e aprimoramento dos ensaios tem sido imprescindível para estudos técnicos que fundamentam os programas de monitoramento (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

Os biomarcadores podem ser definidos como alterações em células, enzimas, moléculas e fisiológicas em decorrência da exposição às substâncias e seus efeitos, tanto de maneira aguda ou crônica (LAM; GRAY, 2003).

Ao estimar o efeito tóxico de uma amostra é recomendável que seja utilizada mais de uma espécie representativa da biota aquática e de diferentes níveis tróficos, como algas, zooplâncton e peixes. A utilização de diferentes níveis de organização possibilita melhor avaliar como o composto em análise interage com os organismos, e qual o nível de organização é mais suscetível à ação do composto. Os principais grupos de organismos utilizados nos ensaios são microalgas, microcrustáceos, larvas de inseto, peixes em diferentes estágios de vida e bactérias (COSTA *et al.*, 2008; ARIAS *et al.*, 2007; MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

Nos estudos de campo, normalmente são avaliados a vegetação ripária, as macrófitas, o fito e o zooplâncton, o perifíton, os macros e microinvertebrados bentônicos, as diatomáceas e os peixes (ILIOPOULOU-GEORGUDAKI *et al.*, 2003; GARGIULO, 2020; FONTANA *et al.*, 2014; LOPEZ *et al.*, 2016). Outro tipo de abordagem para a utilização dos organismos são as perícias ambientais criminais como levantado por Passos (2017) em uma revisão sobre o assunto. Como mostrado no capítulo específico de ensaios ecotoxicológicos (capítulo 2), é de fundamental importância a utilização de diferentes biomarcadores para a construção do real cenário do reservatório. Os organismos mais utilizados como bioindicadores do estado ambiental dos reservatórios são a ictiofauna e o fitoplâncton.

Considerando a representatividade no ambiente, os peixes são excelentes indicadores, além do ciclo de vida longo e diferentes matrizes para observação, como sangue, tecido respiratório, órgãos de depuração e reprodutivo (LINS *et al.*, 2010; REZENDE *et al.*, 2014).

As brânquias são utilizadas para a avaliação do contato direto e constante a poluentes, observando a ocorrência de lesões em lamelas primárias e secundárias, junção lamelar, necrose de tecido, hemorragias e destruição da função respiratória, a hipóxia (falta de oxigênio) causada devido à grande presença de nutrientes e organismos fotossintéticos também podem comprometer o tecido branquial levando a morte (MARDONES, 2020; SHAHID *et al.*, 2021; SIQUEIRA; OLIVEIRA-FILHO, 2005).

No sangue, os eritrócitos também respondem a exposição de forma genotóxica, formando micronúcleos (fragmentos de DNA), a análise de frequência de micronúcleos é modo de monitoramento rápido e barato para avaliar a exposição de poluentes nos ambientes aquáticos (BENITES *et al.*, 2014; ALI *et al.*, 2008, GOMES *et al.*, 2019).

O fígado é o principal órgão depurador e biotransformador, podendo acumular xenobióticos (substâncias estranhas ao organismo) e pode apresentar diferentes graus de resposta da exposição aos poluentes no ambiente aquático (KLEINOW, MELANCON, LECH, 1987; LINS *et al.*, 2010). Os tecidos reprodutivos (ovário e testículos) sofrem alterações devido a presença de fármacos como hormônios sintéticos e xenobióticos, que bloqueiam a ação dos hormônios naturais e a toxicidade crônica é pouco conhecida (LIMA *et al.*, 2017; PRADO *et al.*, 2011).

Com relação aos organismos fotossintetizantes, o fitoplâncton é um excelente bioindicador da saúde ambiental do reservatório, pois estes respondem rapidamente às mudanças de qualidade da água, a entrada de poluentes e/ou produtos químicos, ou mesmo a descarga de esgotos no corpo hídrico (YUSUF, 2020; SANTANA; CROSSETTI; FERRAGUT, 2017). Os dois reservatórios da RMSP, possuem trabalhos relacionados à microalgas e cianobactérias. Os levantamentos consideram os táxons presentes, cianotoxinas, dominância de espécies e variação da densidade de organismos (MOSCHINI-CARLOS *et al.* (2009); RODRIGUES *et al.*, 2010; OGASHAWARA *et al.*, 2014b; MACHADO *et al.*, 2016; MACHADO *et al.*, 2021).

Outra classe de organismos bioindicadores são os macroinvertebrados bentônicos, eles são excelentes bioindicadores para qualidade dos sedimentos, e é possível correlacionar maior diversidade de táxons com a qualidade do sedimento, assim sendo uma ferramenta de monitoramento do ambiente aquático (GARGIULO *et al.*, 2016; SILVA, EVERTON; MELO, 2016).

Deste modo, a utilização de bioindicadores de diferentes níveis tróficos e, conjuntamente a seleção de biomarcadores de respostas, ajudam a entender a dinâmica dos poluentes dentro dos diferentes componentes do ambiente aquático.

ECOTOXICOLOGIA COMO FERRAMENTA NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS RESERVATÓRIOS

O conhecimento da toxicidade dos agentes químicos no meio aquático possibilita o estabelecimento de limites permissíveis de várias substâncias para a proteção a vida aquática, e isto possibilita avaliar o impacto momentâneo e a longo prazo destes contaminantes (ARAGÃO; ARAÚJO,

2014). Para isso, é necessário que se escolha organismos adequados para serem utilizados como bioindicadores. Estes devem atender à requisitos mínimos, como ser relevante no ecossistema, ser representativo para a matriz de ensaio, fácil manutenção em laboratório e com tempo de geração suficiente para refletir os efeitos das perturbações. Além disso, devem ser utilizadas espécies cuja fisiologia, genética e comportamento sejam bem conhecidos, o que pode facilitar a interpretação dos resultados (LÓPEZ-DOVAL *et al.*, 2015, COSTA *et al.*, 2008).

Os parâmetros ecotoxicológicos avaliados nos bioensaios são a mortalidade, redução/aumento da natalidade, alterações de comportamento, modificação de estruturas morfológicas, genotoxicidade entre outros (CETESB, 2019; ARAGÃO; ARAÚJO, 2014; CERVI *et al.*, 2019; ROQUE *et al.*, 2003). Estes testes são realizados com sedimentos e/ou águas, mas também podem ser utilizados tecidos dos organismos, como sangue, brânquias, fígado, carapaças ou mesmo células e tecidos vegetais (ARAÚJO *et al.* 2019; SOUSA *et al.* 2019; FURLAN *et al.* 2018; NANINI-COSTA *et al.*; 2016).

A Resolução Conama nº 357/05 preconiza o uso de ensaios ecotoxicológicos na classificação das massas de água e de efluentes. Estes ensaios são realizados para determinar os efeitos deletérios de agentes físicos ou químicos a diversos organismos aquáticos e visam avaliar o potencial de risco à saúde humana (BRASIL, 2005). A Conama nº 357/05, evidencia a necessidade de utilizar protocolos, sejam nacionais e/ou internacionais, que estabelecem parâmetros para experimentação, de diferentes matrizes ambientais e organismos, como a Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT, *Internacional Organization for Standardization – ISO* e a *Organization for Economic Co-Operation and Development – OECD*. É sugerido o emprego de métodos padrões, o que facilita compreender como o experimento foi de fato realizado, bem como também facilita a comparação com estudos que seguem o mesmo protocolo.

A realização de testes *in situ* ainda é incipiente, sendo necessário maior esforço para o estabelecimento de metodologias mais adequadas às condições encontradas em países tropicais, já que as adaptações de ensaios de regiões temperadas podem não ser totalmente satisfatórias (DORNFELD *et al.*, 2006). Fracácio *et al.* (2009) demonstraram que ensaios *in loco* podem apresentar resultados semelhantes aos ensaios realizados no laboratório. Esses autores também comentam sobre a vantagem que ensaios realizados diretamente no local representam, para detectar a rápida resposta de mudanças pontuais na qualidade de água. Santos *et al.* (2004) levantaram a possibilidade de que as alterações hepáticas observadas em tilápias em ensaios realizados *in situ*, no reservatório Guarapiranga, estão relacionadas à ação de substâncias tóxicas ou xenobióticas presentes na água. Este problema também foi levantado por Rezende *et al.* (2014) no reservatório Billings, onde os danos hepáticos demonstravam certa perda de função do órgão.

A realização de ensaios *ex situ* ou laboratoriais, tem algumas vantagens, entre elas, o controle das condições experimentais, desta forma, a associação da mortalidade dos organismos devido a alteração de alguma situação de mudança brusca de temperatura ou pH pode ser descartada, por outro lado também pode-se levantar a hipótese que este controle poderia alterar em parte os resultados, devido a manipulação da amostra durante o experimento ou mesmo a aeração constante desta amostra (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008, COSTA, 2008). Isto ficou evidenciado no estudo realizado por Dornfeld *et al.* (2006), a mortalidade dos organismos nos ensaios *ex situ* foi abaixo de 10%, enquanto *in situ*, foi superior a 60% dos organismos expostos. Os autores relacionaram esta mortalidade ao efeito sinérgico dos compartimentos água e sedimento, mas tal efeito não foi observado no ensaio laboratorial. Já Peduto *et al.* (2020), não observaram possíveis diferenças entre ensaios em campo ou laboratório. Esses autores realizaram ensaios de fitotoxicidade com águas de diferentes pontos no reservatório Rio Grande, utilizando sementes de três espécies de plantas terrestres. Os autores observaram que existe potencial fitotóxico em certas amostras, mesmo com a alta quantidade de nutrientes presentes nas amostras que potencializariam o crescimento das sementes. Em trabalho de fitotoxicidade semelhante, Kohatsu *et al.* (2021) utilizaram concentrações de ortofosfato semelhantes ao do reservatório Billings em sementes de mostarda (*Sinapis alba*) em ensaios de toxicidade aguda. Os autores avaliaram o potencial da utilização da nano argila para remoção do ortofosfato e, ficou demonstrado que existe potencialidade para diminuição da toxicidade do ortofosfato presente nas águas do reservatório.

Outra abordagem é a mescla de ensaios, utilizando um organismo *in situ* e outro *ex situ*, para comparação de respostas a toxicidade de amostras ambientais. Este tipo de abordagem foi realizado por Souza *et al.* (2018), que utilizaram cebola (*Allium cepa*) e o peixe Jundiá (*Rhamdia quelen*) como organismos-teste para genotoxicidade e danos histológicos pela exposição crônica de poluentes em corpo hídrico. Os autores demonstraram que a exposição causou genotoxicidade e alterações histológicas nos organismos.

Os ensaios ecotoxicológicos, tanto os realizados no local quanto os realizados no laboratório, são ferramentas importantes na avaliação da qualidade e do risco ambiental nos sistemas aquáticos e visam a proteção de toda a biota aquática e manutenção dos múltiplos usos do recurso hídricos (SOUZA *et al.*, 2014).

GESTÃO E MONITORAMENTO DOS RESERVATÓRIOS GUARAPIRANGA E COMPLEXO BILLINGS

A qualidade da água do Complexo formado pelos reservatórios Guarapiranga e Billings é monitorada periodicamente pelos órgãos governamentais, tanto pela CETESB, quanto pela empresa responsável pela captação e tratamento das águas e efluentes, a Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – SABESP (CETESB, 2019). Complementarmente, nesses reservatórios também são realizados inúmeros estudos em diferentes áreas do conhecimento, desenvolvidos por pesquisadores de várias universidades, institutos de pesquisas e por organizações ambientais não governamentais – ONGs.

Quanto à gestão dos reservatórios, segundo Alvim; Ronca (2007) e Itikawa (2009), esta é feita de forma coletiva, através dos Comitês de Bacias, com o colegiado formado por representantes das empresas governamentais, como o Departamento de Águas e Energia Elétrica – DAEE, Empresa Metropolitana de Águas e Energia S.A. – EMAE e SABESP, a sociedade civil, formada por ONGs como a SOS Mata Atlântica e o Instituto Socioambiental – ISA, a academia representada por pesquisadores das Universidades que trabalham com as mais diferentes áreas de estudos (limnologia, química ambiental, saúde pública, socioeconômica e demais interessados), as Secretarias Municipais de Meio Ambiente e Ministério Público. A gestão das bacias hidrográficas de forma integrada entre o poder público e a sociedade civil propicia diretrizes mais claras e assertivas para a manutenção e recuperação do recurso hídrico, a fim de que o uso ocorra de forma sustentável, visando principalmente a quantidade e a qualidade da água para as mais diversas atividades e usos (GOMES; BARBIERI, 2004; PORTO; PORTO, 2008).

No manejo dos reservatórios paulistas, uma prática muito recorrente é o manejo químico, com aplicações na água bruta. No processo pré-tratamento das águas brutas são empregados algicidas como o sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Estas aplicações ocorrem de forma sistemática (BRASIL, 2006; POMPÊO, 2017), e esse tipo de manejo é feito pela Sabesp, no reservatório Guarapiranga desde a década de 1980. Em 2011 foram aplicadas 970 toneladas destes produtos (LEAL *et al.*, 2018). Estas aplicações diárias acarretam grandes concentrações de cobre dissolvido na água, e este problema fica evidente, a ponto que em todos meses de 2018 a Cetesb (2019) quantificou valores de cobre acima dos limites estabelecidos em legislação, para água bruta. Brooke *et al.* (2008) comentam que com a presença de grande quantidade de material suspenso e algas na água bruta, se faz necessário uma maior quantidade de produtos floculantes utilizados nas estações de tratamento de água – ETA, já com as aplicações de algicidas na água bruta, há redução do material suspenso, reduzindo os custos de tratamento.

Entretanto, como já comentado neste capítulo, este crescimento algal é acelerado devido a entrada de esgotos nos reservatórios e o cobre aplicado é acumulado nos sedimentos, podendo provocar toxicidade a biota não alvo, além do que, este tipo de gestão não visa a acabar com o problema, mas apenas postergá-lo. Desta maneira, estas aplicações regulares e em grandes quantidades e por longos períodos de tempo, não podem ser consideradas uma medida assertiva, mas sim um grande descompasso do sistema de gestão da qualidade das águas e sedimentos (POMPÊO, 2020).

Trabalhos como os de Mariani; Pompêo (2008), Leal *et al.* (2018) e Cardoso-Silva *et al.* (2018) demonstram que os reservatórios Billings e Guarapiranga, possuem heterogeneidade espacial. Todavia,

esta heterogeneidade não pode ser atribuída apenas pelas características físicas, como as zonas de movimentação das águas (lêntica, de transição e lótica), influenciando a deposição de partículas ou mesmo pela estratificação da coluna de água devido a sazonalidade. Essa heterogeneidade espacial horizontal observada também é reflexo do programa de gestão da qualidade da água, representado principalmente pelas constantes aplicações de sulfato de cobre, que resulta em grandes quantidades de metais nos seus sedimentos. Pompêo *et al.* (2013) mostraram que na Guarapiranga existem pelo menos duas zonas bem distintas no reservatório, sendo uma representada pela zona compreendida entre a entrada do reservatório, na parte alta, até próximo ao centro, na ilha, e outra zona indo da porção central até a barragem. Segundo esses autores, há maiores concentrações de cobre na porção próxima à barragem (Fig. 4).

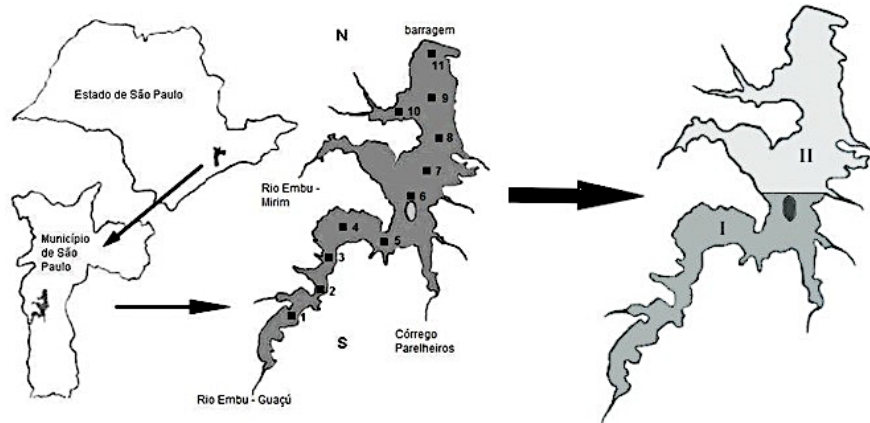


Figura 4: Pontos de coleta de sedimentos e zona de concentração de cobre nos sedimentos superficiais no reservatório Guarapiranga. Fonte: Modificado de POMPÊO *et al.* (2013).

Leal *et al.* (2018) também demonstraram o alto risco da toxicidade potencial causada pelo manejo químico no Guarapiranga. Esses autores determinaram zonas de concentração de cobre nos sedimentos, e com base nos critérios estabelecidos por CCME (2001), observaram porções com o potencial tóxico 100 vezes maior à biota do que o critério-guia. Isso traz à tona a necessidade urgente de mudança no manejo deste reservatório (Fig. 5).

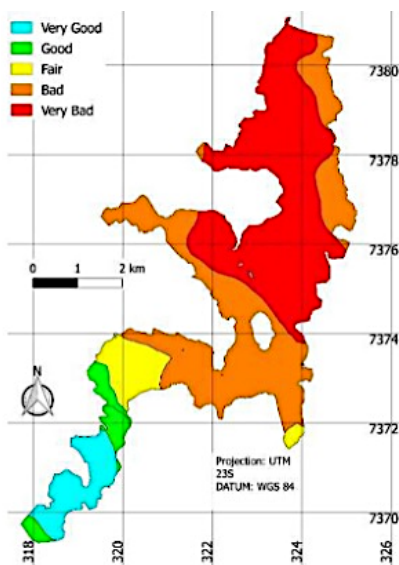


Figura 5: Zonas de qualidade de concentração de cobre nos sedimentos superficiais no reservatório Guarapiranga. Fonte: LEAL *et al.* (2018).

Mariani; Pompêo (2008), estudando metais no Braço do Rio Grande da Billings (Fig. 6), ressaltaram a necessidade da aplicação das ferramentas da ecotoxicologia, com a utilização de ensaios com diferentes organismos como ferramentas para subsidiar a gestão e avaliar o real risco à biota e aos usos múltiplos do sistema.

Com relação à concentração de cobre nos sedimentos do Rio Grande e sua toxicidade potencial, com base nos critérios estabelecidos por Leal *et al.* (2018), Biamont-Rojas *et al.* (dados não publicados), o reservatório apresenta apenas duas condições, ruim e péssimo (Fig. 7). Isto sugere a necessidade para alterar a forma de manejo desse braço, principalmente, visando salvaguardar a qualidade do ambiente para os organismos que habitam este local.

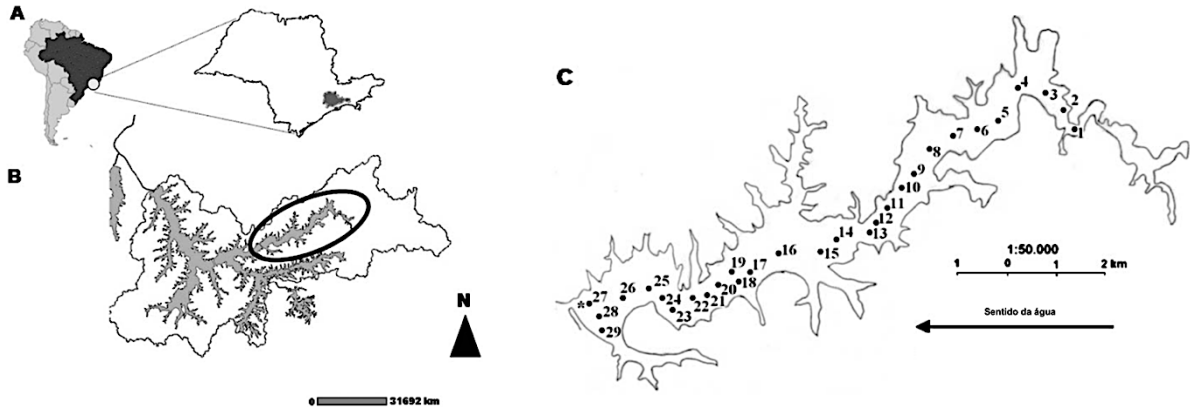


Figura 6: Pontos de coleta de sedimentos superficiais no reservatório Braço do Rio Grande. Fonte: Modificado de Mariani; Pompêo (2008).

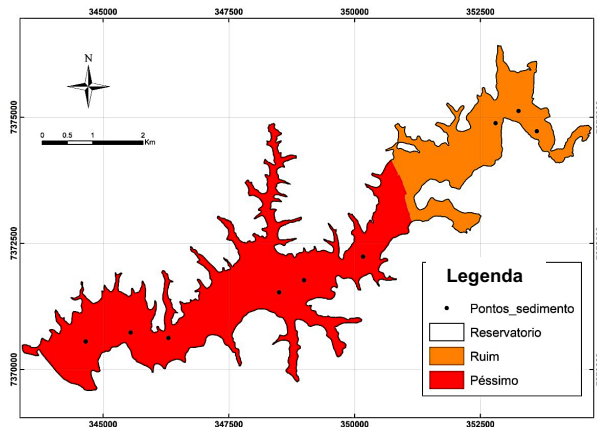


Figura 7: Zonas de qualidade de concentração de cobre nos sedimentos superficiais no reservatório Braço do Rio Grande. Fonte: Biamont-Rojas *et al.* (dados não publicados)

A presença de matéria orgânica (MO), o tamanho das partículas e as frações silteargilosas, contribuem na complexação dos metais depositados nos sedimentos (POMPÊO *et al.*, 2013). O sedimento funciona como sumidouro de contaminantes no ambiente aquático, devido às substâncias húmicas oriundas da MO presentes nos sedimentos, e exercem fundamental papel na biodisponibilidade desses contaminantes para o ambiente (BOTERO *et al.*, 2014). Entretanto, não é interessante este incremento de MO para complexação dos metais, pois este incremento inicialmente, como já citado anteriormente, proporciona condições para as florações de cianobactérias algais, e consecutivamente, culmina na queda da qualidade de água pela alteração dos parâmetros físicos e químicos.

Atualmente, estudos com outros contaminantes estão em andamento, principalmente os emergentes, como disruptores endócrinos (hormônios) e microplásticos (COELHO *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Os estudos com microplásticos, como comentado no capítulo 1, até este momento, ainda são incipientes nos reservatórios da RMSP.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É fundamental entender que os reservatórios são fornecedores de “serviços”, como a geração de energia elétrica, produção de água para o abastecimento público, a retenção de água para provimento em épocas de seca, para a pesca e produção de aquicultura, irrigação e lazer. Além destes serviços, os reservatórios também são o habitat de inúmeros organismos, vivendo de modo coordenado, em estreita relações entre eles e o meio físico. Deste modo, a recuperação da qualidade dos reservatórios é imprescindível para a sua manutenção como mananciais provedores desses serviços para a RMSP. O ordenamento territorial e a implementação de saneamento básico são etapas essenciais para que os reservatórios ainda preservados não se tornem mais um corpo hídrico morto de São Paulo, como hoje observamos nos Rios Pinheiros, Tamanduateí e Tietê, por exemplo.

Avaliar e analisar a qualidade da água e dos sedimentos permite que os gestores desenvolvam planos mais completos para a gestão dos recursos hídricos. O monitoramento regular é etapa crucial para subsidiar aos gestores públicos com informações qualificadas. Estas informações também contribuem para o desenvolvimento de políticas públicas que visam recuperar a qualidade, dos reservatórios já comprometidos, e a proteger aqueles que hoje se encontram em bons níveis de qualidade, para que todos possam manter seus importantes usos múltiplos e seguir mantendo seus serviços.

A utilização dos ensaios ecotoxicológicos, com organismos bioindicadores e biomarcadores de poluição, se mostram como boas ferramentas e dão respostas fidedignas da dinâmica do ambiente aquático. A ecotoxicologia conjuntamente com as análises físicas e químicas tradicionais, como nas determinações das concentrações das séries nitrogenadas e fosforadas, mostram a história do uso e ocupação dos reservatórios e dão “luz” ao futuro, direcionando qual o caminho é preciso ser tomado pelos Comitês de Bacia. Também é preciso ampliar as ações de educação ambiental para que a população contribua na fiscalização, na cobrança das autoridades e na própria proteção dos reservatórios.

REFERÊNCIAS

- ALI, F. K.; EL-SHEHAWI, A. M.; SEEHY, M. A. 2008 Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n.5, p. 606-612.
- ALMEIDA, P. S. de; SILVA, I. C. N. 2017 Regularização fundiária em áreas de conservação: análise da legislação ambiental e seus reflexos nas populações locais vulneráveis e no meio ambiente entre 2000-2010 no reservatório Billings impacto na saúde humana. **Revista Direito Ambiental e Sociedade**, Caxias do Sul, v. 7, n. 2, p. 239-264.
- ALVIM, A. A. T. B.; RONCA, J. L. C. 2007 Metodologia de Avaliação Qualitativa das Ações dos Comitês de Bacias com Ênfase na Gestão Integrada: O Comitê do Alto Tietê em São Paulo. **Eng. sanit. ambient.** v.12, n. 3, p.325-334.
- ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C. DE; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. 2007 Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.12, n.1, p.61-72.
- ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. 2014 Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos In: **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. São Carlos, RiMa, 2ª ed. 496p.
- ARAUJO, F. G.; GOMES, I. D.; NASCIMENTO, A. A. do; SANTOS, M. A. J. dos; SALES, A. 2019 Histopathological analysis of liver of the catfish *Pimelodus maculatus* in a tropical eutrophic reservoir from Southeastern Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.41, n.1, e41039.
- BAE, M. J.; PARK, Y. S. 2014 Biological early warning system based on the responses of aquatic organisms to disturbances: a review. **Sci Total Environ.**, v.466-467, p.635-649.

BALTRUSIS, N.; ANCONA, A. L. 2006 Recuperação Ambiental e Saúde Pública – O programa Guarapiranga. **Saúde e Sociedade** v.15, n.1, p.9-21.

BENITES, L. M.; DONCATO, K. B.; MINHO, T. DOS S.; PERAZZO, G. X. 2014 Avaliação do potencial mutagênico de cobre da água do rio Uruguai. **Ciência e Natura**, v. 36, n. 2, p.107-113.

BORELLI, E. A. 2013 Bacia do Guarapiranga: ocupação em áreas de mananciais e a legislação ambiental. **Revista de Ciências Sociais**, v. 25, p.189-202.

BOTERO, W. G.; SOUZA, S. de O.; SANTOS, O. S.; OLIVEIRA, L. C. de; AMARANTE, C. B. do. 2014 Influência das substâncias húmicas de sedimentos na biodisponibilidade de metais para o sistema aquático. **Química Nova**, v.37, n.6, p.943-949.

BRASIL 2005 Conselho Nacional de Meio Ambiente – **CONAMA. Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005.

BRASIL 2006 Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 212 p.

BROOKE, D.; RIBEIRO, D.; RODRIGUES, L.; CAMPOS, M.; MENDES, R. 2008 **Algas e seus impactos em sistemas de tratamento de águas para abastecimento: estudo de caso sistema Guarapiranga**. São Paulo: Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, Universidade de São Paulo, 9p.

BUCKERIDGE, M.; RIBEIRO, W. C. 2018 Uma visão sistêmica das origens, consequências e perspectivas das crises hídricas na Região Metropolitana de São Paulo. In: BUCKERIDGE e RIBEIRO (org): **Livro branco da água. A crise hídrica na Região Metropolitana de São Paulo em 2013-2015: Origens, impactos e soluções**. São Paulo: Instituto de Estudos Avançados, 2018. 175 p.

CAMPESTRI, I.; JARDIM, W. F. 2017 Occurrence of cocaine and benzoylecgonine in drinking and source water in the São Paulo State region, Brazil. **Science of The Total Environment** v. 576, p.374-380.

CARDOSO-SILVA, S.; NISHIMURA, P. Y.; PADIAL, P. R.; MARIANI, C. F.; MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPÊO, M. L. M. 2014 Compartimentalização e Qualidade da Água: o Caso da Represa Billings. **Bioikos**, v.28, n.1, p.31-43.

CARDOSO-SILVA, S.; LÓPEZ-DOVAL, J. C.; MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPÊO, M. L. M 2018 Metals and limnological variables in an urban reservoir: compartmentalization and identification of potential impacted áreas. **Environ Monit Assess**, v.190, 19.

CCME. 2001 **Canadian Water Quality Guidelines For The Protection Of Aquatic Life: CCME Water Quality Index 1.0: technical report**. Winnipeg. 13 p. Disponível em: <http://www.ccme.ca/assets/pdf/wqi_techrprfctst_e.pdf>.

CERVI, E. C.; POLETO, C. 2018 Ecological risk assessment of freshwater sediments in Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, n. 48, p.1–20.

CERVI, E. C.; HUDSON, M.; RENTSCHLER, A.; ALLEN-BURTON, G. JR. 2019 Metal Toxicity During Short-Term Sediment Resuspension and Redeposition in a Tropical Reservoir. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.38, n.7, p.1476–1485.

CHOU, J. S.; HO, C.C. HOANG, A. S. 2018 Determining quality of water in reservoir using machine learning. **Ecological Informatics**, v. 44, p.57-75.

COELHO, L. H. G.; JESUS, T. A. de; KOHATSU, M. Y.; POCCIA, G. T.; CHICAROLLI, V.; HELWIG, K.; HUNTER, C.; ROBERTS, J.; TEEDON, P.; PAHL, O. 2020 Estrogenic Hormones in São Paulo Waters (Brazil) and Their Relationship with Environmental Variables and *Sinapis alba* Phytotoxicity. **Water Air Soil Pollut**. v.231, 150.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB. 2004 **Relatório de Qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo 2003**. Anexos. São Paulo.

CETESB. 2019 Relatórios/Publicações. Águas Superficiais. **Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2018**. São Paulo. Base de dados. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aquassuperficiais/35-publicacoes/-relatorios>.

CETESB. 2020 Relatórios/Publicações. Águas Superficiais. **Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2019**. São Paulo. Base de dados. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/aqua/aquassuperficiais/35-publicacoes/-/relatorios>.

COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO – SABESP. 2008 **Dossiê – Sistema Guarapiranga**. São Paulo: SABESP, 16p.

CÔRTEZ, P. L.; TORRENTE, M.; PINTO, A. P. A.; RUIZ, M. S.; DIAS, A. J. G.; RODRIGUES, R. 2015 Crise de abastecimento de água em São Paulo e falta de planejamento estratégico. **Estudos Avançados**, v.29, n.84, p.7-26.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. 2008 A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820-1830.

COSTA, J. A. da; SOUZA, J. P. de; TEIXEIRA, A. P.; NABOUT, J. C.; CARNEIRO, F. M. 2018 Eutrophication in aquatic ecosystems: a scientometric study. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v.30, e2.

DORNFELD, C. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B. K.; NOVELLI, A. 2006 Comparação de bioensaios laboratoriais e “in situ” utilizando *Chironomus xanthus* na avaliação da toxicidade de sedimentos do rio Monjolinho (São Carlos, SP). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.** v. 2, n. 1, p. 161-165.

ESCAMES, E. F. 2011 **USINA PARQUE: Aproveitamento e valorização do patrimônio energético, ambiental e histórico da Usina Hidrelétrica de Henry Borden** – Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do ABC; Santo André, SP, 200p.

ESTEVES, F.A. 2011 **Fundamentos de Limnologia**. 3ª ed., Rio de Janeiro: Interciência. 826p.

FONTANA, L.; ALBUQUERQUE, A. L. S.; BRENNER, M.; BONOTTO, D. M.; SABARIS, T. P. P.; PIRES, M. A. F.; COTRIM, M. E. B.; BICUDO, D. C. 2014 The eutrophication history of a tropical water supply reservoir in Brazil. **J Paleolimnol**, v.51, p.29–43.

FRACÁCIO, R.; RODRIGUÊS, B. K.; CAMPAGNA, A. F.; VERANI, N. F.; DORNFELD, C. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G. 2009 In situ and laboratory evaluation of toxicity with *Danio rerio* Buchanan (1822) and *Poecilia reticulata* Peters (1859). **Acta Limnol. Bras.**, v. 21, n. 1, p. 111-122.

FURLAN, N.; QUINÁGLIA, G. A.; ESTEVES, K. E.; OSTI, J. A. S.; LAMPARELLI, M. C. 2018 Benthic Fish Blood as a Biomarker for Recent Exposure to Mercury. **Limnetica** v.37, n.1, p. 129-143.

GARGIULO, J. R. B. C.; MERCANTE, C. T. J.; BRANDIMARTE, A. L.; MENEZES, L. C. B. de. 2016 Benthic macroinvertebrates as bioindicators of water quality in Billings Reservoir fishing sites (SP, Brazil). **Acta Limnol. Bras.**, v. 28, e17.

GARGIULO, J. R. B. C. 2020 O Reservatório Billings in: POMPÊO M.; MOSCHINI-CARLOS, V. (orgs) **Reservatórios que abastecem São Paulo: problemas e perspectivas**. São Paulo, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p.136.

GLÓRIA, L. P.; HORN, B. C.; HILGEMANN, M. 2017 Avaliação Da Qualidade Da Água De Bacias Hidrográficas Através Da Ferramenta Do Índice De Qualidade Da Água – IQA. **Revista Caderno Pedagógico**, Lajeado, v.14 (1): 103-119.

GOMES, J. de L.; BARBIERI, J. C. 2004 Gerenciamento de recursos hídricos no Brasil e no Estado de São Paulo: um novo modelo de política pública. **Cad. EBAPE.BR**, v. 2, (3): p. 01-21.

GOMES, J. B.; PEREIRA, N. J.; SOUSA, E. L. de; SOUSA, D. da S.; LENZ, T. de M.; SANTOS, D. M. S. 2019 Evaluation of aquatic contamination in an urban lagoon environment in a coastal region in the north of Brazil, **Bioscience Journal**, v. 35, n. 3, p. 920-932.

ITIKAWA, V. K. 2009 **Mananciais e urbanização: recuperação ambiental na sub-bacia Billings: os bairros ecológicos em São Bernardo do Campo, São Paulo (1997-2007)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, SP. 213p.

ILOPOULOU-GEORGUDAKI, J.; KANTZARIS, V.; KATHARIOS, P.; KASPIRIS, P.; GEORGIADIS, Th.; MONTESANTOU, B. 2003 An application of different bioindicators for assessing water quality: a case study in the rivers Alfeios and Pineios (Peloponnisos, Greece). **Ecological Indicators**, v. 2, n. 4, p.345-360.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. 2019 **População estimada: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Estimativas da população residente com data de referência 1º de julho de 2019**. Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/panorama>. Acesso em 18 de agosto de 2020.

KLEINOW, K. M.; MELANCON, M. J.; LECH, J. J. 1987 Biotransformation and induction: implications for toxicity, bioaccumulation and monitoring of environmental xenobiotics in fish. **Environ Health Perspect.** v.71, p.105-19.

KOHATSU, M. Y.; JESUS, T. T. A. D.; MACHADO, G.; HARADA, J. 2021 Emprego da nanoargila na remoção de ortofosfato em ensaios de bancada: contribuição para a mitigação do processo de eutrofização. **Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação**, v.5, n.1, p.46-56.

LEAL, P. R.; MOSCHINI-CARLOS, V.; LÓPEZ-DOVAL, J. C.; CINTRA, J. P.; YAMAMOTO, J. K.; BITENCOURT, M. D.; SANTOS, R. F.; ABREU, G. C.; POMPÊO, M. 2018 Impact of copper sulfate application at an urban brazilian reservoir: a geostatistical and ecotoxicological approach. **Science of the Total Environment**, v. 618, p. 621-634.

LEAL, P. R.; POMPÊO M. 2020 O Reservatório Guarapiranga in: POMPÊO M.; MOSCHINI-CARLOS, V. (orgs) **Reservatórios que abastecem São Paulo: problemas e perspectivas**. São Paulo, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p.136.

LIMA, D. R. S.; TONUCCI, M. C.; LIBÂNIO, M.; AQUINO, S. F. de. 2017 Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v.22, n.6, p.1043-1054.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V. da S.; CIRIO, S. M. 2010 Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 8, n. 4, p. 469-484.

LOPEZ, A. C. C.; PAIVA, V. L. G. S.; HELD, B.; QUINAGLIA, G.; SÁ, L. R. M. 2016 Avaliação Anatomopatológica de Acarás (*Geophagus brasiliensis*) como Biomarcador de Poluição Ambiental da Represa Billings in: **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP** / Publicação do Conselho Regional de Medicina Veterinária. – v. 14, n. 1.

LÓPEZ-DOVAL, J. C.; BARATA, C.; DÍEZ, S. 2015 El Uso de Organismos como Indicadores de la Contaminación Y evaluación del Riesgo Sobre el Ecosistema Acuático en el Embalsede Flix (Catalunya, Ne De España) in: Pompêo *et al.* (Orgs.) **Ecologia de reservatórios e interfaces**, São Paulo. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 460p.

LÓPEZ-DOVAL, J. C.; MONTAGNER, C. C.; ALBURQUERQUE, A. F. de; MOSCHINI-CARLOS, V.; UMBUZEIRO, G.; POMPÊO, M. 2017 Nutrients, emerging pollutants and pesticides in a tropical urban reservoir: Spatial distributions and risk assessment. **Sci Total Environ.** v. 575, p.1307-1324.

MACHADO, L. dos S.; SANTOS, L. G.; DOVAL, J. C. L.; POMPÊO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V. 2016 Environmental factors related to the occurrence of potentially toxic cyanobacteria in Guarapiranga Reservoir, SP, Brazil. **Revista Ambiente & Água**, v.11, n.4., p. 810-818.

MACHADO, L. dos S.; SANTOS, L. G.; DOVAL, J. C. L.; POMPÊO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V. 2021 Comunidade fitoplanctônica e seus limitantes ambientais no reservatório de Guarapiranga, São Paulo SP. In: SILVA *et al.* (orgs). **RECURSO ÁGUA - Tecnologias e pesquisas para o uso e a conservação de ecossistemas aquáticos**. - 1. ed. – São Carlos, SP : Editora Cubo, 2021, E-book.

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

MARDONES, J. I. (2020) Screening of Chilean fish-killing microalgae using a gill cell-based assay. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v.48, n.2, pp.329-335.

MARIANI, C. F.; POMPÊO, M. L. M. 2008 Potentially bioavailable metals in sediment from a tropical polymictic environment – Rio Grande Reservoir, Brazil. **J Soils Sediments**, v.8, 284.

MAXIMIANO, A. de A.; FERNANDES, R. O. de; NUNES, F. P. ASSIS, M. P. de, MATOS, R. V. de, BARBOSA, C. G. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. 2005 Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.10, n.2, p.483-491.

- MONFARED, S. A. H.; DARMIAN, M. D.; SNYDER, S. A.; AZIZYAN, G.; PIRZADEH, B.; MOGHADDAM, M. A. 2017 Water Quality Planning in Rivers: Assimilative Capacity and Dilution Flow. **Bull Environ Contam Toxicol.**, v.99, p.531–541.
- MOSCHINI-CARLOS, V.; BORTOLI, S.; PINTO, E.; NISHIMURA, P. Y.; FREITAS, L. G.; POMPÊO, M. L. M.; DÖRR F. 2009 Cyanobacteria and Cyanotoxin in the Billings Reservoir (São Paulo, SP, Brazil). **Limnetica**, v. 28, p. 273-282.
- NANINI-COSTA, M. H.; QUINÁGLIA, G. A.; HELD, B.; PETESSE, M. L.; ESTEVES, K. E. 2018 Bioaccumulation of total mercury in *Platanichthys platana* (Regan, 1917), an invasive zooplanktivorous fish in the Billings complex (Upper Tietê River Basin, SP). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 3, p. 674-690.
- OGASHAWARA, I.; ZAVATTINI, J. A.; TUNDISI, J. G. 2014a The climatic rhythm and blooms of cyanobacteria in a tropical reservoir in São Paulo, Brazil. **Braz. J. Biol.**, São Carlos, v. 74, n. 1, p. 72-78.
- OGASHAWARA, I.; ALCÂNTARA, E. H. de; STECH, J. L.; TUNDISI, J. G. 2014b Cyanobacteria detection in Guarapiranga Reservoir (São Paulo State, Brazil) using Landsat TM and ETM+ images. **Revista Ambiente & Água**, v.9, n.2, p.224-238.
- OLIVEIRA, C. W. de S.; CORRÊA, C. dos S.; SMITH, W. S. 2020 Food ecology and presence of microplastic in the stomach content of neotropical fish in an urban river of the upper Paraná River Basin. **Rev. Ambient. Água**, v.15, n.4, e2551.
- OLIVER, S. L.; RIBEIRO, H. 2014 Variabilidade climática e qualidade da água do Reservatório Guarapiranga. **Estudos Avançados**, v.28, n.82, p.95-128.
- OLIVER, S. L.; IKEFUTI, P. V.; RIBEIRO, H. 2020 Cyanobacteria bloom variations and atmospheric variables, an environmental health contribution. **Rev. Ambient. Água**, v. 15, n. 4, e2523.
- PARANHOS, H. Saneamento do Lago de Santo Amaro, **Revista DAE**, 2: 177-193, 1937.
- PASSOS, A. G. 2017 Bioindicadores de qualidade da água: uma ferramenta para perícia ambiental criminal. **Acta de Ciências e Saúde**, v. 1, n. 1, p. 1-5.
- PIRES, D. A.; TUCCI, A.; CARVALHO, M. do C.; LAMPARELLI, M. C. 2015 Water quality in four reservoirs of the metropolitan region of São Paulo, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v.27, n.4, p.370-380.
- PEDUTO, T. de A. G.; JESUS, T. A. de; COELHO, L. H. G.; HANISCH, W. S.; MORETTO, M. R. D.; BENASSI, R. F. 2020 Phytotoxicological Assessment and its Relationship with Environmental Variables of Rio Grande Reservoir Waters (São Paulo State, Brazil). **REGET**, v.24, Ed. Especial, e15.
- POMPÊO, M. L. M. 2008 Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas. **Oecologia Brasiliensis** 12: 406-424.
- POMPÊO, M.; PADIAL, P. R.; FIORILLO, C. M.; CARDOSO-SILVA, S.; MOSCHINI-CARLOS, V., SILVA, D. C. V. R. da; PAIVA, T. C. B. de; BRANDIMARTE, A. L. 2013 Biodisponibilidade de metais no sedimento de um reservatório tropical urbano (reservatório Guarapiranga – São Paulo (SP), Brasil): há toxicidade potencial e heterogeneidade espacial?. **Geochimica Brasiliensis**, v.27, n.2, p.104-119.
- POMPÊO, M. L. M. 2017 O Controle da Flora e Fauna Aquáticas pela Resolução CONAMA 467: Considerações Sobre a Normativa Brasileira. **Revista do Departamento de Geografia Universidade de São Paulo**, v.33, p. 24–35.
- POMPÊO, M. L. M. 2020 Considerações Finais: Sugestões e Perspectivas. in: POMPÊO M.; MOSCHINI-CARLOS, V. (orgs) **Reservatórios que abastecem São Paulo: problemas e perspectivas**. São Paulo, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p.136.
- PORTO, M. F. A.; PORTO, R. La L. 2008 Gestão de bacias hidrográficas. **Estudos avançados**, v. 22, n. 63, p. 43-60.
- PRADO, P. S.; SOUZA, C. C.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E. 2011 Reproductive disruption in lambari *Astyanax fasciatus* from a Southeastern Brazilian reservoir. **Ecotoxicol Environ Saf.**, v.74, n.7, p.1879-87.
- REZENDE, K. F. O.; SANTOS, R. M.; BORGES, J. C. S.; SALVO, L. M.; SILVA, J. R. M. C. da. 2014 Histopathological and genotoxic effects of pollution on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) in the Billings Reservoir (Brazil). **Toxicology Mechanisms and Methods**, v.24, n.6, p.404–411.

- RODRIGUES, L. L.; SANT'ANNA, C. L. TUCCI, A. 2010 Chlorophyceae das represas Billings (Braço Taquacetuba) e Guarapiranga, SP, Brasil. **Rev. bras. Bot.**, v.33, n.2, p.247-264.
- ROSOLEN, V.; HERPIN, U.; COELHO, N. M. M.; COELHO, L. M.; BRITO, J. L. S.; SILVA, L. A. DA; LIMA, S. DO C. 2009 Qualidade dos sedimentos no rio Uberabinha (Uberlândia, MG) e implicações ambientais. **Revista Brasileira de Geociências**, v.39, n.1, p. 151-159.
- ROQUE, F. de O.; CORREIA, L. C. da S.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; STRIXINO, G. 2003 A review of Chironomidae studies in lentic systems in the State of São Paulo, Brazil. **Biota Neotropica**, v.4, n.2.
- SHAHID, S.; SULTANA, T.; SULTANA, S.; HUSSAIN, B.; IRFAN, M.; AL-GHANIM, K. A.; MISNED, F. A; MAHBOOB, S. 2021 Histopathological alterations in gills, liver, kidney and muscles of *Ictalurus punctatus* collected from pollutes areas of River. **Brazilian Journal of Biology**, v.81, n.3, p.814-821.
- SANTANA, L. M.; CROSSETTI, L. O.; FERRAGUT, C. 2017 Ecological status assessment of tropical reservoirs through the assemblage index of phytoplankton functional groups. **Braz. J. Bot**, v.40, p.695–704.
- SANTOS, A. A.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; FELIZARDO, N. N.; RODRIGUES, E de L. 2004 Histopatological analysis of the liver of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, reared in cage in Guarapiranga Reservoir, São Paulo State, Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.30, n.2, p.141-145.
- SÃO PAULO. 2011 **Lei Complementar do Estado de São Paulo nº 1.139 de 16 de junho de 2011**. Reorganização da Região Metropolitana da Grande São Paulo, cria o respectivo Conselho de Desenvolvimento e dá providências correlatas.
- SEPE, P. M. 2008 Análise das intervenções nas bacias hidrográficas da Guarapiranga e Billings no município de São Paulo. in: WHATELY *et al.* (Orgs.) **Mananciais: uma nova realidade?**. São Paulo, Instituto Socioambiental – ISA, p.335.
- SILVA, K. W. dos S.; EVERTON, N. dos As.; MELO, M. A. D. de. 2016 Aplicação dos índices biológicos Biological Monitoring Working Party e Average Score per Taxon para avaliar a qualidade de água do rio Ouricuri no Município de Capanema, Estado do Pará, Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, v.7, n.3, p.13-22.
- SILVA, D. C. V. R. da; QUEIROZ, L. G.; ALAMINO, D. A.; FERNANDES, J. G., CARDOSO-SILVA, S.; PAIVA, T. C. B.I de; POMPÊO, M. L. M. 2018 Avaliação da eficiência de um índice de estado trófico na determinação da qualidade da água de reservatórios para abastecimento público. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.23, n.4, p.627-635.
- SIQUEIRA, D.B.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. 2005 Cianobactérias de água doce e saúde pública: uma revisão. **Universitas Ciências da Saúde**, Brasília, v. 3, n. 1, p. 109-127.
- SOARES, M. C. S.; MARINHO, M. M.; AZEVEDO, S. M. O. F.; BRANCO, C. W. C. HUSZAR, V. L. M. 2012 Eutrophication and retention time affecting spatial heterogeneity in a tropical reservoir. **Limnologica**, v. 42, n.3, p.197-203.
- SOUSA, M. L.; CHOW, F.; POMPÊO, M. 2019 Community-level changes in periphytic biofilm caused by copper contamination. **J Appl Phycol.**, v.31, p.2401–2410.
- SOUZA, J.; MORAES, M.; SONODA, S.; SANTOS, H. 2014 A Importância da Qualidade da Água e os seus Múltiplos Usos: Caso Rio Almada, Sul da Bahia, Brasil. **REDE - Revista Eletrônica do PRODEMA**, v.8, n.1.
- SOUZA-SILVA, L.; FERREIRA, F.; FÁVARO, D. 2017. Avaliação da concentração de metais tóxicos em amostras de sedimentos dos reservatórios do complexo Billings (Guarapiranga e Rio Grande). **Geochimica Brasiliensis**, v.31, p.37–56.
- SOUZA, T. da S.; SOUZA, V. V. de; LASCOLA, M. B. 2018 Assessment of surface water using *Allium cepa* test and histological analysis in *Rhamdia quelen*. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.190: 420.
- TORREMORELL, A., HGOBURU, C., BRANDIMARTE, A.L., RODRIGUES, E.H., POMPÊO, M., CARDOSO-SILVA, S., MOSCHINI-CARLOS, V., CAPUTO, L., FIERRO, P., MOJICA, I., MATTA, A.P.L., DONATO, C., JIMÉNEZ, P., MOLINERO, J., RIOS-ROUMA, B., GOYENOLA, G., IGLESIAS, C., LÓPEZ-RODRIGUEZ, A., MEERHOFF, M., PACHECO, J.P., MELLO, F.T., RODRÍGUES-OLARTE, D., GOMEZ, M.B., MONTOYA, J.V., LÓPEZ-DOVAL, J.C.,

NAVARRO, E., 2021. Present and future threats for the ecological quality management of South American freshwater ecosystems. **Inland Waters**, <https://doi.org/10.1080/20442041.2019.1608115>

TUNDISI, J. G. 2008 Recursos hídricos no futuro: problemas e soluções. **Estudos Avançados**, v. 22, n. 63, p. 7-16.

VOIGT, C. L.; SILVA, C. P. da; DORIA, H. B.; RANDI, M. A.; OLIVEIRA-RIBEIRO, C. A. de; CAMPOS, S. X. de. 2015 Bioconcentration and bioaccumulation of metal in freshwater Neotropical fish *Geophagus brasiliensis*. **Environmental Science and Pollution Research International**. v.22, n.11, p.8242-8252.

YANG, S. Q.; FRENCH, R. 2017 Coastal reservoirs – an Australian water storage option, Australasian. **Journal of Water Resources**, v. 21, n.2, p.89-97.

YUSUF, Z.H. 2020 Phytoplankton as bioindicators of water quality in Nasarawa reservoir, Katsina State Nigeria. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, e4.

WHATELY, M.; SANTORO, P. F.; TAGNIN, R. A. 2008a **Contribuições para a elaboração de leis específicas de mananciais – O exemplo da Billings**. São Paulo, Instituto Socioambiental– ISA, p.32.

WHATELY, M.; SANTORO, P. F.; FERRARA, L. N.; BAJESTEIRO, F. B. 2008b **Mananciais: uma nova realidade?**. São Paulo, Editor: Instituto Socioambiental– ISA, p.335.

ZAGATTO, P. A. 2014 Ecotoxicologia in: **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. São Carlos, RiMa, 2ª ed. 496p.

CAPÍTULO 13

O MERCÚRIO NA AMAZÔNIA BRASILEIRA: CONJUNTURA E PERSPECTIVAS DE ESTUDOS

Sheila Cardoso-Silva^{1,2}

Lucas Pires de Oliveira^{1,3}

Marcelo Pompêo⁴

Lisandro Juno Soares Vieira¹

Rubens César Lopes Figueira²

1- Programa de Ecologia e Manejo de Recursos Naturais- MECO, Universidade federal do Acre (UFAC)

2- Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

3- Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade do Estado de Mato Grosso, Nova Xavantina, Brasil

4- Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Corresponding author. E-mail: she.cardosos@gmail.com

RESUMO

No Brasil os principais focos de contaminação por mercúrio estão localizados na região Norte do país. Atividades como a mineração de ouro, o desmatamento e a queimada das florestas Amazônicas são as principais fontes antrópicas deste elemento aos ecossistemas aquáticos. Neste trabalho efetuamos uma revisão da literatura sobre o Hg em ecossistemas aquáticos e nas populações ribeirinhas da Amazônia brasileira (2006-2021). Identificamos as áreas mais investigadas e buscamos discorrer sobre aspectos relacionados à geoquímica do Hg além de contextualizar a exposição biológica e humana ao Hg em suas diferentes formas. Os estudos se distribuíram de maneira uniforme entre os estados de Rondônia, Pará e Amazonas e apresentaram predominantemente abordagem geoquímica, ou tiveram como foco a análise de Hg em peixes. A ação dos pulsos de inundação sobre o ciclo do Hg foi tema recorrente. Diversos organismos apresentaram teores de Hg acima do recomendado para o consumo humano ou sinais de bioacumulação. Sugerimos que mais estudos na porção do “arco do desmatamento amazônico” sejam desenvolvidos. Recomendamos também que pesquisas baseadas na contaminação de Hg advinda do uso de agrotóxicos sejam efetuadas em áreas agrícolas, já que não encontramos nenhum trabalho com a temática. Além disso, estudos experimentais poderiam ser mais explorados, pois, podem responder importantes questões sobre a dinâmica do Hg onde o acesso ao trabalho em campo é dificultado.

INTRODUÇÃO

O mercúrio (Hg) é um elemento químico da classe dos metais de transição sendo um dos metais traço mais tóxicos no meio aquático (LUOMA; RAINBOW, 2008). O Hg ocorre naturalmente nos ambientes aquáticos em pequenas concentrações e seus efeitos ecológicos e toxicológicos são dependentes das espécies químicas presentes (ULRICH *et al.*, 2001). Entretanto, quando presente em concentrações significativas, seus efeitos adversos podem permanecer por décadas, mesmo quando as fontes emissoras já tenham sido extintas.

Além de seu estado elementar (Hg metálico) outras formas importantes deste elemento são o Hg inorgânico e o Hg orgânico. O metilmercúrio (MeHg), é a forma mais neurotóxica do Hg, podendo ser bioacumulado nos organismos e biomagnificado através das cadeias tróficas (MOLINA *et al.*, 2010). A metilação do Hg é consequência de processos ambientais, principalmente físico-químicos e, em menor medida, biológicos, por meio de bactérias presentes no sedimento e na coluna d'água (CLARKSON, 2002).

Caso emblemático da contaminação por MeHg ocorreu em Minamata no Japão. Durante a década de 1930 uma empresa instalou-se na região e lançou toneladas de MeHg na baía de Minamata (EKINO *et al.*, 2007). Em 1956 começaram a ser registrados os primeiros casos de intoxicação na população e oficialmente mais de duas mil pessoas foram intoxicadas pelo MeHg, contudo, o número estimado de pessoas que entraram em contato com o pescado contaminado da região é muito maior (HARADA, 1995; EKINO *et al.*, 2007). A partir do exemplo de Minamata diversos estudos e políticas públicas para restringir a contaminação por Hg foram implementadas. Em 2013, por exemplo, foi estabelecida a Convenção de Minamata com o objetivo de proteger a saúde humana e o meio ambiente das emissões e liberações de Hg. Cento e vinte e oito países assinaram a Convenção, e cinquenta e sete países a ratificaram, incluindo o Brasil (FENNER *et al.*, 2017).

No Brasil os principais casos de contaminação por Hg são registrados na região Amazônica, onde solos apresentem naturalmente elevados teores deste metal (SILVA *et al.*, 2009). A contaminação na região é advinda principalmente do uso do Hg na mineração do ouro. Os ribeirinhos amazônicos consomem pescado contaminado com o metal, em quantidades acima daquelas estabelecidas como segura pela Organização Mundial da Saúde (1,6 µg MeHg/kg de peso corporal) (CRESPO-LÓPEZ, 2021). A situação tem sido agravada recentemente, pois, além da mineração, o desmatamento, as queimadas e construção de barragens na região Amazônica têm atuado como importantes fontes de Hg aos ecossistemas aquáticos (MENDES *et al.*, 2019; CRESPO-LÓPEZ, 2021).

Neste manuscrito buscamos levantar o *status quo* das pesquisas publicadas em bases de dados internacionais desenvolvidas na região Amazônica Brasileira (2006-2021). Questionamos em quais estados da União os trabalhos têm sido majoritariamente desenvolvidos e em quais tipos de ecossistemas aquáticos. Buscamos discorrer sobre aspectos relacionados à geoquímica do Hg além de contextualizar a exposição biológica e humana ao Hg em suas diferentes formas. Por fim procuramos elencar alguns dos principais desafios nos estudos com o Hg na região Amazônica Brasileira.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram feitas buscas nas bases de dados do Scopus em fevereiro de 2021 com as palavras-chave: "Amazon" AND "mercury" AND "river" OR "stream" OR "Reservoir" OR "freshwater" OR "lake" e obtivemos um total de 328 trabalhos, em seguida limitamos a pesquisa aos trabalhos que tivessem a participação de instituições brasileiras (LIMIT-TO AFFILCOUNTRY,"Brazil"). Tivemos um retorno de 252 pesquisas. Focamos a análise nos últimos 15 anos (158 trabalhos). Na base de dados Scielo utilizamos as palavras-chave: "Amazon" AND "mercury" e tivemos um retorno de 59 artigos dos quais 25 referiam-se ao período de 2006 a 2021. Destes selecionamos apenas os trabalhos não encontrados na base de dados Scopus e que se referiam a estudos efetuados na Amazônia brasileira (12 trabalhos), totalizando 170 trabalhos. Para avaliar a possível contaminação de Hg no Acre associada ao aporte de fontes peruanas limitamos a base de dados Scopus do total de 328 artigos àqueles ligados a instituições peruanas (LIMIT-TO AFFILCOUNTRY,"Peru") e obtivemos um total de 9 trabalhos. Avaliamos, portanto, 179 manuscritos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Há uma tendência de aumento no número de estudos ao longo do tempo, sendo 2018 o ano com maior número de publicações (23) seguido pelo ano de 2020 (17). Do total de trabalhos 157 referem-se a artigos científicos, dez são revisões, três são capítulos de livro e três são trabalhos publicados em eventos. Dentro da base de dados Scielo não foi possível identificar todas as agências financiadoras das pesquisas. Considerando apenas a base de dados Scopus a maioria das pesquisas foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (55), pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (25) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (18), o que representou 45,58% das agências financiadoras, evidenciando assim a importância destas agências no fomento à pesquisa no país. Os centros de pesquisa mais citados de acordo com a base de dados Scopus foram: Universidade Federal do Rio de Janeiro, a Universidade de Brasília, a Universidade Federal do Pará, a Fundação Universidade Federal de Rondônia e a Universidade de São Paulo (Fig. 1). Entre os periódicos a grande maioria foi relacionada à área de ciências ambientais (113) seguido pelas áreas médica (31) e farmacológica, toxicológica, farmacêutica (28).

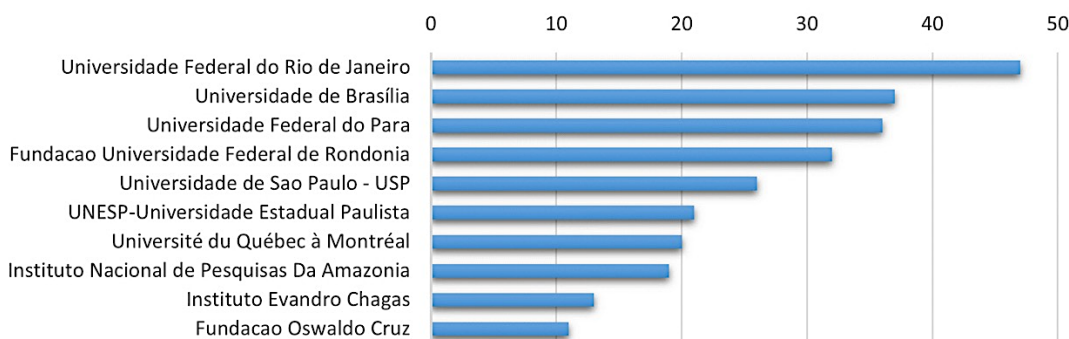


Figura 1: Número de estudos desenvolvidos com o Hg em estados da Amazônia Legal Brasileira por centro de pesquisas entre 01/2006 e 02/20021.

Estados e ecossistemas avaliados

Nos últimos quinze anos os estudos se distribuíram de maneira uniforme entre os estados de Rondônia, Pará e Amazonas (Fig. 2). Acre e Mato Grosso foram as áreas menos exploradas, apenas dois estudos por estado, respectivamente, enquanto não foram registrados estudos para Roraima. Seria interessante que estas áreas fossem investigadas já que apesar da exploração de ouro não ser tão intensa quanto aquela observada no Pará, por exemplo, é possível que estas regiões sejam impactadas por atividades advindas de outros países como o Peru, no caso do Acre. Além disso, o Acre apresenta-se dentro da área do arco de desmatamento Amazônico, sendo suscetível à contaminação por remobilização do mercúrio presente no solo e precipitação atmosférica.

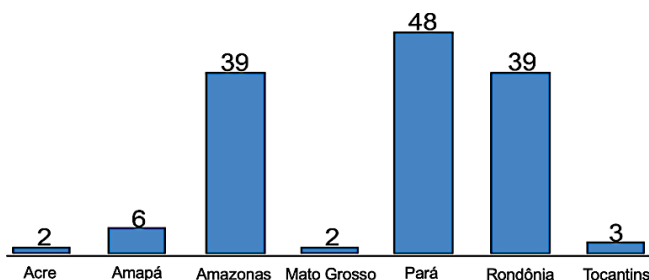


Figura 2: Número de estudos desenvolvidos com o Hg em estados da Amazônia Legal Brasileira entre 01/2006 e 02/20021.

A maior parte das pesquisas foram desenvolvidas em rios (Fig. 3), o que é justificável já que a bacia amazônica abrange um quinto de fluxo fluvial do planeta (SMITH, 2002). Para estes ecossistemas o maior número de estudos ocorreu nos estados do Amazonas (24), Pará (22) e Rondônia (13), respectivamente. Para reservatórios a maior parte dos trabalhos ocorreram no estado de Rondônia (17), na bacia do rio Madeira. Enquanto para lagos a maioria dos estudos foram desenvolvidos no estado do Amazonas (8). Pesquisas em reservatórios e lagos são importantes no que diz respeito à contaminação por Hg já que a possibilidade de estratificação e geração de condições anóxicas podem facilitar a metilação do Hg no hipolímnio destes ambientes.

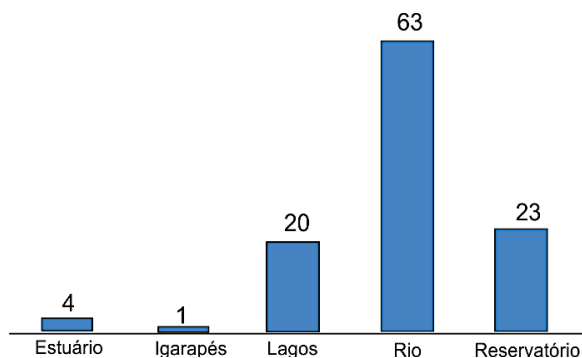


Figura 3: Número de estudos desenvolvidos com o Hg em ecossistemas aquáticos da Amazônia Legal Brasileira entre 01/2006 e 02/20021.

A maioria dos trabalhos em lagos foram desenvolvidos no lago natural do Puruzinho, (AM) seguido por estudos em Rondônia, no lago Cuniã, na bacia do Rio Madeira, um dos maiores afluentes da margem direita do Rio Amazonas. Os estudos apresentaram predominantemente abordagem geoquímica, ou tiveram como foco a análise de Hg em peixes. Cerca de 33% dos estudos em lagos e reservatórios avaliaram o compartimento sedimento, já que é o local onde os contaminantes, incluindo os metais, tendem a acumular nos ecossistemas aquáticos. Os peixes, por sua vez, são um grupo bastante investigado por estar associado diretamente à saúde pública. Sua capacidade em bioacumular e biomagnificar o Hg os torna uma fonte de contaminação para as populações consumidoras de pescado. Em lagos e reservatórios 52,38% dos estudos foram desenvolvidos com peixes, enquanto em rios este número foi de 45,31%. As pesquisas desenvolvidas em estuários e na região costeira ocorreram no estado do Amapá e Pará. Três trabalhos envolveram a determinação de Hg em sedimentos e um em cetáceo.

Matrizes abióticas

Os metais quando adentram o ecossistema aquático tendem a se ligar à fase particulada e a sedimentar. Assim, em um primeiro momento, a análise do Material Particulado em Suspensão (MPS) e sedimentos é mais recomendada do que a análise em água para avaliar a presença de contaminação num dado ambiente. Do total de trabalhos levantados 15,87%; 4,76% e 7,14% avaliaram os teores de Hg e/ou MeHg em sedimentos, MPS e água, respectivamente (Fig. 4). Apenas dois trabalhos investigaram o Hg atmosférico. Entre os trabalhos cuja análise incluiu matrizes abióticas 25,7% avaliaram também parâmetros bióticos.

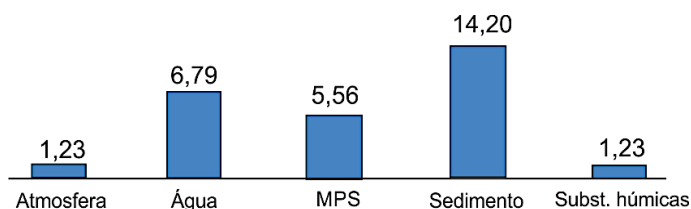


Figura 4: Porcentagem de estudos desenvolvidos com o Hg em matrizes abióticas de ecossistemas aquáticos da Amazônia Legal Brasileira entre 01/2006 e 02/20021.

De maneira geral as análises indicaram que as águas pretas amazônicas tendem a apresentar maiores concentrações de Hg em suas diferentes formas: Hg total (HgT), Hg inorgânico e Hg orgânico (MeHg) (BISINOTI *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2018) em relação às águas brancas e claras. Mesmo as águas pretas prístinas apresentam relativamente altas concentrações de Hg (SILVA *et al.*, 2009a; JARDIM *et al.*, 2010). A presença natural de Hg em solos e a deposição atmosférica são as principais fontes deste metal nestes ambientes (SILVA *et al.*, 2009). O caráter ácido e a grande quantidade de matéria orgânica favorecem a metilação nas águas pretas (KASPER *et al.*, 2017; VIEIRA *et al.*, 2018). Em relação ao potencial de metilação em ecossistemas de água brancas e claras os resultados divergem. Trabalho experimental, em microcosmo, com águas, sedimentos e solos de reservatórios e rios amazônicos mostrou um maior potencial de metilação do mercúrio no Rio Negro- AM (águas pretas), seguido pelos reservatórios do Jirau no Rio Madeira- RO (águas Brancas) e Cana Brava, no Rio Tocantins-GO (águas claras) (KASPER *et al.*, 2017). Por outro lado, Vieira *et al.* (2018), observaram a tendência: águas pretas > águas claras > águas brancas, para as concentrações totais de Hg e MeHg em sedimentos de rios da bacia do Rio Madeira. As diferenças podem estar associadas ao fato de Vieira *et al.* (2018) ter analisado um número maior de amostras ou à distintas pressões entre os corpos hídricos analisados.

Comumente, durante as cheias as concentrações de MeHg e/ou Hg foram mais altas tanto em rios (BISINOTI *et al.*, 2007; KASPER *et al.*, 2017) quanto em lagos (ALMEIDA *et al.*, 2014; BRITO *et al.*, 2017). Diversos trabalhos têm avaliado a influência dos lagos de várzea e rios na dinâmica do ciclo do Hg na Amazonia Central. Avaliando a heterogeneidade espacial e sazonal de Hg e MeHg no lago de várzea Janauacá (AM), localizado na Amazonia central na região do rio Solimões, Brito *et al.* (2017) observaram a formação de MeHg no período de estratificação do lago durante a estação chuvosa e sugeriram a transferência deste elemento para o rio Solimões. Este dado evidencia a importância dos lagos de várzea na formação e na transferência de MeHg para os rios. Por outro lado, Maia *et al.* (2018), através de modelagem matemática, concluíram que os lagos de várzea de Curuai não são a principal fonte de MeHg para o rio Amazonas. Ainda para a área de várzea de lagos e solos e sedimentos de rios da Amazônia Central, Araújo *et al.* (2017), observaram a influência dos rios na dinâmica do Hg em lagos. Através da análise de isótopos de Hg os autores sugeriram o aporte de sedimentos dos rios para os lagos, ao menos durante às épocas das cheias e apontaram a origem do Hg no MPS a partir de processos erosivos.

Os processos erosivos são uma importante fonte de Hg. Lacerda *et al.* (2012) observaram que mais de 90 % do Hg presente em água numa porção do Rio Madeira, entre 1997 e 2002, estava associada à fração particulada devido ao aumento dos usos e ocupação do solo e conseqüente aumento dos processos erosivos. Além de processos erosivos o Hg associado ao MPS no meio aquático pode ser advindo de material orgânico, incluindo a decomposição de macrófitas aquáticas, principalmente em reservatórios, já que estes ambientes são favoráveis à proliferação destes vegetais. No reservatório de Samuel (Porto Velho - RO), a concentração de Hg tendeu a ser maior no MPS do que nos sedimentos (PESTANA *et al.*, 2016). A presença de concentrações de Hg mais elevada em folhas e raízes de macrófitas podem ter atuado como contribuinte no MPS, principalmente durante o período seco. Também no reservatório Samuel elevados teores de Hg e MeHg em MPS foram associados às maiores taxas de C:N, ou seja, a maiores teores do aporte de matéria orgânica no período seco (PESTANA *et al.*, 2019).

Uma vez que o Hg na região Amazônica pode ter origem geogênica e antrópica é importante diferenciar quais as fontes deste elemento no meio aquático para que medidas apropriadas de restauração e recuperação sejam tomadas. Bonotto *et al.* (2018), por exemplo, procuraram caracterizar a contribuição das fontes geogênicas e antrópicas de Hg em testemunhos sedimentares de lagos da bacia do Rio Madeira, através de modelagem Bayesina. Os autores observaram que o Hg nos sedimentos dos lagos está positiva e negativamente relacionado a óxidos (Al_2O_3 , Fe_2O_3 , TiO_2 , SiO_2 , MgO , CaO , Na_2O e K_2O - que tipicamente representam a composição das rochas, solos e sedimentos). As relações positivas indicaram a influência das formações geológicas e do solo na origem do Hg enquanto as relações negativas sugeriram a fonte antrópica associada principalmente à atividade de mineração do ouro. Apesar da mineração na região ter sido cessada, concentrações elevadas de Hg ainda foram registradas. Bastos *et al.* (2006), também avaliando a bacia hidrográfica do rio Madeira, observaram elevadas concentrações de Hg tanto em peixes quanto na população local. A remobilização do Hg dos sedimentos de fundo mais a reemissão do solo devido às mudanças no uso da terra são provavelmente responsáveis por manter altas concentrações de

Hg nos lagos (BONOTTO et al., 2018) e nas amostras biológicas (BASTOS et al., 2006). Assim, as fontes autóctones são também um fator importante na contaminação por Hg.

Outros estudos avaliando testemunhos sedimentares, porém com um enfoque na reconstituição do histórico de impactos por Hg e estabelecimento de condições de referência foram efetuados em lagos de várzea na bacia hidrográfica do Rio Tapajós- (PA) (OESTREICHER et al., 2017) e lagos na bacia do Rio Madeira (RO) (BONOTTO; VERGOTI, 2015). Em estuários da região do Amapá e Pará, de maneira geral os sedimentos não foram considerados contaminados por Hg (SIQUEIRA; APRILE, 2012; XAVIER et al., 2020). O valor de referência para a região foi estimado em 0,04 mgHg/kg e foram considerados predominantemente de origem geogênica (XAVIER et al., 2020). Siqueira et al. (2018), analisando uma área de estudo maior e aplicando o fator de enriquecimento e valores guia de qualidade de sedimento não observaram enriquecimento significativo e a maior parte dos pontos analisados apresentaram valores menores que TEL (0,13 mgHg/kg), ou seja, os efeitos tóxicos adversos são improváveis. Tais estudos constituem uma ferramenta importante para estabelecer valores regionais, avaliar a possível presença de toxicidade e a eficiência de políticas públicas que visem conter a contaminação por Hg.

Sabe-se que compostos orgânicos são importantes fases complexadoras de metais, sendo necessário avaliar a ação destes e do Hg na região amazônica, principalmente. Dois trabalhos avaliaram sazonalmente a interação entre os teores de Hg e as substâncias húmicas no Rio Negro (OLIVEIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2012). As substâncias húmicas são compostos orgânicos, amorfos, escuros com grande conteúdo de grupos orgânicos oxigenados, como grupos carboxílicos, fenólicos, enólicos, alcoólicos, quinonas, entre outros e são resistentes à degradação biológica e química (OLIVEIRA et al., 2007). Os autores observaram que as substâncias húmicas possuem diferentes características estruturais, dependendo do período sazonal. A capacidade das substâncias húmicas em formar complexos com Hg (II) não está diretamente relacionada ao seu teor de carbono, mas sim à natureza e disponibilidade dos grupos funcionais presentes em sua estrutura. Os grupos funcionais carboxílicos e aromáticos estão diretamente relacionados à maior capacidade de complexação de AHS por íons mercúrio (OLIVEIRA et al., 2012).

Apesar das queimadas e desflorestamento alterarem diretamente o ciclo do Hg através da emissão de Hg do solo para a atmosfera, apenas dois trabalhos investigaram os fluxos invasivos (direção do fluxo: corpo d'água – atmosfera) e evasivos do Hg (direção do fluxo: atmosfera- corpo d'água). Ambos os trabalhos foram desenvolvidos na bacia do Rio Negro e mostraram que as entradas de Hg nos corpos hídricos são maiores do que as saídas (SILVA et al., 2006; SILVA et al., 2009b). O fluxo evasivo anual de Hg foi estimado em 2% do fluxo invasivo por deposição úmida anual total (SILVA et al., 2006), promovendo assim um acúmulo de Hg na bacia hidrográfica.

Matrizes bióticas

As matrizes bióticas foram utilizadas tanto para avaliar o potencial de bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica quanto para compreender a ação dos pulsos de inundação sobre as comunidades aquáticas e melhor compreender a ciclagem do Hg. Excluindo as populações humanas ribeirinhas, o grupo biológico mais avaliado foi o de peixes (51 trabalhos) seguido pelos répteis (9 trabalhos) (Fig. 5). Isto porque são grupos de valor comercial, consumidos pelas comunidades ribeirinhas e, por estarem em níveis tróficos mais elevados, apresentam uma maior tendência de biomagnificar o mercúrio.

Macrófitas aquáticas e comunidade perifítica

Macrófitas são reconhecidas pela capacidade de acumular metais. A concentração destes elementos neste grupo pode ser até 10000 vezes maior daquela encontrada em água (ALBERS ; CAMARDASE, 1993). Além disso, a interação da comunidade perifítica e de macrófitas aquáticas promove um meio propício à metilação do Hg (COELHO-SOUZA et al., 2011). Quatro trabalhos utilizaram o grupo das macrófitas aquáticas para melhor compreender a dinâmica do Hg nos ambientes aquáticos. As pesquisas foram desenvolvidas no lago Cuniã e no reservatório da Usina Hidrelétrica de Samuel em Rondônia e em lagoas da bacia hidrográfica do Rio Tapajós (Pará). No lago Cuniã o objetivo foi avaliar a ação do pulso de inundação na transferência do Hg entre o lago e o rio Madeira (PESTANA et al., 2019a). No reservatório Samuel foi avaliado o acúmulo de MeHg pelas raízes das macrófitas aquáticas e a

translocação para outros tecidos vegetais (PESTANA *et al.*, 2019b) além de avaliar as concentrações em diferentes períodos do ano (PESTANA *et al.*, 2006). Os autores observaram que as raízes das macrófitas deste reservatório apresentaram maior porcentagem de MeHg, e tanto as raízes quanto os frutos da espécie *Oryza sp.* são os tecidos críticos para a transferência de MeHg para outros organismos da cadeia trófica deste reservatório. Ademais as macrófitas aquáticas pareceram contribuir para a formação de MPS durante o período de vazante (PESTANA *et al.*, 2006).

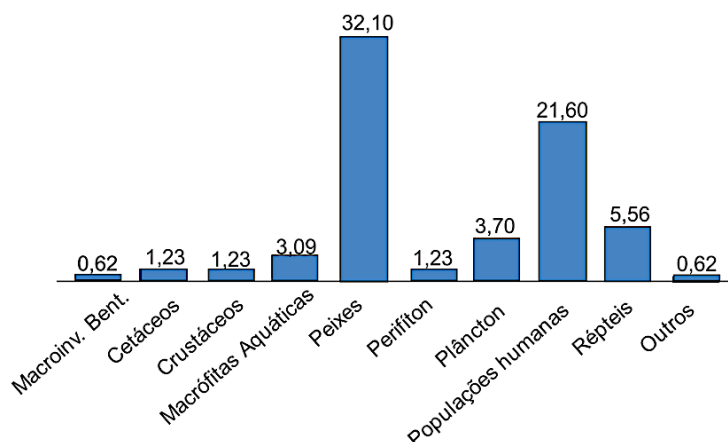


Figura 5: Porcentagem de estudos desenvolvidos com o Hg em matrizes bióticas de ecossistemas aquáticos da Amazônia Legal Brasileira entre 01/2006 e 02/20021.

Na bacia do Rio Tapajós foi avaliada a importância da comunidade perifítica associada às raízes de macrófitas aquáticas (*Paspalum repens*) no ciclo biogeoquímico de Hg. Os autores observaram que o pulso de inundação pode influenciar a composição do perifíton, o acúmulo de mercúrio e a produção de metilmercúrio (COELHO-SOUZA *et al.*, 2011). LÁZARO *et al.* (2018) também utilizaram a comunidade perifítica para avaliar a variação do potencial da produção de metilmercúrio em relação às características biológicas do perifíton, fatores ambientais e estações do ano, incluindo o período do pulso de inundação. Os autores mostraram que há diferenças na metilação do mercúrio ao longo do ano e que bactérias perifíticas distintas exercem primordialmente esse papel no período seco e chuvoso. Além disso, a produtividade primária de algas perifíticas contribuiu para a produção de MeHg.

Plâncton e macroinvertebrados

Um total de seis trabalhos abordaram a análise de Hg na comunidade fito e zooplancônica, seja a análise exclusiva na comunidade planctônica ou em conjunto com outros organismos da cadeia trófica. Na comunidade planctônica, a contaminação ocorre tanto por adsorção quanto por absorção (Fisher e Hook, 2002). Dois trabalhos foram efetuados com crustáceos e um trabalho avaliou o Hg na comunidade de macroinvertebrados bentônicos entre outros indivíduos da teia trófica e matrizes abióticas.

Na usina hidrelétrica Samuel, em Rondônia a bioacumulação de Hg foi avaliada na comunidade planctônica em diferentes áreas do reservatório. Os autores observaram que embora a composição fito e zooplancônica possa influenciar a concentração de Hg acumulada, as concentrações de Hg no plâncton não explicaram a distribuição destes organismos nas diferentes áreas amostradas (NASCIMENTO *et al.*, 2020). A bioacumulação de Hg pela comunidade planctônica foi corroborada também no lago Janaucá, na Amazônia Central (BRITO *et al.*, 2017). O lago funcionou como uma importante fonte Hg e MeHg para o Rio Solimões.

O padrão de maiores teores de Hg em águas negras, em relação às águas brancas e claras foi refletida também nas comunidades planctônicas e de macroinvertebrados bentônicos (VIEIRA *et al.*, 2018). A análise de Hg em crustáceos tanto no Rio Madeira (RO) (GALVÃO *et al.*, 2018) quanto na bacia do Rio

Aurá, localizado na região metropolitana de Belém (PA) indicaram a bioacumulação nestes indivíduos. Há o risco de contaminação da população local pela ingestão destes organismos, principalmente na bacia do Rio Aurá, pelo consumo da espécie de interesse comercial *Macrobrachium amazonicum* (COSTA *et al.*, 2020).

Peixes

A temática dos trabalhos com peixes distribuiu-se de maneira uniforme entre as avaliações de bioacumulação e/ou biomagnificação (29,17%), análise de Hg na cadeia trófica (27,08%) e o risco associado ao consumo humano (31,25%). Trabalhos com abordagem fisiológica corresponderam a 12,50 % das pesquisas, todas elas desenvolvidas em reservatórios. A grande maioria dos estudos foram desenvolvidos em rios (58,33%), seguido por reservatórios (29,17%) e lagos (12,50%).

Os resultados diferem quanto a bioacumulação entre áreas e espécies utilizadas para a análise. De maneira geral espécies de topo de cadeia (KEHRIG, 2008; KERIG, 2009; BASTOS *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2012; KASPER *et al.*, 2012, BASTOS *et al.*, 2015a) assim como espécies de maior tamanho (BELGER; FORSBERG, 2006) tenderam a apresentar teores mais elevados tanto de Hg quanto MeHg. Grande parte dos estudos não mostrou diferenças significativas na acumulação de Hg entre indivíduos de sexos distintos (machos/fêmeas). O que foi corroborado em pesquisa de Bastos *et al.* (2016) que avaliaram um número significativo de indivíduos (n= 2538), sugerindo, portanto, que o sexo não é um fator que influencia a bioacumulação de Hg na maioria das espécies. Exceção ocorreu para espécies dos gêneros *Brachyplatystoma*, *Pseudoplatystoma* e *Zungaro*, no Rio Madeira (BASTOS *et al.*, 2015b) e em 4 espécies de um total de 41 avaliadas no mesmo rio (BASTOS *et al.*, 2016).

Variações sazonais na bioacumulação de Hg ao longo da cadeia trófica nos ecossistemas amazônicos apresentam resultados distintos (AZEVEDO *et al.*, 2019). Bastos *et al.* (2008) não encontraram variações nos teores de Hg em tecidos de peixes do rio Madeira, porém no mesmo rio variações foram observadas para *Hoplias malabaricus* (BASTOS *et al.*, 2007). De maneira geral durante as chuvas pode-se esperar teores mais elevados de Hg devido ao aporte advindo da lavagem dos solos da bacia hidrográfica, os quais apresentam naturalmente teores elevados de Hg (ROULET *et al.*, 2001), o que poderia ser refletido na biota. Isto foi corroborado em espécies detritívoras, herbívoras e onívoras no lago Puruzinho (AM), no oeste da Amazônia, na região do rio Solimões (AZEVEDO *et al.*, 2019) e na tríplice fronteira entre Peru, Colômbia e Brasil (SILVA *et al.*, 2019). Entretanto, espécies demersais de peixe no lago Puruzinho tenderam a apresentar maiores teores de Hg no período seco. Estes distintos resultados mostram a complexidade dos ecossistemas amazônicos.

Diversas espécies em distintos locais apresentaram valores em tecido maiores que aqueles estabelecidos pela organização mundial da Saúde (OMS) ($0,5 \mu\text{g Hg g}^{-1}$) (BERGER; FORSBERG, 2006; HACON *et al.*, 2014; CASTILHO *et al.*, 2015). As porcentagens acima dos valores referência da OMS variaram, por exemplo, entre 17% no rio Tapajós (PA), 18% no reservatório Samuel (RO) (SILVA *et al.*, 2012) 50% na bacia do rio Roosevelt (RO) (Anjos *et al.* 2016) e 76% (BASTOS *et al.*, 2015) na bacia do rio Madeira (RO). O que representa um risco às populações ribeirinhas consumidoras de pescado, sendo maior o risco quanto maior o consumo de espécies piscívoras. No rio Tapajós, mesmo em áreas não impactadas observou-se acúmulo de MeHg em espécies piscívoras (MARTIN-DIOMEDIADIOS, 2014) e acúmulo de Hg no fígado (VIEIRA *et al.*, 2011). Bastos *et al.* (2006), em áreas do baixo Rio Madeira, onde a mineração do ouro foi cessada entre 15 e 20 anos antes das amostragens, identificaram concentrações de Hg em peixes e na população local semelhantes àquelas encontradas durante o período de mineração. A persistente concentração elevada de Hg nas amostras biológicas foi associada à remobilização do Hg dos sedimentos de fundo e a reemissão do solo devido às mudanças no uso da terra (BASTOS *et al.*, 2006). Portanto, apesar da diminuição de fontes de Hg, o risco à biota e população ribeirinha ainda se fazem presentes anos após a supressão das fontes de contaminação.

Também foram efetuados diversos trabalhos com abordagem fisiológica, entre eles a análise de proteínas associadas ao Hg (VIEIRA *et al.*, 2018; CUNHA-BATAGLIOLI *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2019; CAVECCI-MENDONÇA *et al.*, 2020). Quando o Hg bioacumula no organismo ele pode se associar a metaloproteínas, deslocando átomos de elementos essenciais para o funcionamento adequado destas

metaloproteínas. Este processo de ligação pode inativar enzimas e alterar a atividade celular (VIEIRA *et al.*, 2018).

Dois trabalhos focaram a análise de Se em peixes. Embora a exposição a Se ou Hg possa causar efeitos adversos à saúde, a co-ocorrência desses elementos pode ter efeitos antagonísticos em vez de aditivos (LINO *et al.*, 2020). Sampaio-Silva *et al.* (2013) investigaram os teores de Hg e Se em cinco espécies de peixes de diferentes níveis tróficos (herbívoros, onívoros, piscívoros) no rio Tapajós, e observaram padrões inversos de distribuição de metais nos tecidos desses organismos. Os autores sugerem a escolha de espécies herbívoras para consumo em detrimento às espécies piscívoras. As espécies herbívoras apresentaram maiores teores de Se e menores teores de Hg, diminuindo assim o risco de efeitos adversos causados pelo Hg à população consumidora. Ainda no Rio Tapajós, Lino *et al.* (2020), investigando o meio abiótico e organismos de diferentes níveis da cadeia trófica, observaram que o Se reduziu potencialmente a bioacumulação de Hg nos níveis tróficos mais elevados (peixes carnívoros), mas não foi possível observar o mesmo em espécies de peixes não carnívoros e no plâncton.

Répteis

De maneira geral a análise de Hg neste grupo buscou principalmente identificar sua bioacumulação e biomagnificação e o risco associado ao consumo destes indivíduos. A maioria das pesquisas foram desenvolvidas com espécies em habitat fluvial. Apenas dois trabalhos foram desenvolvidos em lagos e reservatórios. No lago Cuniã (RO), sedimentos, peixes e jacarés foram investigados quanto ao teor e a bioacumulação do Hg (GOMES *et al.*, 2020). No reservatório de Mamirauá (AM), Correia *et al.* (2014) avaliaram a bioacumulação na espécie comercializada de jacaré *Melanosuchus niger* (jacaré-açu) e o risco associado ao consumo humano. Os autores estimaram que o risco existiria caso o consumo médio do animal fosse de 200 g por dia, portanto um risco baixo.

No rio Xingu (PA) foi avaliada a bioacumulação de Hg no cágado *Podocnemis unifilis* através da análise de diversos tecidos (músculo, fígado, gordura e sangue), em indivíduos de diferentes sexos e tamanhos. Maiores concentrações de Hg foram encontradas em fígado, porém em comparação com outras espécies de répteis amazônicos a acumulação é mais baixa. Não foi observada diferenças significativas entre sexos, mas correlações negativas significativas entre o tamanho dos indivíduos e concentração de Hg foram registradas (SOUZA-ARAÚJO, 2015).

No rio Negro foi avaliada a concentração de Hg no músculo de seis espécies de cágados (*Podocnemis erythrocephala*, *Podocnemis unifilis*, *Podocnemis sextuberculata*, *Podocnemis expansa*, *Peltocephalus dumerilianus* e *Chelus fimbriatus*) consumidos pela população local. Apenas *C. fimbriatus* apresentou risco ao consumo por apresentar concentrações próximas ao limite máximo estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde e pelo ministério da Saúde brasileiro (500 µg/kg), e risco à população pelo consumo (SCHNEIDER *et al.*, 2010). Em contrapartida, em tributários do Rio Negro, Burger *et al.* (2010) analisando amostras de sangue de *Podocnemis sextuberculata*, *Podocnemis erythrocephala*, *Peltocephalus dumerilianus*, *Chelus fimbriatus* não encontraram valores de Hg altos o suficiente para causar risco à saúde dos animais e consumidores. Embora indivíduos de maior tamanho tenderam apresentar concentrações mais elevadas de Hg.

No Rio Purus, as espécies de jacaré *Melanosuchus niger* e *Caiman crocodilus crocodilos* apresentaram teores de Hg inferiores aos limites para consumo estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde e pelo ministério da Saúde brasileiro para peixes (500 µg/kg), já que não há padrões definidos para o consumo de répteis. Os autores alertaram para o risco de problemas de saúde associados ao Hg caso o consumo seja frequente (SCHNEIDER *et al.*, 2012). Ainda no Rio Purus, Schneider *et al.* (2015) utilizaram os cágados *Podocnemis unifilis* e *Podocnemis expansa* e os jacarés *Melanosuchus niger* e *Caiman crocodilos* como modelo para avaliar qual tecido (queratina, ossos e músculo) seria melhor preditor da concentração de Hg. Além disso, os autores associaram os anéis de crescimentos dos cágados com o acúmulo de Hg. A queratina foi considerada um melhor preditor de exposição ao Hg, apresentando a vantagem de ser uma técnica menos invasiva, ideal para o biomonitoramento (SCHNEIDER *et al.*, 2015). Ademais, a medição de Hg nos anéis de crescimento da carapaça dos cágados, apresentaram um potencial significativo para estimar a bioacumulação de Hg ao longo do tempo. Em contrapartida, na espécie

Podocnemis sextuberculata, Schneider *et al.* (2011) observaram que a análise de sangue é um método não invasivo melhor preditor da concentração de Hg, em fígado e músculo, do que o uso da carapaça. Portanto, os resultados podem divergir em relação às espécies e tecidos na predição da bioacumulação de Hg.

Cetáceos

Apenas dois trabalhos investigaram os teores de Hg em cetáceos. Análises em tecido muscular de Cetáceos de região estuarina do Amapá em comparação com análises em cetáceos que habitam rios amazônicos sugerem que a costa litorânea contém baixos teores de Hg na forma biodisponível (MOURA *et al.*, 2012).

Saúde pública

Do total de trabalhos avaliados, 23% apresentaram um viés de saúde pública, focando a análise de Hg nas populações humanas. As populações avaliadas foram provenientes dos estados do Pará (62.5%), Rondônia (30%) e Amazonas (3%). Entre os métodos para avaliar a acumulação de Hg nas populações a análise em amostras de cabelo foi bastante utilizada. Isto porque os cabelos apresentam a vantagem de serem facilmente coletados, armazenados e manipulados (AIREY *et al.*, 1983). Além disso os níveis de Hg em cabelo estão fortemente correlacionados com a ingestão alimentar de MeHg (CASTRO; LIMA *et al.*, 2018). Outras matrizes avaliadas para análise dos teores de Hg nas populações foram: sangue, leite materno e urina.

Grupos mais vulneráveis à contaminação por Hg, mulheres grávidas, fetos e crianças (CASTRO; LIMA *et al.*, 2018) representaram 25% dos trabalhos relacionados à análise de Hg nas populações. Embora tenha sido identificado acúmulo de Hg em mães lactantes (MARQUES *et al.*, 2013; CERBINO *et al.*, 2018; CUNHA *et al.*, 2018) não foi observada transferência de Hg às crianças (MARQUES *et al.*, 2013; CUNHA *et al.*, 2018). Diversos trabalhos focaram a análise dos efeitos adversos neurotóxicos (KHOURY *et al.*, 2013; KHOURY *et al.*, 2015; COSTA-JÚNIOR *et al.*, 2017; SILVA-JÚNIOR *et al.*, 2018) e à visão (COSTA *et al.*, 2008; FILION *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2018; FEITOSA-SANTANA *et al.*, 2018; FREITAS *et al.*, 2018) causados pelo Hg. Silva-Júnior *et al.* (2018), por exemplo, observaram elevado consumo médio de espécies carnívoras contaminadas por Hg (80,5%) no Rio Xingu (Pará) e problemas de saúde na população local associados à intoxicação por Hg como: problemas de visão (43,3%); perda de memória (42,9%); fraqueza (35,1%); fadiga (34,3%), mudanças de humor (28,7%) e dificuldades de concentração (27,2%). Em comunidade ribeirinha do Rio Tapajós (Pará) Costa-Junior *et al.* (2017), também observaram teores de Hg em cabelo acima do recomendado pela OMS (6 mg/kg) e sinais de efeitos adversos neurológicos em até 71% da população local avaliada. Vale salientar, contudo que nem sempre foram identificadas significativas alterações neurológicas associadas à contaminação por Hg (KHOURY *et al.*, 2013), mesmo ao longo de um mesmo rio os resultados podem divergir. As diferenças podem estar associadas a uma série de fatores, como o local de amostragem, os hábitos de consumo da população local, a presença de fontes mineradoras de ouro, entre outros fatores.

Como exposto anteriormente o Se possui efeito sinérgico com o Hg, podendo diminuir os efeitos tóxicos deste elemento. Alguns estudos adotaram a análise da ação de Se e Hg e os efeitos adversos na população (Lemire *et al.*, 2006, 2010, 2011; FAIAL *et al.*, 2015). Lemire *et al.* (2010), por exemplo, com base na população avaliada, sugerem que em pessoas com elevados teores de Hg, os efeitos cataratogênicos do Hg poderiam ser compensados pelo Se.

Buscando identificar os fatores de vulnerabilidade da população de mulheres ribeirinhas à contaminação por Hg na região da bacia do rio Xingu (Pará), Silva *et al.* (2018) observaram que mulheres acima dos 60 anos de idade, com até três anos completos de escolaridade, sem acesso a banheiros, fumantes e com pelo menos uma doença crônica não transmissível apresentaram maior probabilidade de apresentar sintomas de intoxicação por Hg. A falta de acesso aos serviços de saúde, a baixa escolaridade e renda evidenciam a suscetibilidade dessa comunidade ao agravamento da intoxicação por Hg. Este resultado poderia ser estendido a outras localidades e mostra que para diminuir os riscos de contaminação

por Hg, não basta reduzir as fontes, mas desenvolver políticas públicas que levem a uma maior conscientização da população local, bem como provê-las de assistência em saúde e educação.

O estado do Acre

Desde 2010, dois trabalhos avaliaram a contaminação em peixes por Hg no estado do Acre (CASTRO *et al.*, 2016; REIS *et al.*, 2020). CASTRO *et al.* (2016) avaliaram o teor de Hg em sedimentos e em peixes coletados, em novembro de 2013, ao longo do rio Purus (Acre) e em uma comunidade ribeirinha do município de Manoel Urbano. Como resultados, os autores verificaram que as amostras de sedimentos analisadas indicaram que o ambiente investigado está de acordo com rios amazônicos “não contaminados”. Em relação às espécies de peixes, os carnívoros apresentaram o mais alto nível de Hg no músculo (média de 0,927 µg/g–1), seguido por piscívoros (média de 0,873 µg/g–1), com 44% do total de espécies coletadas apresentando níveis médios de HgT no músculo superior ao limite recomendado pela OMS. As espécies com limites superiores ao sugerido pela OMS foram: *Calophysus macropterus* (Lichtenstein, 1819), *Hydrolycus scomberoides* (Cuvier, 1819), *Rhaphiodon vulpinus* (Spix & Agassiz, 1829), *Cetopsis coecutiens* (Lichtenstein, 1819), *Sorubim lima* (Bloch & Schneider, 1801), *Pinirampus pirinampu* (Spix, 1829), *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) e *Hypophthalmus edentatus* (Spix & Agassiz, 1829). Os nomes populares das espécies seguem a seguir: piracatinga, peixe cachorro, cachorra falcão, peixe gato, sorubi bico de pato, peixe barbado, pescada amazônica e mapará, respectivamente. Com exceção de *C. coecutiens*, essas espécies são comercializadas e consumidas pela população de Manoel Urbano e a ingestão de algumas espécies de peixes pode ser uma rota de exposição para a essa comunidade ribeirinha.

Reis *et al.* (2020) investigaram as concentrações de HgT em duas espécies comerciais de peixes *Pimelodus maculatus* (Lacepède, 1803) (bagre pintado) e *Calophysus macropterus* (Lichtenstein, 1819) (piracatinga) de duas localidades do rio Acre, Inapari (áreas subdesenvolvidas) e Assis Brasil (áreas urbanas) em julho de 2017. O estudo constatou que as concentrações de Hg variaram entre os tecidos, e foram significativamente maiores do que aquelas relatadas anteriormente para essas regiões. As espécies coletadas em Assis Brasil tenderam a apresentarem maior bioacumulação de Hg. Entretanto, de acordo com as diretrizes europeias e brasileiras para Hg em alimentos, em ambas as localidades os valores de Hg nos peixes estiveram em conformidade ao consumo humano. Vale salientar, contudo, que as concentrações hepáticas de Hg em *C. macropterus* em Assis Brasil mostraram evidências de contaminação antropogênica.

As fontes de contaminação por Hg no estado do Acre podem estar associadas tanto ao desmatamento na região quanto à entrada do Hg por atividades de mineração no Peru. Na região peruana observamos diversos trabalhos que indicaram a contaminação por Hg em cursos d'água, populações humanas, morcegos, peixes, sedimentos, solos (SWENSON *et al.*, 2011; MORENO-BRUSH *et al.*, 2016; WYATT *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2018; MARTINEZ *et al.*, 2018; KAHHAT *et al.*, 2019; PANDURO *et al.*, 2020; ROMÁN-DAÑOBEYTIÁ *et al.*, 2021). Além disso em comunidades ribeirinhas do rio Madeira, município de Porto Velho, estado de Rondônia, fronteira com o Acre, foram relatados efeitos negativos neuropsicológicos em crianças e adolescentes relacionados à alta concentrações de Hg em seus cabelos (SANTOS-LIMA *et al.*, 2020). Desta forma é preciso o trabalho conjunto entre todas as localidades e que medidas de prevenção à contaminação baseadas na Convenção de Minamata sobre o Mercúrio de 2013 sejam implementadas.

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A região norte do Brasil apresenta elevados teores de Hg sendo necessário uma ampliação de estudos para melhor compreender a dinâmica e o ciclo deste elemento nos ecossistemas e os efeitos tóxicos adversos à biota e às populações humanas. Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos e publicados em revistas de prestígio internacional, entretanto, muitas questões a respeito da toxicologia e dinâmica do Hg nos ecossistemas amazônicos precisam ser exploradas.

É importante, por exemplo, que mais áreas sejam investigadas, mesmo não havendo fontes atuais ou pretéritas de contaminação por Hg advindas da mineração do ouro. Como visto, o desmatamento e as

queimadas podem funcionar como uma importante fonte de Hg aos ecossistemas aquáticos. Desta forma, é interessante que principalmente as porções da Amazônia englobadas pelo arco do desmatamento sejam avaliadas quanto aos teores e a dinâmica do Hg. É preciso também melhor entender quais as fontes do Hg, se autóctone ou alóctone e se provenientes da deposição atmosférica ou processo erosivos. Além disso, é fundamental que uma maior rede de monitoramento seja implementada, com metodologias comparáveis para as diferentes regiões amostradas. Estas ações são importantes tanto para a tomada de medidas de recuperação e restauração quanto para melhor compreendermos as mudanças nos teores de Hg advindos da tomada de políticas públicas que visem a redução das emissões deste elemento.

A dificuldade de acesso muito comum em diversas áreas da região norte são um complicador no desenvolvimento das pesquisas, entretanto algumas perguntas podem ser respondidas através de uma abordagem experimental, a qual não foi muito aplicada nos últimos anos, de acordo com este levantamento. Alguns exemplos podem ser encontrados em Silva *et al.* (2009a e b) e Kasper *et al.* (2017). Não encontramos na base de dados levantada trabalhos que focassem a associação do uso de agrotóxicos e mercúrio. Esta é uma importante questão a ser pesquisada já que alguns agrotóxicos podem possuir mercúrio em sua fórmula. Além disso, o Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo e apresentou nos últimos anos a liberação do uso de uma série de defensivos agrícolas proibidos em diversos países. Embora esta possa não ser a principal fonte de Hg e ameaça na região norte do país, ela precisa também ser investigada.

Valores regionais, embora estabelecidos em diversas áreas, ainda são escassos para a Amazônia como um todo. Valores limiares regionais poderiam ser estabelecidos já que por apresentar teores naturais relativamente mais elevados poderiam indicar uma biota mais resistente às entradas de Hg no ambiente. Diversos trabalhos exploraram a ação do pulso de inundação e transferência de Hg e/ou MeHg contudo, mais estudos são necessários já que resultados distintos foram obtidos. A diversidade biológica e as particularidades físicas e químicas implicam em respostas distintas a um mesmo fenômeno. A complexidade ecossistêmica destes ambientes mostra a necessidade de mais estudos para melhor compreendermos os processos e fenômenos associados ao ciclo do Hg.

A mineração ilegal, o desmatamento e as queimadas são atividades que têm colocado em risco as populações e comunidades biológicas. O desmatamento precisa ser controlado, bem como as atividades ilegais de mineração, ademais é preciso informar a população local dos riscos associados ao consumo de espécies piscívoras carnívoras. Além disso as políticas públicas devem prover a população com uma boa educação básica e assistência em saúde, já que, como reportado anteriormente, em algumas comunidades tais fatores estão associados indiretamente a um maior risco de contaminação e desenvolvimento de efeitos tóxicos relacionados ao consumo de peixes contaminados por Hg.

REFERÊNCIAS

- AIREY, D.. Mercury in human hair due to environment and diet: A review. **Environmental Health Perspectives**, v. 52, p. 303–316, 1983.
- ALMEIDA, R.; BERNARDI, J. V. E.; OLIVEIRA, R. C.; DE CARVALHO, D. P.; MANZATTO, A. G.; DE LACERDA, L. D.; BASTOS, W. R. Flood pulse and spatial dynamics of mercury in sediments in puruzinho lake, Brazilian amazon. **Acta Amazonica**, v. 44, n. 1, p. 99-105, 2014.
- ALBERS, P. H.; CAMARDESE, M. B. Effects of acidification on metal accumulation by aquatic plants and invertebrates. 1 Constructed wetlands. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, n. 6, p. 959-967, 1993.
- ANJOS, M. R.; MACHADO, N. G.; DA SILVA, M. E. P.; BASTOS, W. R.; MIRANDA, M. R.; DE CARVALHO, D. P.; MUSSY, M. H.; DE HOLANDA, I. B. B.; BIUDES, M. S.; FULAN, J. Â. Bioaccumulation of methylmercury in fish tissue from the roosevelt river, southwestern Amazon Basin. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, n. 3, pp. 508-518, 2016.
- ARAUJO, B. F.; HINTELMANN, H.; DIMOCK, B.; DE LIMA SOBRINHO, R.; BERNARDES, M. C.; DE ALMEIDA, M. G.; KRUSCHE, A. V.; RANGEL, T. P.; THOMPSON, F.; DE REZENDE, C. E. Mercury speciation and Hg stable isotope ratios in sediments from Amazon floodplain lakes—Brazil. **Limnology and Oceanography**, v. 63, n. 3, p. 1134-1145, 2018.

AZEVEDO, L. S.; PESTANA, I. A.; NERY, A. F. D. C.; BASTOS, W. R.; SOUZA, C. M. M. Influence of the flood pulse on mercury accumulation in detritivorous, herbivorous and omnivorous fish in Brazilian Amazonia. **Ecotoxicology**, v. 28, n. 4, p. 478-485, 2019.

BASTOS, W. R.; GOMES, J. P. O.; OLIVEIRA, R. C.; ALMEIDA, R.; NASCIMENTO, E. L.; BERNARDI, J. V. E.; LACERDA, L. D.; DA SILVEIRA, E. G.; PFEIFFER, W. C. Mercury in the environment and riverside population in the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 368, n. 1, p. 344-351, 2006.

BASTOS, W. R.; DE ALMEIDA, R.; DÓREA, J. G.; BARBOSA, A. C. Annual flooding and fish-mercury bioaccumulation in the environmentally impacted Rio Madeira (Amazon). **Ecotoxicology**, v. 16, n. 3, p. 341-346, 2007.

BASTOS, W. R.; REBELO, M. D. F.; FONSECA, M. D. F.; DE ALMEIDA, R.; MALM, O. A description of mercury in fishes from the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. *Acta Amazonica*, v. 38, n. 3, p. 431-437, 2008.

BASTOS, W. R.; DÓREA, J. G.; BERNARDI, J. V. E.; LAUTHARTTE, L. C.; MUSSY, M. H.; HAUSER, M., DÓRIA, C. R. D. C.; MALM, O. Mercury in muscle and brain of catfish from the Madeira river, Amazon, Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 118, p. 90-97, 20151.

BASTOS, W. R.; DÓREA, J. G.; BERNARDI, J. V. E.; LAUTHARTTE, L. C.; MUSSY, M. H.; LACERDA, L. D.; MALM, O. Mercury in fish of the Madeira river (temporal and spatial assessment), Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 140, p. 191-197, 2015b.

BASTOS, W. R.; DÓREA, J. G.; BERNARDI, J. V. E.; MANZATTO, A. G.; MUSSY, M. H.; LAUTHARTTE, L. C.; LACERDA, L. D.; MALM, O. Sex-related mercury bioaccumulation in fish from the Madeira River, Amazon. **Environmental Research**, v. 144, p. 73-80, 2016.

BELGER, L.; FORSBERG, B. R. Factors controlling Hg levels in two predatory fish species in the Negro river basin, Brazilian Amazon. **Science of the Total Environment**, v. 367, n.1, p. 451-459, 2006.

BISINOTI, M. C.; SARGENTINI JR., E.; JARDIM, W. F. Seasonal behavior of mercury species in waters and sediments from the Negro River Basin, Amazon, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 3, p. 544-55, 2007.

BRITO, B. C.; FORSBERG, B. R.; KASPER, D.; AMARAL, J. H. F.; DE VASCONCELOS, M. R. R.; DE SOUSA, O. P.; CUNHA, F. A. G.; BASTOS, W. R. The influence of inundation and lake morphometry on the dynamics of mercury in the water and plankton in an Amazon floodplain lake. **Hydrobiologia**, v. 790, n. 1, p. 35-48, 2017.

BONOTTO, D. M.; WIJESIRI, B.; VERGOTTI, M.; DA SILVEIRA, E. G.; GOONETILLEKE, A. Assessing mercury pollution in Amazon River tributaries using a Bayesian Network approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 166, p. 354-358, 2018.

BONOTTO, D. M.; VERGOTTI, M. 210Pb and compositional data of sediments from Rondonian lakes, Madeira River basin, Brazil. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 99, p. 5-19, 2015.

BURGER, J.; JEITNER, C.; SCHNEIDER, L.; VOGT, R.; GOCHFELD, M. Arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury, and selenium levels in blood of four species of turtles from the Amazon in Brazil. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues**, v. 73, n. 1, p. 33-40, 2010.

CASTILHOS, Z.; RODRIGUES-FILHO, S.; CESAR, R.; RODRIGUES, A. P.; VILLAS-BÔAS, R.; DE JESUS, I.; LIMA, M.; FAIAL, K.; MIRANDA, A.; BRABO, E.; BEINHOFF, C.; SANTOS, E. Human exposure and risk assessment associated with mercury contamination in artisanal gold mining areas in the Brazilian Amazon. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 15, p. 11255-11264, 2015.

CASTRO, N. S. S.; BRAGA, C. M.; TRINDADE, P. A. A.; GIARRIZZO, T.; LIMA, M. O. Mercury in fish and sediment of Purus River, Acre State, Amazon. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 24, n. 3, p. 294-300, 2016.

CASTRO, N. S. S.; LIMA, M. O. Hair as a biomarker of long term mercury exposure in Brazilian Amazon: A systematic review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 3, p. 500, 2018.

CAVECCI-MENDONÇA, B.; VIEIRA, J. C. S.; LIMA, P. M.; LEITE, A. L.; BUZALAF, M. A. R.; ZARA, L. F.; PADILHA, P. M. Study of proteins with mercury in fish from the Amazon region. **Food Chemistry**, v. 309, 125460, 2020.

CERBINO, M. R.; VIEIRA, J. C. S.; BRAGA, C. P.; OLIVEIRA, G.; PADILHA, I. F.; SILVA, T. M.; ZARA, L. F.; SILVA, N. J.; PADILHA, P. M. Metalloproteomics Approach to analyze mercury in breast milk and hair samples of lactating women in communities of the Amazon Basin, Brazil. **Biological Trace Element Research**, v. 181, n. 2, p. 216-226, 2018.

CLARKSON, W. T. The three modern faces of mercury Environ. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 1, p. 11-23, 2002.

COELHO-SOUZA, S. A.; GUIMARÃES, J. R. D.; MIRANDA, M. R.; POIRIER, H.; MAURO, J. B. N.; LUCOTTE, M.; MERGLER, D. Mercury and flooding cycles in the Tapajós river basin, Brazilian Amazon: The role of periphyton of a floating macrophyte (*Paspalum repens*). **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 14, p. 2746-2753, 2011.

CORREIA, J.; CESAR, R.; MARSICO, E.; DINIZ, G. T. N.; ZORRO, M. C.; CASTILHOS, Z.. Mercury contamination in alligators (*Melanosuchus niger*) from Mamirauá Reservoir (Brazilian Amazon) and human health risk assessment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 23, p. 13522-13527, 2014.

COSTA, G. M.; DOS ANJOS, L. M.; SOUZA, G. S.; GOMES, B. D.; SAITO, C. A.; PINHEIRO, M. D. C. N.; VENTURA, D. F.; DA SILVA FILHO, M.; SILVEIRA, L. C. L. Mercury toxicity in Amazon gold miners: Visual dysfunction assessed by retinal and cortical electrophysiology. **Environmental Research**, v. 107, n. 1, p. 98-107, 2008.

COSTA-JUNIOR, J. M. F.; DA SILVA LIMA, A. A.; JUNIOR, D. R.; KHOURY, E. D. T.; DA SILVA SOUZA, G.; DE LIMA SILVEIRA, L. C.; PINHEIRO, M. C. N.. Emotional and motor symptoms in riverside dwellers exposed to mercury in the Amazon. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, n. 2, p. 212-224, 2017.

COSTA, B. N. S.; ALMEIDA, H. P.; DA SILVA, B. C. P.; DE FIGUEIREDO, L. G.; DE OLIVEIRA, A. M.; LIMA, M. O. *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda) used to biomonitor mercury contamination in rivers. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 78, n. 2, p. 245-253, 2020.

CRESPO LÓPEZ, M. E.; AUGUSTO-OLIVEIRA, M.; LÓPEZ-ARAÚJO, A.; SANTOS-SACRAMENTO, L.; TAKEDA, P. Y.; MACCHI, B. M.; NASCIMENTO, J. L. M.; MAIA, C. S. F.; LIMA, R. R.; ARRIFANO, G. B. Mercury: What can we learn from the Amazon? **Environment International**, v. 146, 106223, 2021.

CUNHA, M. P. L.; MARQUES, R. C.; DÓREA, J. G. Influence of maternal fish intake on the anthropometric indices of children in the western amazon. **Nutrients**, v. 10, n. 9, 1146, 2018.

CUNHA BATAGLIOLI, I. D.; SOUZA VIEIRA, J. C.; VITOR DE QUEIROZ, J.; FERNANDES, M. S.; BITTARELLO, A. C.; BRAGA, C. P.; RABELO BUZALAF, M. A.; ADAMEC, J.; ZARA, L. F.; PADILHA, P. D. M. Physiological and functional aspects of metal-binding protein associated with mercury in the liver tissue of pirarucu (*Arapaima gigas*) from the Brazilian Amazon. **Chemosphere**, v. 236, 124320, 2019.

EKINO, S.; SUSU, M.; NINOMIYA, T.; IMAMURA, K.; KITAMURA, T. Minamata disease revisited: Na update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 262, n. 1-2, p. 131-144, 2007.

FENNER, A. L. D.; CALDAS, R. W.; VILLARDI, J. W. R.; MACHADO A. A.; PIRES GOMES, G. A. P.; MOURA, B. C. Nova Convenção Internacional sobre o mercúrio expõe desafios para Saúde Global. **Com. Ciências Saúde**, v. 28, n. 3/4, p. 326-332, 2017.

FAIAL, K.; DEUS, R.; DEUS, S.; NEVES, R.; JESUS, I.; SANTOS, E.; ALVES, C. N.; BRASIL, D. Mercury levels assessment in hair of riverside inhabitants of the Tapajós River, Pará State, Amazon, Brazil: Fish consumption as a possible route of exposure. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 30, p. 66-76, 2015.

FEITOSA-SANTANA, C.; SOUZA, G. D. S.; SIRIUS, E. V. P.; RODRIGUES, A. R.; CORTES, M. I. T.; SILVEIRA, L. C. D. L.; VENTURA, D. F. Color vision impairment with low-level methylmercury exposure of an Amazonian population – Brazil. **NeuroToxicology**, v. 66, p. 179-184, 2018.

FISHER, N. S.; HOOK, S. E. Toxicology tests with aquatic animals need to consider the trophic transfer of metals. **Toxicology**, v. 181, p. 531–536, 2002.

FILLION, M.; LEMIRE, M.; PHILIBERT, A.; FRENETTE, B.; WEILER, H. A.; DEGUIRE, J. R.; GUIMARÃES, J. R. D.; LARRIBE, F.; BARBOSA JR., F.; MERGLER, D. Visual acuity in fish consumers of the Brazilian Amazon: Risks and benefits from local diet. **Public Health Nutrition**, v. 14, n. 12, p. 2236-2244, 2011.

FREITAS, J. S.; LACERDA, E. M. C.B.; MARTINS, I. C. V. S.; RODRIGUES, D.; BONCI, D. M. O.; CORTES, M. I. T.; CORVELO, T. C. O.; VENTURA, D. F.; SILVEIRA, L. C. L.; PINHEIRO, M. C. N.; DA SILVA SOUZA, G. Cross-sectional study to assess the association of color vision with mercury hair concentration in children from Brazilian Amazonian riverine communities. **NeuroToxicology**, v. 65, p. 60-67, 2018.

GALVÃO, R. C. F.; HOLANDA, I. B. B.; DE CARVALHO, D. P.; ALMEIDA, R.; SOUZA, C. M. M.; LACERDA, L. D.; BASTOS, W. R. Freshwater shrimps (*Macrobrachium depressimanum* and *Macrobrachium jelskii*) as biomonitors of Hg availability in the Madeira River Basin, Western Amazon. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 2, p. 77, 2018.

GOMES, D. F.; MOREIRA, R. A.; SANCHES, N. A. O.; DO VALE, C. A.; DAAM, M. A.; GORNI, G. R.; BASTOS, W. R. Dynamics of (total and methyl) mercury in sediment, fish, and crocodiles in an Amazonian Lake and risk assessment of fish consumption to the local population. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 2, p. 101, 2020.

HACON, S. S.; DÓREA, J. G.; FONSECA, M. F.; OLIVEIRA, B. A.; MOURÃO, D. S.; RUIZ, C. M. V.; GONÇALVES, R. A.; MARIANI, C. F.; BASTOS, W. R. The influence of changes in lifestyle and mercury exposure in riverine populations of the Madeira river (Amazon basin) near a hydroelectric project. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 3, p. 2437-2455, 2014.

HARADA, M. Minamata Disease: Methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 25, n. 1, p. 1-24, 1995.

KAHHAT, R.; PARODI, E.; LARREA-GALLEGOS, G.; MESTA, C.; VÁZQUEZ-ROWE, I. Environmental impacts of the life cycle of alluvial gold mining in the Peruvian Amazon rainforest. **Science of the Total Environment**, v. 662, p. 940-951, 2019.

KASPER, D.; PALERMO, E. F. A.; BRANCO, C. W. C.; MALM, O. Evidence of elevated mercury levels in carnivorous and omnivorous fishes downstream from an Amazon reservoir. **Hydrobiologia**, v. 694, n. 1, p. 87-98, 2012.

KASPER, D.; FORSBERG, B.R.; AMARAL, J. H. F.; PY-DANIEL, S. S.; BASTOS, W. R.; MALM, O. Methylmercury modulation in Amazon Rivers linked to basin characteristics and seasonal flood-pulse. **Environmental Science and Technology**, v. 51, v. 24, p. 14182-14191, 2017.

KEHRIG, H. D. A.; HOWARD, B. M.; MALM, O. Methylmercury in a predatory fish (*Cichla* spp.) inhabiting the Brazilian Amazon. **Environmental Pollution**, v. 154, n. 1, p. 68-76, 2008.

KEHRIG, H. A.; PALERMO, E. F. A.; SEIXAS, T. G.; SANTOS, H. S. B.; MALM, O.; AKAGI, H. Methyl and total mercury found in two man-made Amazonian reservoirs. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1142-1152, 2009.

KHOURY, E. D. T.; SOUZA, G. S.; SILVEIRA, L. C. L.; DA COSTA, C. A.; DE ARAÚJO, A. A.; PINHEIRO, M. C. N. Neurological manifestations in riverine populations from areas exposed to mercury in the Brazilian Amazon. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 29, n. 11, p. 2307-2318, 2013.

KHOURY, E. D. T.; DA SILVA SOUZA, G.; DA COSTA, C. A.; DE ARAÚJO, A. A. K.; DE OLIVEIRA, C. S. B.; DE SILVEIRA, L. C. L.; PINHEIRO, M. C. N. Somatosensory psychophysical losses in inhabitants of riverside communities of the Tapajós River Basin, Amazon, Brazil: Exposure to methylmercury is possibly involved. **PLoS ONE**, v. 10, n. 12, art. no. e0144625, 2015.

KUMAR, A.; DIVOLL, T. J.; GANGULI, P. M.; TRAMA, F. A.; LAMBORG, C. H. Presence of artisanal gold mining predicts mercury bioaccumulation in five genera of bats (Chiroptera). **Environmental Pollution**, v. 236, p. 862-870, 2018.

LACERDA, L. D.; BASTOS, W. R.; ALMEIDA, M. D.. The impacts of land use changes in the mercury flux in the Madeira River, Western Amazon. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 1, p. 69-78, 2012.

LÁZARO, W. L.; DÍEZ, S.; DA SILVA, C. J.; IGNÁCIO, Á. R. A.; GUIMARÃES, J. R. D. Seasonal changes in peryphytic microbial metabolism determining mercury methylation in a tropical Wetland. **Science of the Total Environment**, v. 627, p. 1345-1352, 2018.

LEMIRE, M.; MERGLER, D.; FILLION, M.; PASSOS, C. J. S.; GUIMARÃES, J. R. D.; DAVIDSON, R.; LUCOTTE, M. Elevated blood selenium levels in the Brazilian Amazon. **Science of the Total Environment**, v. 366, n. 1, p. 101-111, 2006.

LEMIRE, M.; FILLION, M.; FRENETTE, B.; MAYER, A.; PHILIBERT, A.; PASSOS, C. J. S.; GUIMARÃES, J. R. D.; BARBOSA JR, F.; MERGLER, D. Selenium and mercury in the Brazilian Amazon: Opposing influences on age-related cataracts. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 11, p. 1584-1589, 2010.

LEMIRE, M.; FILLION, M.; FRENETTE, B.; PASSOS, C. J. S.; GUIMARÃES, J. R. D.; BARBOSA, F.; MERGLER, D. Selenium from dietary sources and motor functions in the Brazilian Amazon. **NeuroToxicology**, v. 32, n. 6, p. 944-953, 2011.

LINO, A. S.; KASPER, D.; CARVALHO, G. O.; GUIDA, Y.; MALM, O. Selenium in sediment and food webs of the Tapajós River basin (Brazilian Amazon) and its relation to mercury. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 62, art. no. 126620, 2020.

LUOMA, S. N.; RAINBOW, P. S. **Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management**. Cambridge University, Cambridge, 2008.

MAIA, P. D.; MAURICE, L.; TESSIER, E.; AMOUROUX, D.; COSSA, D.; MOREIRA-TURCQ, P.; ETCHEBER, H. Role of the floodplain lakes in the methylmercury distribution and exchanges with the Amazon River, Brazil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 68, p. 24-40, 2018.

MARQUES, R. C.; BERNARDI, J. V. E.; DÓREA, J. G.; LEÃO, R. S.; MALM, O. Mercury transfer during pregnancy and breastfeeding: Hair mercury concentrations as biomarker. **Biological Trace Element Research**, v. 154, n. 3, p. 326-332, 2013.

MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C. R.; BERZAS NEVADO, J. J.; GUZMÁN BERNARDO, F. J.; JIMÉNEZ MORENO, M.; ARRIFANO, G. P. F.; HERCULANO, A. M.; DO NASCIMENTO, J. L. M.; CRESPO-LÓPEZ, M. E. Comparative study of mercury speciation in commercial fishes of the Brazilian Amazon. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 12, p. 7466-7479, 2014.

MARTINEZ, G.; MCCORD, S. A.; DRISCOLL, C. T.; TODOROVA, S.; WU, S.; ARAÚJO, J. F.; VEGA, C. M.; FERNANDEZ, L. E. Mercury contamination in riverine sediments and fish associated with artisanal and small-scale gold mining in Madre de Dios, Peru. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 8, art. no. 1584, 2018.

MENDES, R. A.; LIMA, M. O.; DE DEUS, R. J. A.; MEDEIROS, A. C.; FAIAL, K. C. F.; JESUS, I. M.; FAIAL, K. R. F.; SANTOS, L. S. Assessment of DDT and mercury levels in fish and sediments in the Iriri River, Brazil: Distribution and ecological risk. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 54, n. 12, p. 915-924, 2019.

MOLINA, C. L.; GIBON, F. M.; DUPREY, J. L.; DOMINGUEZ, E.; GUIMARÃES, J. R. D.; ROULET M. Transfer of mercury and methylmercury along macroinvertebrate food chains in a floodplain lake of the Beni River, Bolivian Amazonia. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 3382-3391, 2010.

MORENO-BRUSH, M.; RYDBERG, J.; GAMBOA, N.; STORCH, I.; BIESTER, H. Is mercury from small-scale gold mining prevalent in the southeastern Peruvian Amazon? **Environmental Pollution**, v. 218, p. 150-159, 2016.

DE MOURA, J. F.; EMIN-LIMA, R.; HACON, S. S.; VEGA, C. M.; DE CAMPOS, R. C.; SICILIANO, S. Mercury status of the amazon continental shelf: Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*, Van Benédén 1864) as a bioindicator. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 89, n. 2, p. 412-418, 2012.

NASCIMENTO, E. L.; MIYAI, R. K.; DE OLIVEIRA GOMES, J. P.; DE ALMEIDA, R.; DE CARVALHO, D. P.; MANZATTO, Â. G.; BERNARDI, J. V. E.; DA SILVEIRA, E. G.; BASTOS, W. R. Dynamics of mercury in the plankton of a hydroelectric reservoir, Western Amazon. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 10, art. no. 647, 2020.

ROMÁN-DAÑOBEYTIA, F.; CABANILLAS, F.; LEFEBVRE, D.; FARFAN, J.; ALFEREZ, J.; POLO-VILLANUEVA, F.; LLACSAHUANGA, J.; et al. Survival and early growth of 51 tropical tree species in areas degraded by artisanal gold mining in the Peruvian Amazon. **Ecological Engineering**, v. 159, art. no. 106097, 2021.

OESTREICHER, J. S.; LUCOTTE, M.; MOINGT, M.; BÉLANGER, É.; ROZON, C.; DAVIDSON, R.; MERTENS, F.; ROMAÑA, C. A. Environmental and anthropogenic factors influencing mercury dynamics during the past century in floodplain lakes of the Tapajós River, Brazilian Amazon. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, p. 1, p. 11-30, 2017.

OLIVEIRA, L. C.; SARGENTINI JR., E.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; SIMÕES, M. L.; MARTIN-NETO, L.; DA SILVA, W. T. L.; SERUDO, R. L. The influence of seasonalness on the structural characteristics of aquatic humic substances extracted from Negro River (Amazon state) waters: Interactions with Hg(II). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 4, sp. 860-868, 2007.

OLIVEIRA, L. C.; BOTERO, W. G.; SANTOS, F. A.; SARGENTINI JR., É.; ROCHA, J. C.; DOS SANTOS, A. Influence of seasonality on the interaction of mercury with aquatic humic substances extracted from the middle Negro River Basin (Amazon). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 9, p. 1711-1718, 2012.

PANDURO, G.; RENGIFO, G. C.; BARRETO, J. L.; ARBAIZA-PEÑA, Á. K.; IANNACONE, J.; ALVARIÑO, L.; CRNOBRNA, B. Bioaccumulation of mercury in fish and risk of ingestion in an indigenous community in the Peruvian Amazonia. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru**, v. 31, n. 3, art. no. e18177, 2020.

PESTANA, I.A.; BASTOS, W. R.; ALMEIDA, M. G.; DE CARVALHO, D. P.; REZENDE, C. E.; SOUZA, C. M. M. Spatial-temporal dynamics and sources of total Hg in a hydroelectric reservoir in the Western Amazon, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9640-9648, 2016.

PESTANA, I. A.; BASTOS, W. R.; ALMEIDA, M. G.; MUSSY, M. H.; SOUZA, C. M. Methylmercury in environmental compartments of a hydroelectric reservoir in the Western Amazon, Brazil. **Chemosphere**, v. 215, p. 758-765, 2019a.

PESTANA, I. A.; ALMEIDA, M. G.; BASTOS, W. R.; SOUZA, C. M. M. Total Hg and methylmercury dynamics in a river-floodplain system in the Western Amazon: Influence of seasonality, organic matter and physical and chemical parameters. **Science of the Total Environment**, v. 656, p. 388-399, 2019b.

QUEIROZ, J. V.; VIEIRA, J. C. S.; DE OLIVEIRA, G.; BRAGA, C. P.; DA CUNHA BATAGLIOLI, I.; DA SILVA, J. M.; ARAÚJO, W. L. P.; PADILHA, P. M. Identification of Biomarkers of Mercury Contamination in *Brachyplatystoma filamentosum* of the Madeira River, Brazil, Using Metalloproteomic Strategies. **Biological Trace Element Research**, v. 187, n. 1, p. 291-300, 2019.

REIS, P. A.; OZÓRIO, R. O. A.; RODRIGUEZ, A. F. R.; FARIA, F. S. E. D. V.; FURTADO, C. M.; RIBEIRO, R. A. Mercury distribution in two commercial fish species (*Pimelodus maculatus* and *Calophysus macropterus*) - Case study of river Acre (Acre state, Brazilian Amazon). **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 26, n. 6, p. 1439-1448, 2020.

ROULET M., LUCOTTE, M.; CANUEL, R.; FARELLA, N.; GOCH, Y. G. F.; PELEJA, J. R. P.; GUIMARÃES, J. R. D.; MERGLER, D.; AMORIM, M. Spatio-temporal geochemistry of mercury in waters of the Tapajós and Amazon rivers, Brazil. **Limnology and Oceanography**, v. 46, p. 1141-1157, 2001.

SAMPAIO DA SILVA, D.; LUCOTTE, M.; PAQUET, S.; BRUX, G.; LEMIRE, M. Inverse mercury and selenium concentration patterns between herbivorous and piscivorous fish in the Tapajós River, Brazilian Amazon. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 97, p. 17-25, 2013.

SANTOS-LIMA, C.D., MOURÃO, D. D. S.; CARVALHO, C. F. D.; SOUZA-MARQUES, B.; VEGA, C. M.; GONÇALVES, R. A., ARGOLLO, N.; MENEZES-FILHO, J. A.; ABREU, N.; HACON, S. D. S. Neuropsychological effects of mercury exposure in children and adolescents of the Amazon Region, Brazil. **NeuroToxicology**, v. 79, p. 48-57, 2020.

SCHNEIDER, L.; BELGER, L.; BURGER, J.; VOGT, R. C.; FERRARA, C. R. Mercury levels in muscle of six species of turtles eaten by people along the Rio Negro of the Amazon basin. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 2, p. 444-450, 2010.

SCHNEIDER, L.; BELGER, L.; BURGER, J.; VOGT, R. C.; JEITNER, C.; PELEJA, J. R. P. Assessment of non-invasive techniques for monitoring mercury concentrations in species of Amazon turtles. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 93, n. 2, p. 238-250, 2011.

SCHNEIDER, L.; PELEJA, R. P.; KLUCZKOVSKI, A.; FREIRE, G. M.; MARIONI, B.; VOGT, R. C.; DA SILVEIRA, R. Mercury concentration in the spectacled caiman and black caiman (*Alligatoridae*) of the Amazon: Implications for human health. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 63, n. 2, p. 270-279, 2012.

SCHNEIDER, L.; EGGINS, S.; MAHER, W.; VOGT, R. C.; KRIKOWA, F.; KINSLEY, L.; EGGINS, S. M.; DA SILVEIRA, R. An evaluation of the use of reptile dermal scutes as a non-invasive method to monitor mercury concentrations in the environment. **Chemosphere**, 119, pp. 163-170, 2015.

SILVA, G. S.; JARDIM, W. F.; FADINI, P. S. Elemental gaseous mercury flux at the water/air interface over the Negro River basin, Amazon, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 368, n. 1, p. 189-198, 2006.

SILVA, G. S.; JARDIM, W. F.; FADINI, P. S. Photochemical dissolved gaseous mercury (DGM) formation/consumption in the Negro River Basin, Brazilian Amazon. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 20, n. 8, p. 1549-1555, 2009a.

SILVA, G. S.; BISINOTI, M. C.; FADINI, P. S.; MAGARELLI, G.; JARDIM, W. F.; FOSTIER, A. H. Major aspects of the mercury cycle in the Negro river basin, Amazon. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1127-1134, 2009b.

SILVA, G. S.; FILIPAK NETO, F.; SILVA DE ASSIS, H. C. *et al.* Potential risks of natural mercury levels to wild predator fish in an Amazon reservoir. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, p. 4815-4827, 2012.

SILVA-JUNIOR, F. M. R.; OLEINSKI, R. M.; AZEVEDO, A. E. S.; MONROE, K. C. M. C.; DOS SANTOS, M.; DA SILVEIRA, T. B.; DE OLIVEIRA, A. M. N.; SOARES, M. C. F.; PEREIRA, T. D. S. Vulnerability associated with "symptoms similar to those of mercury poisoning" in communities from Xingu River, Amazon basin. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 40, n. 3, p. 1145-1154, 2018.

SILVA, S. F. D.; OLIVEIRA, D. C.; PEREIRA, J. P. G.; CASTRO, S. P.; COSTA, B. N. S.; LIMA, M. D. O. Seasonal variation of mercury in commercial fishes of the Amazon Triple Frontier, Western Amazon Basin. **Ecological Indicators**, v. 106, art. no. 105549, 2019.

SIQUEIRA, G. W.; APRILE, F. M. Distribution of total mercury in sediments from Amazon Continental Shelf – Brazil **Acta Amazonica**, v. 42, n. 2, p. 259-267, 2019.

SIQUEIRA, G. W.; APRILE, F.; IRION, G.; BRAGA, E. S. Mercury in the Amazon basin: Human influence or natural geological pattern? **Journal of South American Earth Sciences**, v. 86, p. 193-199, 2018..

SMITH, N. J. H. **Amazon sweet sea: land, life, and water at the river's mouth**. Texas: University of Texas. 248p, 2002.

SOUZA-ARAUJO, J.; GIARRIZZO, T.; LIMA, M. O. Mercury concentration in different tissues of *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (Podocnemididae: Testudines) from the lower Xingu river – Amazonian, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 3, p. S106-S111, 2015.

SWENSON, J. J.; CARTER, C. E.; DOMEQ, J. -C.; DELGADO, C. I. Gold mining in the peruvian amazon: Global prices, deforestation, and mercury imports. **PLoS ONE**, v. 6, n. 4, art. no. e18875, 2011.

ULLRICH, S. M.; TANTON, T. W.; ABDRAHITOVA, S. A. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. critical reviews. **Environmental Science and Technology**, v. 31, n. 3, p. 241-293, 2001.

VIEIRA, J. L. F.; GOMES, A. L. S.; SANTOS, J. P. N.; LIMA, T. C. D.; FREITAS JR., J. A.; PINHEIRO, M. C. N. Mercury distribution in organs of two species of fish from Amazon region. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 87, n. 4, p. 377-380, 2011.

VIEIRA, M.; BERNARDI, J. V. E.; DÓREA, J. G.; ROCHA, B. C. P.; RIBEIRO, R.; ZARA, L. F. Distribution and availability of mercury and methylmercury in different waters from the Rio Madeira Basin. **Environmental Pollution**, v. 235, p. 771-779, 2018.

WYATT, L.; ORTIZ, E. J.; FEINGOLD, B.; BERKY, A.; DIRINGER, S.; MORALES, A. M.; JURADO, E. R.; HSU-KIM, H.; PAN, W. Spatial, temporal, and dietary variables associated with elevated mercury exposure in peruvian riverine communities upstream and downstream of artisanal and small-scale gold mining. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 12, art. no. 1582, 2017.

XAVIER, D. D. A.; SANTOS, V. F. D.; MIRANDA, A. G. O. D.; BERRÊDO, J. F. Determination of background geochemistry of an Amazon estuary: The Cuñani Estuary – Amapá. **Marine Pollution Bulletin**, v. 155, art. no. 111144, 2020.

CAPÍTULO 14

USO DE ORGANISMOS AQUÁTICOS NATIVOS NA AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA

Lucas Gonçalves Queiroz¹

Caio César Achilles do Prado²

Daniel Clemente Vieira Rêgo da Silva³

Marcelo Luiz Martins Pompêo¹

1- Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brasil

2- Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo, Brasil

3- Instituto de Estudos do Xingu, Universidade do Sul e Sudeste do Pará, São Félix do Xingu, Pará, Brasil

RESUMO

Os estudos ecotoxicológicos são importantes ferramentas para a compreensão dos efeitos de contaminantes sobre os ecossistemas aquáticos. Estes estudos partem do princípio de que os efeitos tóxicos observados em uma determinada espécie podem ser extrapolados para o ecossistema aquático como um todo. Para isto, uma série de espécies aquáticas (invertebrados e vertebrados) têm sido estabelecidas por órgãos ambientais e grupos de pesquisa científica em todo o mundo. Uma vez estabelecidas, estas espécies são amplamente adotadas em estudos científicos, que buscam avaliar os efeitos de contaminantes aquáticos, e no monitoramento ambiental, por órgãos fiscalizadores. Embora possuam uma grande importância na obtenção de informações que permitam assegurar a preservação de ambientes aquáticos, em algumas situações, a escolha do organismo-modelo podem trazer informações pouco relevantes do ponto de vista ecológico. Isso ocorre quando uma espécie nativa de uma determinada região é utilizada em estudos ambientais em uma outra localidade com características ambientais distintas. De modo geral, as principais espécies utilizadas em estudos ambientais são nativas de regiões temperadas, onde a pesquisa e a proposição de novos organismos-modelo ocorre há muito tempo e por este motivo encontra-se mais avançada. Assim, o uso de espécies de regiões temperadas em países tropicais pode fornecer dados que pouco condizem com o ambiente tropical, principalmente quando utilizados para o monitoramento ambiental, como é o caso da *Daphnia magna*, amplamente utilizado por órgãos fiscalizadores brasileiros, mas originária de clima temperado. Assim, o presente capítulo buscar promover uma reflexão sobre o uso de organismos exóticos em pesquisas ecotoxicológicas, sobretudo no Brasil, que possui uma rica biodiversidade de espécies nativas que poderiam ser utilizadas nestes estudos. Além disso, apontamos espécies nativas brasileiras cujo o uso em estudos ecotoxicológicos, ainda em estágio inicial, já demonstra o potencial destes animais como organismos-modelo.

INTRODUÇÃO

No início da década de 60, a Bióloga Marinha norte-americana Rachel Louise Carson publicou o livro *Primavera Silenciosa* (CARSON, 2010) que se tornou um marco na história do conhecimento acerca da poluição ambiental. O livro, cujo título faz alusão à redução das populações de pássaros causada pela aplicação de pesticidas em lavouras, chama atenção da sociedade para os riscos do uso de inseticidas organoclorados, como o DDT, que até então eram utilizados indiscriminadamente. O livro teve uma grande repercussão que levou a ataques da indústria química à pesquisadora.

Nos anos seguintes à publicação, a produção de pesquisas científicas que buscavam compreender o impacto da poluição sobre a vida silvestre foi impulsionada. Em 1969, o Toxicologista René Truhaut cunhou o termo Ecotoxicologia e o definiu como “o ramo da Toxicologia que se preocupa com o estudo de efeitos tóxicos, causados por poluentes naturais ou sintéticos, aos constituintes dos ecossistemas, animais (incluindo humanos), vegetais e microbianos, num contexto integral” (TRUHAUT, 1977). Desde então, uma série de espécies de micro-organismos, animais e vegetais foram estabelecidos como organismos-modelo para a avaliação toxicológica de substâncias que apresentam um potencial poluidor.

Quando consideramos a literatura científica mundial, dentre as principais espécies de invertebrados aquáticos mais utilizadas em estudos ecotoxicológicos podemos citar: *Grammarus pulex*, *Ceriodaphnia dubia*, *Hyalella azteca*, *Chironomus riparius*, *Daphnia pulex*, e, principalmente, *Daphnia magna* (Fig. 1).

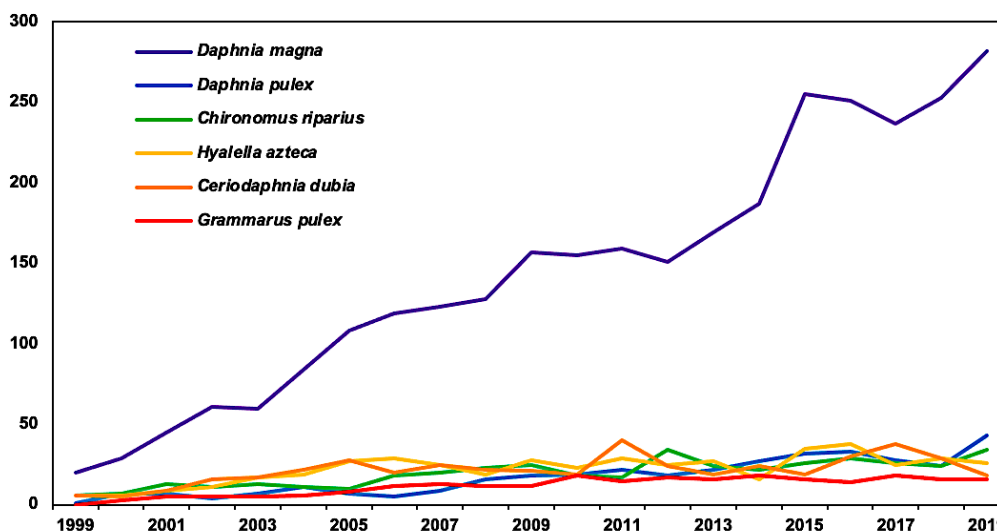


Figura 1: Número de publicações utilizando diferentes espécies de invertebrados aquáticos em estudos ambientais a partir de 2000. Pesquisa realizada em 2020 na base de dados PubMed com o termo de busca “nome da espécie” and “environment”. Fonte de dados: ECOTOX Knowledgebase e PubMed.

A *D. magna* é um dos organismos aquáticos mais utilizados em pesquisas ecotoxicológicas em todo o mundo. Seu uso se deve à facilidade de cultivo, manuseio, e baixo custo de manutenção, mas principalmente pelo fato de existirem protocolos muito bem definidos tanto para o cultivo como para a execução de testes ecotoxicológicos. Além disso, essa espécie permite a obtenção de diferentes respostas (endpoints) na avaliação da toxicidade, como imobilização, letalidade, comportamento, fisiologia, e parâmetros bioquímicos (TKACZYK *et al.*, 2020).

Considerando os peixes como organismos-modelo, as espécies mais representativas são: *Pimephales promelas*, *Oryzias latipes*, *Oncorhynchus mykiss*, *Cyprinus carpio*, *Lepomis macrochirus* e, principalmente, *Danio rerio*, que nos últimos anos tem sido amplamente utilizado como um organismo-modelo em pesquisas ambientais (Fig. 2).

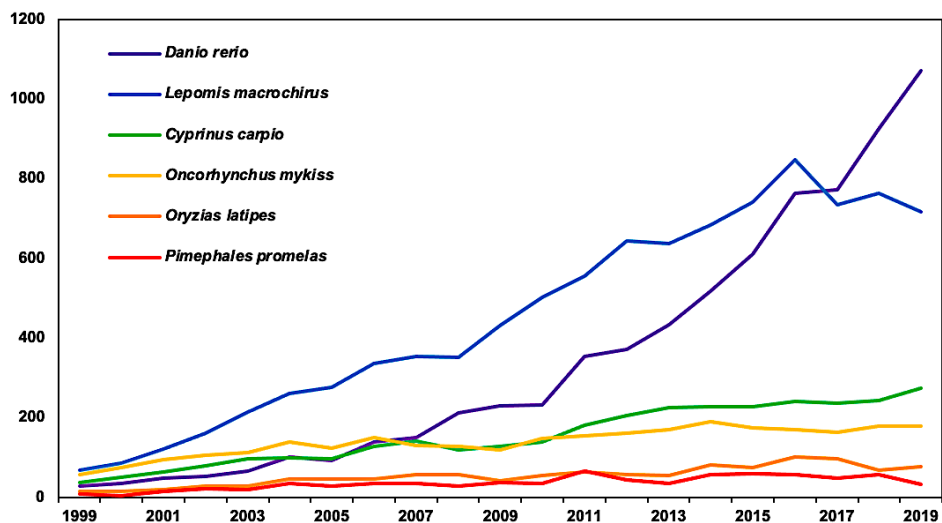


Figura 2: Número de publicações utilizando diferentes espécies de peixes em estudos ambientais a partir de 2000. Pesquisa realizada em 2020 na base de dados PubMed com o termo de busca “nome da espécie” and “environment”. Fonte de dados: ECOTOX Knowledgebase e PubMed.

O uso do *D. rerio*, ou zebrafish como é comumente chamado, possui uma série de vantagens quando comparado a outras espécies de vertebrados. O manejo e a criação de fácil execução e baixo custo, bem como seu tamanho, que pode chegar a 5 cm quando adulto, tornam este organismo uma espécie viável para o cultivo laboratorial. Além disso, seu desenvolvimento precoce e a transparência de seus tecidos permitem abordagens experimentais momentos após sua fecundação. Os ensaios utilizando embriões de *D. rerio*, por sua vez, atendem aos princípios de substituição, redução e refinamento (The principles of 3R's - Replacement, Reduction and Refinement) conforme proposto por Russel; Burch (1959) para o uso racional de animais em trabalhos experimentais. Assim como a *D. magna*, *D. rerio* também possui uma extensa literatura estabelecendo as condições de cultivo, bem como as metodologias que podem ser empregadas.

Vários órgãos ambientais internacionais, como a Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) e a International Organization for Standardization (ISO) têm proposto normas estabelecendo o uso de determinadas espécies aquáticas como organismos-modelo, tais como *Daphnia* sp., *Chironomus* sp., e *Danio rerio*, bem como indicando as condições ideais de cultivo das espécies, desenvolvimento de experimentos e análise de resultados.

O uso destas espécies recomendadas nos permite compreender como contaminantes aquáticos impactam a sobrevivência, fisiologia, reprodução, desenvolvimento e comportamento da biota aquática (COSTA *et al.*, 2008).

No Brasil, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) possui normativas que definem como se deve proceder a avaliação ecotoxicológica utilizando diferentes espécies aquáticas. Atualmente é possível encontrar 10 normativas ABNT propondo o uso de organismos aquáticos - invertebrados e vertebrados - na avaliação dos efeitos tóxicos de poluentes sobre ecossistemas de água doce (Tab. 1).

No campo da pesquisa científica, estes protocolos têm sido amplamente utilizados em estudos ecotoxicológicos, que buscam compreender os riscos associados à presença de contaminantes sobre indivíduos, populações e comunidades de vertebrados e invertebrados, integrantes de ecossistemas aquáticos. Estas normativas são também constantemente utilizadas por órgãos ambientais fiscalizadores.

Quando um organismo-modelo tem seu uso padronizado em estudos ecotoxicológicos, pesquisadores de diferentes regiões do mundo podem utilizar estas mesmas espécies em suas pesquisas, facilitando a avaliação comparativa do potencial toxicológico de contaminantes aquáticos.

Tabela 1: Normativas ABNT que estabelecem critérios para o desenvolvimento de ensaios ecotoxicológicos utilizando organismos aquáticos de água doce.

Área	Organismo-modelo	Normativa
Ecotoxicologia aquática Ambientes de água doce	Chlorophyceae	NBR 12648:2018
	<i>Daphnia</i> spp.	NBR 12713:2016
	<i>Ceriodaphnia</i> spp.	NBR 13373:2017
	Misídeos	NBR 15308:2017
	<i>Hyalella</i> spp.	NBR 15470:2013
	Mollusca - Bivalvae	NBR 16456:2016
	<i>Artemia</i> sp.	NBR 16530:2016
	Peixes	NBR 12716:1993, NBR 15499:2016, NBR 15088:2016

Uma vez estabelecidos, estes protocolos passam a ser amplamente utilizados e, com isso, as espécies indicadas ganham maior evidência dentro da pesquisa ambiental, como é o caso de *D. magna* e *D. rerio*. A grande utilização destes organismos em todo o mundo, incluindo o Brasil, se deve principalmente ao estabelecimento e consolidação destes protocolos como alternativas eficazes, práticas e baratas para a realização do cultivo e da avaliação ecotoxicológica.

Além da disponibilidade de protocolos, sejam eles nacionais ou internacionais, outro fator que influencia a busca e adoção de um organismo-modelo em uma pesquisa ambiental é a quantidade de trabalhos publicados utilizando estas espécies nos últimos anos. Quanto maior for o número de trabalhos, mais relevante é a espécie dentro do campo de pesquisa. Nesta perspectiva, o uso de espécies já consolidadas tende a ser priorizado por pesquisadores, mesmo que em alguns casos a adoção de uma nova espécie possa trazer resultados mais relevantes, como é o caso de espécies nativas.

A maior parte dos estudos brasileiros utilizam organismos exóticos na avaliação dos efeitos tóxicos de contaminantes aquáticos. Isso se deve ao fato de que já existem normativas estabelecidas em outros países, o que facilita tanto a execução dos testes como o cultivo dos organismos, e a *Daphnia similis* é um exemplo. A espécie vem sendo bastante utilizada em testes de toxicidade no Brasil (BURATINI; BERTOLETTI; ZAGATTO, 2004). Apesar de não ser uma espécie nativa, é facilmente cultivada em laboratório e atende aos critérios estabelecidos pelos procedimentos padrões para a seleção de espécies alternativas (COSTA *et al.*, 2008).

Neste contexto, nos cabe refletir: o quão relevante é o uso de organismos exóticos quando se busca obter informações sobre os impactos de poluentes aquáticos sobre os ecossistemas brasileiros? Assim, o presente capítulo propõe refletir sobre o uso de organismos nativos em estudos ecotoxicológicos.

O USO DE ESPÉCIES EXÓTICAS PODE TRAZER RESPOSTAS REALISTAS SOBRE O IMPACTO DE POLUENTES SOBRE OS ECOSISTEMAS AQUÁTICOS BRASILEIROS?

Imaginemos o seguinte cenário: um pesquisador de uma universidade brasileira buscando compreender os impactos de um inseticida sobre um corpo hídrico brasileiro estabeleceu o crustáceo *D. magna*, nativo de regiões temperadas, como organismo-modelo em seu estudo ecotoxicológico. Para isso, o pesquisador obteve amostras ambientais de pontos onde fora detectada a presença do agrotóxico na coluna d'água e expôs indivíduos de *D. magna* seguindo todas as recomendações dos protocolos internacionais. Neste experimento, os efeitos observados em *D. magna* serão os mesmos observados em outras espécies de crustáceos brasileiros? O fato de ser uma espécie que é natural de uma região com características ambientais diferentes daquelas encontradas no Brasil é um aspecto que pode influenciar os resultados? Ou ainda se pensarmos em *D. magna* como uma espécie constituinte de uma cadeia alimentar, o uso deste organismo reflete o modo como os outros níveis tróficos serão afetados?

O princípio dos ensaios ecotoxicológicos consiste na obtenção de dados através de uma espécie-modelo, os quais são extrapolados para as demais que habitam um determinado ambiente. Entretanto,

nem sempre esta abordagem pode oferecer um panorama realista dos impactos de um poluente aquático. A extrapolação de dados obtidos em regiões temperadas para regiões tropicais tem sido constantemente utilizada, principalmente pelo fato de que os organismos-modelo mais utilizados são de zonas temperadas. Entretanto, esta abordagem tem sido contestada como uma forma sustentável de avaliar os riscos de contaminantes em ambientes tropicais. Diferenças de sensibilidade entre espécies temperadas e tropicais, relevância ecológica e seu valor econômico são algumas das razões que devem ser consideradas ao priorizar o uso de espécies nativas em ambientes tropicais (DAAM; VAN DEN BRINK, 2010).

A relevância ecológica de um organismo é um fator muito importante quando se busca propor o uso de uma espécie em estudos ecotoxicológicos. O número de espécies sugeridas como organismos-modelo é infinitamente pequeno quando comparado à enorme biodiversidade do planeta. Este pequeno grupo de organismos selecionados são utilizados de modo a representar toda a biota de um ecossistema. Se considerarmos que existem diferenças de sensibilidade muito significativas, os organismos-modelo adotados atualmente podem não oferecer respostas realistas sobre os efeitos tóxicos de substâncias químicas. Assim, quando se utiliza organismos exóticos ao ambiente de interesse em estudos ecotoxicológicos, cria-se um distanciamento entre o que de fato ocorre neste ecossistema e os resultados que serão obtidos. Estes organismos podem não ser tão representativos, o que dificulta a extrapolação dos possíveis efeitos em um corpo hídrico específico (DAAM; VAN DEN BRINK, 2010).

A diferença de sensibilidade é um fator esperado em estudos toxicológicos. É natural observar níveis diferentes de tolerância a um poluente em espécies de um mesmo ambiente. Entretanto, se tratando de espécies de regiões muito distintas, esta diferença pode ser ainda mais acentuada. Alguns trabalhos reportam uma diferença de sensibilidade entre organismos de áreas temperadas e tropicais. Espécies temperadas apresentaram uma maior sensibilidade a metais como cádmio, cromo, chumbo e mercúrio e a pesticidas como carbaril, DDT, lindano e malation. Por outro lado, espécies tropicais mostraram-se sensíveis a contaminantes como amônia, manganês, zinco, fenol e ao pesticida clordano (KWOK *et al.*, 2007; WANG; KWOK; LEUNG, 2019). Além da representatividade ecológica, ou seja, o fato dessa espécie não compor os ecossistemas aquáticos de uma determinada região, e da diferença de sensibilidade, outros aspectos relacionados ao uso de espécies exóticas, tais como condições ambientais aos quais estes organismos estão adaptados, devem ser considerados.

Ambientes temperados e tropicais diferem entre si em vários aspectos. Regiões tropicais apresentam temperaturas mais elevadas, maior incidência de radiação solar, ciclagem de nutrientes, elevados índices pluviométricos e biodiversidade (BOULTON *et al.*, 2008; SYVITSKI *et al.*, 2014), diferindo de zonas temperadas. Estas características ambientais influenciam não somente os organismos que ali habitam e o ambiente físico, mas também podem afetar a dinâmica de poluentes em corpos hídricos.

Uma vez que o contaminante entra no corpo hídrico, a temperatura, o pH, a radiação UV, a sorção sobre sólidos e a microbiota aquática são apenas alguns dos fatores ambientais capazes de alterar as propriedades destas substâncias químicas, podendo degradá-las ou ainda torná-las mais nocivas à biota aquática (COSTA *et al.*, 2008).

O resultado obtido em testes ecotoxicológicos diz respeito não somente ao grupo de organismos utilizado, mas também às condições ambientais ideais para o organismo utilizado. Um organismo nativo de regiões tropicais traz informações sobre os efeitos tóxicos e a dinâmica de contaminantes nestas regiões. Para dafnídeos, por exemplo, a temperatura estabelecida para testes de ecotoxicológicos em regiões tropicais é em torno de 25°C (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2016), enquanto em regiões temperadas a temperatura padrão recomendada é por volta de 20°C (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2004).

Outro aspecto ambiental importante é a radiação solar. Ambientes tropicais recebem uma maior incidência de radiação solar, quando comparados às zonas temperadas. A fotodegradação pode alterar as propriedades químicas de poluentes, podendo aumentar ou diminuir seu tempo de meia-vida no ambiente e até gerar subprodutos ainda mais tóxicos (ZHU *et al.*, 2020a; ZHU *et al.*, 2020b).

Uma vez que há diferenças entre os ecossistemas aquáticos tropicais e temperados, em termos de sensibilidade das espécies e condições ambientais, e estas diferenças não são levadas em consideração, é incerto se as diretrizes de qualidade da água desenvolvidas com base nas espécies temperadas forneceriam proteção adequada para as espécies tropicais (ARAMBAWATTA-LEKAMGE; PATHIRATNE; RATHNAYAKE, 2021).

Deste modo, a extrapolação de dados ecotoxicológicos entre regiões distintas pode ser contestada. Somente o uso de espécies nativas fornece uma avaliação ecologicamente realista de sua verdadeira sensibilidade, além de implicar em menos restrições logísticas e evitar a introdução de espécies exóticas. Por estas razões, as diretrizes de países como Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia recomendam o uso de dados ecotoxicológicos de espécies nativas para determinar critérios de qualidade da água (RAYMUNDO *et al.*, 2019).

O uso de espécies nativas com relevância ecológica para o ambiente é uma ferramenta importante para obtenção de informações sobre a resposta do ecossistema ao potencial impacto ecológico de um poluente ambiental. Além de não fornecer resultados realistas sobre os ecossistemas brasileiros, outro fator que deve ser considerado está associado à possibilidade de entrada destes organismos exóticos em ambientes naturais.

ORGANISMOS-MODELO EXÓTICOS PODEM OFERECER RISCOS AOS ECOSISTEMAS BRASILEIROS

A maior parte dos estudos ecotoxicológicos utiliza organismos-modelo cultivados em laboratório, respeitando protocolos a fim de garantir a qualidade do cultivo e a longevidade das gerações destes organismos. Como já mencionado, a maioria das espécies que dispõem de protocolos de cultivo não são nativas do território brasileiro, o que resulta no uso de espécies exóticas em pesquisas buscando avaliar os impactos de contaminantes em corpos hídricos brasileiros.

Voltando àquele cenário do pesquisador brasileiro mencionado anteriormente. Como etapa posterior às análises laboratoriais com amostras ambientais, o pesquisador buscou realizar um experimento *in situ*, a fim de trazer respostas mais realistas considerando as variáveis ambientais do corpo hídrico estudado. Para isso, ele desenvolveu um sistema onde foi possível acondicionar indivíduos de *D. magna* e levá-los para os pontos de coleta, promovendo assim a exposição ao pesticida presente no ambiente. Se, porventura, este sistema for danificado após um evento forte de chuva e estes organismos consigam escapar deste sistema, a entrada desta espécie, que até então não ocorria nesta área, pode representar um risco a este ecossistema?

As espécies aquáticas invasoras são aquelas que, uma vez introduzidas em um corpo hídrico onde não ocorre naturalmente, adaptam-se e passam a se reproduzir e proliferar, podendo resultar em alterações nos processos ecológicos. Comumente, espécies exóticas introduzidas não possuem predadores capazes de controlar sua densidade populacional, o que resulta em um crescimento descontrolado neste novo habitat. Quando bem adaptadas ao novo ambiente, estas espécies invasoras são capazes de comprometer significativamente os ecossistemas, alterando nichos ecológicos e suprimindo espécies nativas, podendo ainda levar espécies competidoras à extinção no ambiente invadido. A introdução de espécies exóticas representa uma das principais causas de extinção de espécies nativas e perda de biodiversidade.

De modo geral, a introdução de espécies exóticas em ambientes naturais pode ocorrer de forma intencional ou acidental.

De forma intencional podemos mencionar o peixe *Pygocentrus nattereri*. Conhecida popularmente como piranha ou piranha vermelha, esta espécie originária da região Norte do Brasil foi introduzida em corpos hídricos nas demais regiões do país. *P. nattereri* é uma espécie apreciada por pescadores devido ao seu comportamento agressivo, o que levou a sua introdução vários corpos hídricos ao longo do território brasileiro. Em lagoas do Rio Doce, a introdução de *P. nattereri* resultou na redução da riqueza de espécies de peixes nativos (LATINI; PETRERE, 2004).

A tilápia, *Oreochromis niloticus*, é outro exemplo de introdução intencional. Originária do continente africano, a tilápia foi trazida com o intuito de combater plantas aquáticas em barragens de hidrelétricas (FIGUEREDO; GIANI, 2005). Atualmente, esta espécie pode ser encontrada em corpos hídricos de todo o território brasileiro. A sua ampla distribuição se deve não somente à introdução destinada a pesca, como também devido a fuga de criadouros. Além disso, no Brasil, uma série de estudos ecotoxicológicos têm utilizado indivíduos de *O. niloticus* (CAMPOS *et al.*, 2019; FOLLE *et al.*, 2021; GEMUSSE *et al.*, 2021).

Como exemplo de introdução acidental ou não-intencional de espécies exóticas podemos mencionar a espécie *Limnoperna fortunei*. Conhecido como mexilhão-dourado, é um molusco bivalve nativo de rios e estuários do sudeste asiático que foi introduzido acidentalmente no Brasil no início da década de 90 através da água de lastro de navios. Desde então, a espécie invadiu rapidamente os principais rios e reservatórios da Bacia do Rio Paraná no sul do Brasil. A dispersão desta espécie em corpos hídricos é facilitada devido a existência de uma fase larval planctônica e capacidade de incrustação de indivíduos jovens e adultos (PARESCHI *et al.*, 2008; PESTANA *et al.*, 2010). Uma vez em ecossistemas aquáticos brasileiros, *L. fortunei* é capaz de causar danos ao equilíbrio ecológico nestes ambientes através da supressão de espécies nativas. Além disso, a espécie causou prejuízos nos sistemas de abastecimento de água e geração de energia. Recentemente, a ocorrência de *L. fortunei* foi reportada na Bacia do Rio São Francisco (BARBOSA *et al.*, 2016). Estudos ecotoxicológicos brasileiros utilizando esta espécie podem ser encontrados na literatura (MONTRESOR *et al.*, 2013; NUNES *et al.*, 2020).

No caso do peixe *Poecilia reticulata*, sua introdução pode ter sido tanto acidental como intencional. É nativa da América Central e norte da América do Sul, englobando as regiões Norte e Nordeste do Brasil, porém, atualmente é possível encontrá-la ocorrendo naturalmente em corpos hídricos de diversos estados das regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil. Acredita-se que a espécie tenha adentrado em corpos hídricos de outras regiões pela fuga de tanques de criadouros, uma vez que *P. reticulata* é uma das espécies ornamentais mais populares em todo o mundo. Por outro lado, alguns relatos indicam que a introdução de *P. reticulata* pode ter ocorrido de forma intencional com o intuito de utilizá-los no combate à larvas de mosquitos, principalmente do gênero *Anopheles* e *Culex*, sendo o primeiro gênero conhecido como mosquito-prego e transmissor da malária (DEACON *et al.*, 2019). Isto torna-se possível uma vez que larvas de invertebrados constitui parte da dieta desta espécie. De todo modo, embora esta espécie tenha se adaptado com facilidade nos novos ambientes, não há indícios de que tenha causado grandes impactos nos ambientes onde foi inserido, porém este assunto ainda carece de informações.

A introdução de espécies exóticas em um ambiente pode ter um impacto muito profundo sobre a biodiversidade dos ecossistemas, colocando em risco a sobrevivência de populações que habitam estes locais (DUEÑAS *et al.*, 2021). No caso das pesquisas em Ecotoxicologia, é necessário se atentar, principalmente, à introdução acidental ou não-intencional. Ao se utilizar de espécies exóticas nas avaliações ecotoxicológicas corre-se o risco de facilitar a entrada destes organismos no ambiente natural, seja pelo descarte inadequado de organismos ainda vivos utilizados em ensaios laboratoriais ou ainda pela fuga de organismos de sistemas de cultivo ou de experimentos realizados em campo.

Diante destes casos de introdução de espécies exóticas e da importância de se obter resultados mais realistas dos impactos ambientais, deve-se priorizar o uso de organismos nativos.

ESPÉCIES NATIVAS DO TERRITÓRIO BRASILEIRO COM POTENCIAL PARA ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS

Na literatura é possível encontrar diferentes trabalhos que utilizaram organismos nativos de corpos hídricos brasileiros na avaliação da ecotoxicidade de uma série de contaminantes aquáticos. A seguir mencionaremos trabalhos desenvolvidos em centros de pesquisa brasileiros.

Girardia tigrina

A planária *Girardia tigrina* habita as raízes de macrófitas ou sob pedras de córregos e lagoas das costas do Atlântico (Fig 3.). Esta espécie apresenta comprimento que varia de 6 a 12 mm e sua cor varia de cinza a marrom.

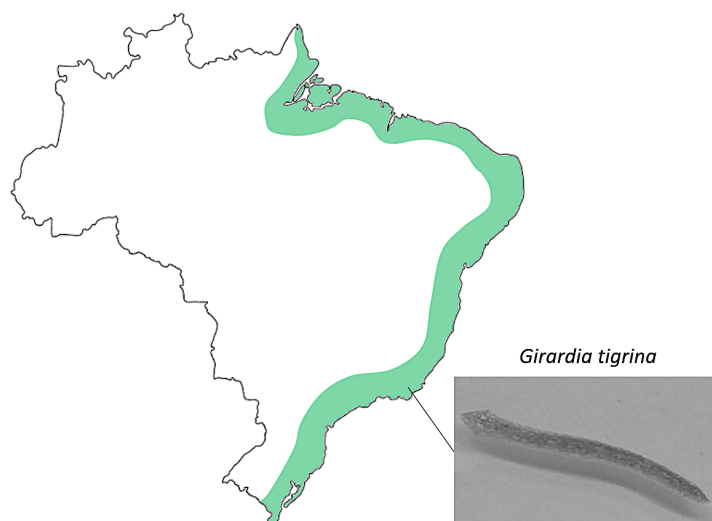


Figura 3: Distribuição estimada de *Girardia tigrina* em território brasileiro. Foto: Sheiman et al. (2010).

Particularmente, *G. tigrina* demonstrou ser um bom indicador a ser utilizado na avaliação do efeito tóxico de poluentes aquáticos (PREZA; SMITH, 2001), principalmente por apresentar sensibilidade a uma variedade de agentes toxicológicos (BARROS *et al.*, 2006).

Indivíduos adultos de *G. tigrina* de um cultivo pré-estabelecido foram utilizados para avaliar a toxicidade de efluentes de refinaria de petróleo. Para isto, foram observados diferentes endpoints (respostas) como regeneração, locomoção e mudanças comportamentais. Os resultados obtidos demonstraram que os efluentes avaliados não causaram toxicidade nestes organismos (BARROS *et al.*, 2006).

Em outro estudo, indivíduos de *G. tigrina* coletados no Rio Paraíba do Sul, localizado no sudeste brasileiro, foram utilizados na avaliação da toxicidade do sulfato de cádmio. A letalidade causada por este composto chegou a mais de 65% após 96 horas de exposição (PENHA *et al.*, 2014).

Bioinseticidas afetaram o comportamento, a regeneração e a reprodução de *G. tigrina* oriundos de cultivos laboratoriais. Os efeitos observados demonstraram que estes inseticidas não podem ser considerados alternativas aos inseticidas químicos (DORNELAS *et al.*, 2021).

Biomphalaria glabrata

Biomphalaria glabrata é um molusco comumente estudado por atuar como hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni*. Entretanto, estudos utilizando este organismo em estudos de monitoramento ambiental têm crescido nos últimos anos. Esta espécie possui ampla distribuição no território brasileiro, baixa dispersão e pode ser facilmente coletada, o que a torna um bom organismo modelo para estudos ecotoxicológicos (TALLARICO *et al.*, 2014) (Fig. 4).

Indivíduos adultos de *B. glabrata* cultivados em laboratório foram utilizados como organismo-modelo para avaliar os efeitos de nanopartículas de óxido de ferro sobre a sua reprodução. Indivíduos adultos de *B. glabrata* tiveram a fecundidade e fertilidade reduzida após exposição às nanopartículas. Além disso, após exposição crônica alterações comportamentais foram observadas (CAIXETA *et al.*, 2021).

Indivíduos adultos e embriões de *B. glabrata* oriundos de culturas laboratoriais foram utilizados na avaliação da toxicidade do cromo e de amostras ambientais contaminadas por este elemento. Os ensaios demonstraram que o composto avaliado causou tanto alterações comportamentais como a mortalidade destes organismos (TALLARICO *et al.*, 2014).

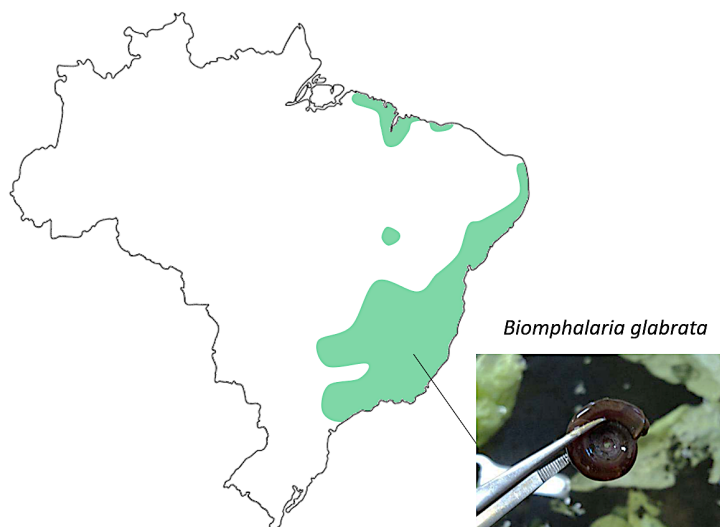


Figura 4: Distribuição estimada de *Biomphalaria glabrata* em território brasileiro. Foto: Cavalcanti (2011).

Chironomus sancticaroli

Chironomus sancticaroli é uma espécie proximamente relacionada à *Chironomus xanthus* sendo considerada um sinônimo. Esta espécie de díptero, que apresenta uma forma larval aquática, ocorre em corpos hídricos de água doce da América do Sul (Fig. 5) (DORNFELD *et al.*, 2019; FONSECA; ROCHA, 2004).

O antimônio reduziu o tamanho das larvas e adultos de *C. sancticaroli* cultivados em laboratório. Além disso, efeitos genotóxicos e alterações em atividades enzimáticas também foram observadas (MORAIS *et al.*, 2019).

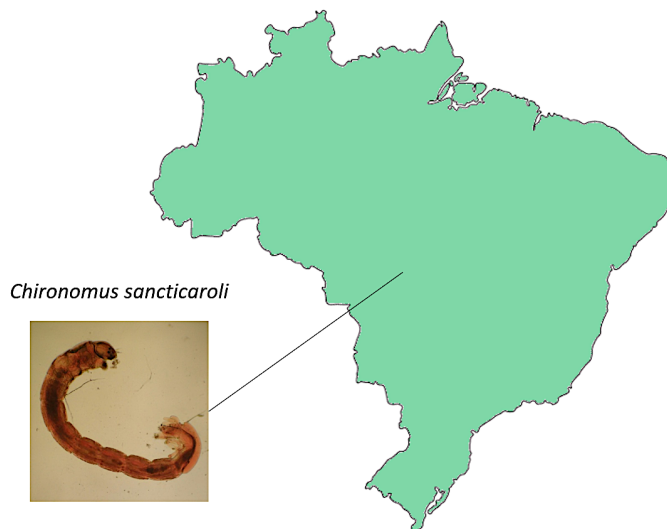


Figura 5: Distribuição estimada de *Chironomus sancticaroli* em território brasileiro. Foto: Próprio autor.

O agente plasticizante ftalato de butil benzila (BBP) causou danos ao DNA, efeitos neurotóxicos e alterações em enzimas que combatem o estresse oxidativo em *C. sancticaroli*. Além disso, atraso no desenvolvimento de larvas e inibição da emergência de adultos de *C. sancticaroli* também foram observados (MORAIS *et al.*, 2020).

Éter difenílico polibromado (PBDE), utilizado em uma série de produtos a fim de aumentar a resistência de materiais ao fogo, é um poluente emergente em ambientes aquáticos. Danos no DNA e alterações enzimáticas foram observadas em larvas de *C. sancticaroli* após exposição a diferentes tipos de PBDEs (PALACIO-CORTÉS *et al.*, 2017).

O fenantreno, composto orgânico comumente encontrado no ambiente natural, causou alterações na atividade de enzimas antioxidantes, no crescimento e no processo de ecdise de larvas de *C. sancticaroli* (RICHARDI *et al.*, 2018). Além disso, efeitos genotóxicos e redução do tamanho da cápsula cefálica também foram reportados após a exposição aguda e crônica ao fenantreno (MORAIS *et al.*, 2014).

Daphnia laevis

Várias espécies do gênero *Daphnia* são utilizadas em ensaios ecotoxicológicos. A ampla utilização destas espécies se deve ao fato de que estas são mais sensíveis a poluentes quando comparadas a outras espécies de invertebrados. Dentre as mais utilizadas, a *Daphnia magna*, como já mencionado anteriormente, figura na maioria das pesquisas ecotoxicológicas utilizando dafinídeos. Além desta, outras espécies do gênero também tem sido utilizadas como *Daphnia pulex* (ZEIN *et al.*, 2014), *Daphnia lumholtzi* (VO *et al.*, 2020) e *Daphnia similis* (PRADO *et al.*, 2021; QUEIROZ *et al.*, 2021), porém todas estas são consideradas exóticas ao território brasileiro.

A espécie *Daphnia laevis* (Fig. 6), por sua vez, é uma espécie de Cladocera encontrada em ambientes lacustres no território brasileiro e seu uso tem se apresentado como uma alternativa às espécies de *Daphnia* sp. de regiões temperadas. Além disso, a facilidade de cultivo, baixo custo e sua taxa reprodutiva se assemelham às demais espécies do gênero tornando este organismo uma alternativa viável para adoção em estudos ambientais (RIETZLER *et al.*, 2017).

Ao comparar a sensibilidade de *D. laevis* e *D. similis*, Rietzler *et al.* (2017) observou uma maior sensibilidade de *D. laevis* a substâncias de referência como cloreto de sódio, dodecil sulfato de sódio e dicromato de potássio. Em outro estudo, Rocha *et al.* (2016) avaliaram como o bioacúmulo de cobre em algas pode afetar indivíduos de *D. laevis* através da ingestão. Os autores observaram uma redução na longevidade de indivíduos expostos ao metal, bem como em variáveis reprodutivas, como a produção de ovos e de neonatos.

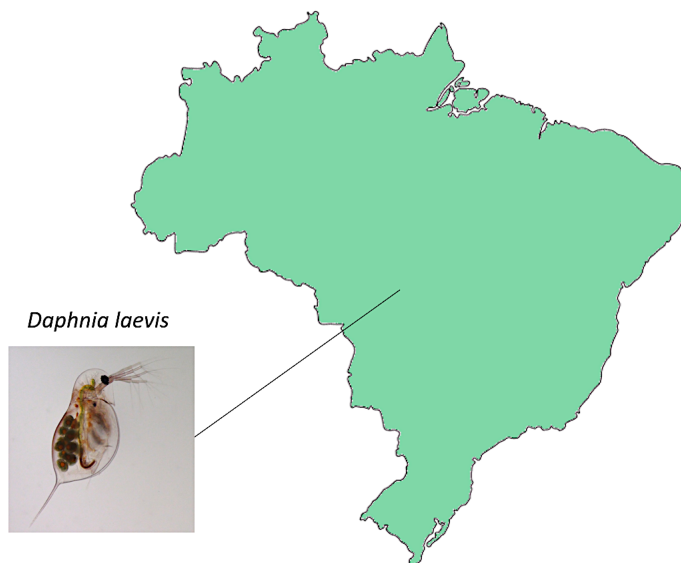


Figura 6: Distribuição estimada de espécies de *Daphnia laevis* em território brasileiro. Foto: Center for Freshwater Biology (<http://cfb.unh.edu/>).

Macrobrachium sp.

As espécies de camarão de água doce pertencentes ao gênero *Macrobrachium* sp. são encontradas em diferentes bacias hidrográficas brasileiras e possuem grande importância do ponto de vista econômico em suas regiões de ocorrência. Recentemente, estas espécies também têm sido utilizadas na avaliação ecotoxicológica de contaminantes aquáticos.

Macrobrachium amazonicum, popularmente conhecido como camarão-da-amazônia, é uma espécie de crustáceo de água doce distribuído principalmente pela Bacia Amazônica (Fig. 7). Essa espécie possui grande importância comercial, uma vez que é explorada para consumo pela pesca artesanal na região norte e nordeste do Brasil (LIMA *et al.*, 2014).

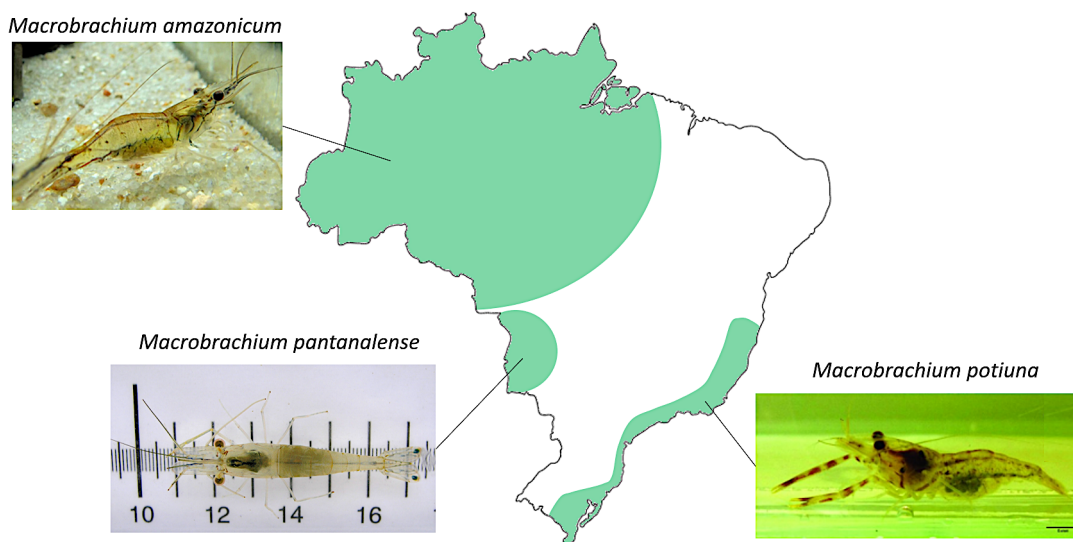


Figura 7: Distribuição de espécies de *Macrobrachium* sp. em território brasileiro. Foto: *Macrobrachium amazonicum* (CASTRO, 2019), *Macrobrachium pantanalense* (SANTOS, A.; HAYD, L.; ANGER, 2013) e *Macrobrachium potiuna* (MELO, 2020).

Vários estudos têm avaliado a toxicidade de compostos nitrogenados sobre *M. amazonicum*. A amônia causou estresse oxidativo em indivíduos de *M. amazonicum* produzidos a partir de reprodutores coletados em rios do Estado do Pará (PINTO *et al.*, 2016). Estágios larvais de *M. amazonicum* demonstraram ser mais sensíveis a amônia quando comparado a indivíduos adultos de culturas laboratoriais (DUTRA *et al.*, 2016). Em outro estudo, *M. amazonicum* apresentou danos sobre a estrutura das brânquias dos indivíduos expostos a elevadas concentrações de nitrato (DUTRA *et al.*, 2020).

M. amazonicum também foi utilizado para avaliar a contaminação por elementos traços em rios amazônicos (rio Tapajós e Amazonas) impactados pela atividade mineradora. O acúmulo de elementos como Co, Fe e Mn ocorreu principalmente nas vísceras destes organismos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020).

Descrita recentemente, *Macrobrachium pantanalense* é uma espécie de camarão endêmico do Pantanal (Fig. 7) (SANTOS, A.; HAYD, L.; ANGER, 2013) que tem sido utilizada na avaliação dos efeitos de agrotóxicos utilizados em sua região de ocorrência.

O inseticida cipermetrina causou lesões nas brânquias e comprometeu a capacidade natatória de *M. pantanalense* coletados em ambientes lênticos do Pantanal sul-mato-grossense. Estes efeitos sugerem a ação do inseticida sobre o sistema nervoso deste organismo (SOARES *et al.*, 2019). Além disso, indivíduos da espécie *M. pantanalense* cultivados em condições laboratoriais mostraram-se mais sensíveis à cipermetrina que *M. amazonicum*, *Daphnia similis* e *D. rerio* (SOARES *et al.*, 2017).

Macrobrachium potiuna é encontrado em rios e riachos de bacias hidrográficas que vão desde o Espírito Santo até o Rio Grande do Sul (Fig. 7) (ANTUNES; OSHIRO, 2004). O cultivo deste organismo em laboratório é de difícil execução quando comparado a outras espécies do gênero (BOND; BUCKUP, 1983). Entretanto, algumas publicações têm utilizado indivíduos de *M. potiuna* coletados em ambientes preservados. O glifosato induziu estresse oxidativo em indivíduos machos de *M. potiuna* coletados em rios do Parque Municipal do Maciço da Costeira, Santa Catarina. O efeito do glifosato foi caracterizado pela subexpressão de genes e acúmulo de espécies reativas de oxigênio no hepatopâncreas (MELO *et al.*, 2020a). Em outro estudo, os autores demonstraram a capacidade do glifosato em atuar como um desregulador endócrino. Após exposição ao glifosato, fêmeas de *M. potiuna* apresentaram uma redução na concentração de hormônios ecdisteróides responsáveis por regular o processo de muda em crustáceos. Diferentemente, os machos avaliados apresentaram um aumento na concentração destes hormônios (MELO *et al.*, 2020b).

Astyanax altiparanae

Astyanax altiparanae é uma espécie de peixe teleosteo de pequeno porte (10 a 15 cm de comprimento) popularmente conhecido como lambari ou lambari-do-rabo-amarelo, amplamente encontrado na bacia do Rio Paraná (Fig. 8), trecho que vai da nascente do rio até o encontro com a fronteira do rio Paraguai, conhecido como Alto Paraná (GARUTTI, 2003). Recentemente, esta espécie tem sido utilizada em estudos ecotoxicológicos para avaliação dos efeitos de diferentes poluentes aquáticos.

Estudos laboratoriais demonstraram que o hormônio 17 β -estradiol afetou a expressão de genes responsáveis pela diferenciação sexual em indivíduos machos de *A. altiparanae* (MARTINEZ-BENGOCHEA *et al.*, 2020). Diclofenaco e cafeína inibiram a ação de enzimas antioxidantes em *A. altiparanae* (MUÑOZ-PEÑUELA *et al.*, 2021).

O alumínio possui potencial citotóxico e genotóxico para *A. altiparanae*. Além disso, temperaturas elevadas promoveram uma maior bioacumulação nos testículos de *A. altiparanae* e aumento na frequência de anormalidades nucleares em eritrócitos. Enquanto em temperaturas mais baixas a bioacumulação foi maior no sêmen de organismos expostos (PINHEIRO *et al.*, 2019). Em outro estudo, em concentrações ambientais, o alumínio quando associado a condições específicas de pH e temperatura causou uma redução na qualidade do esperma de *A. altiparanae* (PINHEIRO *et al.*, 2020).

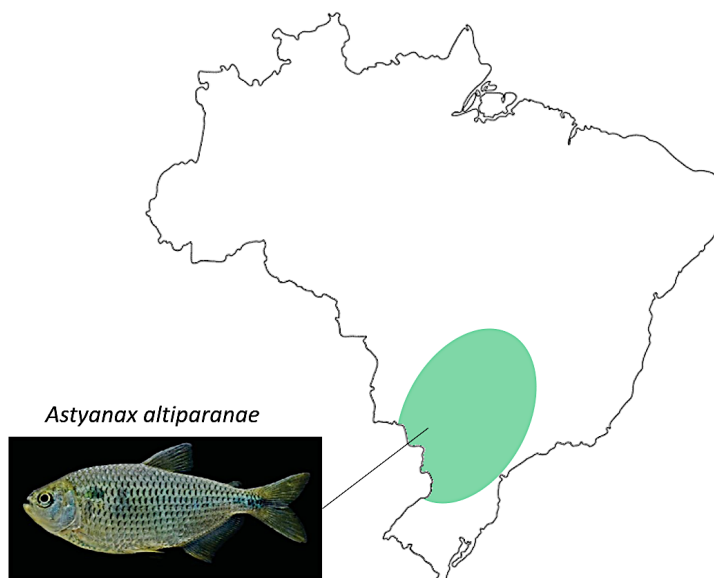


Figura 8: Distribuição estimada de *Astyanax altiparanae* em território brasileiro. Foto: Dal Pont (2018).

Poecilia reticulata

Poecilia reticulata, popularmente conhecido como guppy, lebiste ou guaru, é nativo na América Central e norte da América do Sul, incluindo a região Norte e Nordeste do Brasil (Fig. 9).

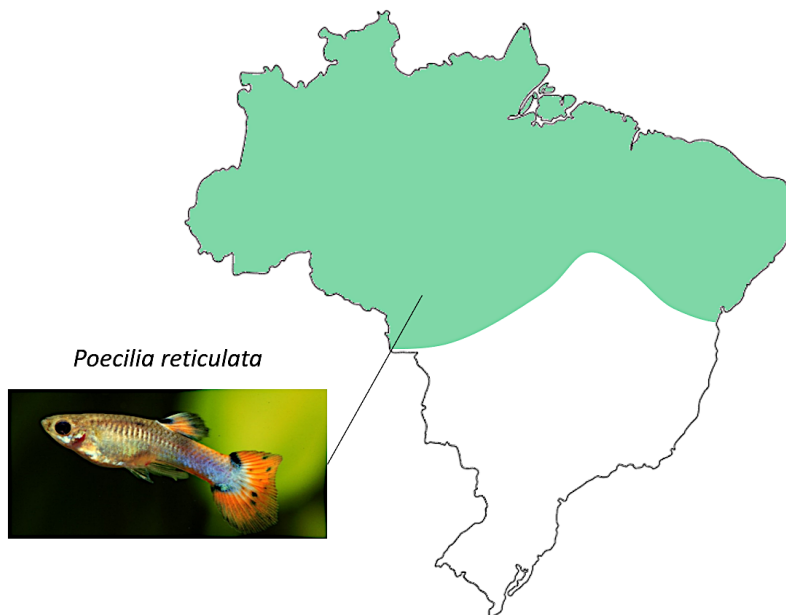


Figura 9: Distribuição estimada de *Poecilia reticulata* em território brasileiro. Foto: Scanlon; Marsden; Moore (2011)

Embora seja uma espécie nativa da região norte e nordeste do Brasil, *P. reticulata* é considerada uma espécie exótica nas demais regiões onde já é possível encontrá-los no ambiente natural em alguns estados da região centro-oeste, sudeste e sul. Como mencionado anteriormente, esta espécie foi introduzida em outras regiões do mundo de forma acidental, pela fuga de criadouros, ou destinado ao controle de mosquitos.

P. reticulata é um bioindicador recomendado para ensaios ecotoxicológicos pela Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), a qual estabelece normas para utilização do mesmo em testes laboratoriais. Nos últimos anos, *P. reticulata* tem sido bastante utilizada na avaliação da toxicidade de uma série de poluentes aquáticos.

A benzofenona-3, presente em filtro solares e produtos de cuidado pessoal, é considerado um poluente emergente e ainda dispõe de pouca informação acerca dos seus efeitos sobre a biota aquática. Este composto demonstrou ser capaz de causar danos no DNA de eritrócitos de *P. reticulata*, além de aumentar a frequência de anormalidades nucleares nestas células (ALMEIDA *et al.*, 2019).

Outro contaminante emergente, o triclosan demonstrou ser capaz de promover uma resposta de fuga em indivíduos de *P. reticulata* expostos a concentrações subletais deste composto. Deste modo, o triclosan pode causar declínio populacional de *P. reticulata* em escala local em ambientes contaminados por este poluente (SILVA *et al.*, 2017).

A hepatotoxicidade é um endpoint que também pode ser avaliado a partir de ensaios toxicológicos utilizando *P. reticulata*. Herbicidas a base de glifosato podem causar alterações no citoesqueleto e no metabolismo energético de *P. reticulata*. Além disso, dano tecidual e morte celular também foi observado (SANTOS *et al.*, 2017).

Rhinella diptycha

Nativa do Brasil, Bolívia, Argentina, Paraguai e Uruguai, a espécie *Rhinella diptycha* conhecida como sapo-cururú, sapo-boi e sapo-rococo é um anfíbio representante da família Bufonidae (LAVILLA; BRUSQUETTI, 2018; PÉREZ-IGLESIAS *et al.*, 2019) (Fig. 10). Poucos estudos relatam o uso da espécie *R. diptycha*, porém deve-se à recente mudança de nome feita pela cladística, conhecida anteriormente como *Rhinella schneideri* (VASCONCELOS-TEIXEIRA *et al.*, 2021).



Figura 10: Distribuição estimada de *Rhinella diptycha* em território brasileiro. Foto: Sousa; Leonel; Filho, (2019).

Estudos realizados com a espécie *R. diptycha* mostraram que o potencial de organismos capazes de mediar entre o ambiente aquático e terrestre podem mostrar-se mais suscetíveis a impactos ambientais, como é o caso de anfíbios (VASCONCELOS-TEIXEIRA *et al.*, 2021). Alguns autores já demonstraram que a atrazina é capaz de promover alteração tanto comportamental como impactos diretos sobre o corpo dos organismos, afetando o crescimento e desenvolvimento morfológico (PÉREZ-IGLESIAS *et al.*, 2019). No mesmo estudo, foi visto que girinos no estágio Gosner-30, desenvolveram sérios danos toxicológicos agudos após exposição à atrazina. Os autores observaram danos a níveis celulares de hepatócitos, eritrócitos e melanóforos dérmicos da região caudal (PÉREZ-IGLESIAS *et al.*, 2019).

Recentemente, uma nova ferramenta para análise de poluições ambientais passou a ser adotada em análises ecotoxicológicas, é a técnica do monitoramento de células pigmentadas por melanina (FANALI *et al.*, 2021; PÉREZ-IGLESIAS *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2017). Essa técnica tem por objetivo diagnosticar modificações que podem interferir diretamente no tubo neural embrionário e posteriormente tecidos epidérmicos. Cada pigmento está localizado dentro de vesículas repletas de compostos cromóforos, os quais são os responsáveis pela coloração da pele observada nos organismos vertebrados e invertebrados (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Utilizando a espécie *R. diptycha* foi observado que a presença de fármacos antiandrogênicos, como a flutamida, foi capaz de promover mudanças em níveis enzimáticos, aumentando da taxa de melanina presente nos melanomacrófagos (MMs) (GREGORIO *et al.*, 2016). Foi mostrado nesse trabalho que o processo metabólico da flutamida é realizado pelo complexo citocromático P450, produzindo vários radicais reativos, que podem levar ao quadro de estresse oxidativo (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Nessa situação, em resposta ao relativo aumento principalmente da peroxidação lipídica, o sistema antioxidante tende a elevar o nível de enzimas que captam esses radicais, primeiramente pela ação de peroxidações, agindo como primeira linha de defesa as enzimas CAT, GPx e superóxido dismutase (SOD) (IGHODARO; AKINLOYE,

2018; SINDHI *et al.*, 2013). Foi observado que em *R. diptycha*, o aumento da taxa de melanina foi provocada pela ação desse estresse oxidativo causado pela flutamida, sendo os MMs, os responsáveis pela neutralização dos radicais reativos (GREGORIO *et al.*, 2016; KASHIMSHETTY *et al.*, 2009).

Crassostrea rhizophorae

Com o passar dos anos, o índice de poluição só avançou no quesito de impacto ambiental, chegando até os estuários e manguezais (KULKARNI; DEOBAGKAR; ZINJARDE, 2018). Característicos dos ecossistemas de regiões tropicais e subtropicais, os manguezais apresentam a transição do ambiente marinho para o terrestre, e por esse motivo também estão sob influência das atividades antropogênicas diretamente e indiretamente (GUNNARSSON; & CASTILLO, 2018; KULKARNI; DEOBAGKAR; ZINJARDE, 2018).

Uma ostra nativa do Brasil (*Crassostrea rhizophorae*), encontrada no sul do país, estendendo-se até o mar Caribenho, é considerado um ótimo organismo bioindicador de qualidade ambiente, justamente pela área de abrangência que alcança (NILIN *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2020) (Fig. 11).

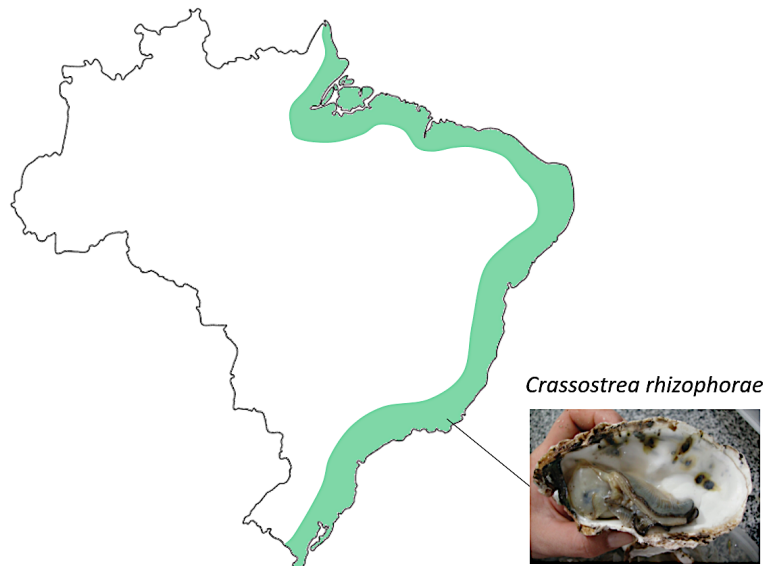


Figura 11: Distribuição estimada de *Crassostrea rhizophorae* em território brasileiro. Foto: Cova *et al.* (2015).

Autores já relatam o efetivo uso dessa espécie, apresentando características de sensibilidade em resposta à estressores ambientais, gerados pela contaminação de mercúrio (Hg) (NILIN *et al.*, 2021). No mesmo estudo foi identificado em sedimentos do Rio Ceará, no Nordeste do Brasil, que entre temporadas de seca e chuva, obteve-se a quantificação variável de 65 a 90 ng.g⁻¹ de Hg, concentrações estas suficientemente capazes de gerar quadros de estresse oxidativo em *C. rhizophorae*. Em ensaios ecotoxicológicos, a exposição ao estressor resultou na diminuição da atividade dos biomarcadores enzimáticos catalase (CAT) e carboxilesterase (CaE), e pelo aumento de glutatona S-transferase (GST) e acetilcolinesterase (AChE) (NILIN *et al.*, 2021).

Outros autores relataram que as temporadas chuvosas de fato aumentam o efeito do estresse oxidativo em ambientes marinhos, evidenciado pelo modelo experimental *C. rhizophorae* (RIBEIRO *et al.*, 2020). Nesse trabalho foi mostrado que o potencial da chuva em aumentar a vazão, fluxo e volume dos rios, provocam maior lixiviação de matéria orgânica e inorgânica, promovendo um desequilíbrio na fauna autóctone (OLIVEIRA *et al.*, 2019; RIBEIRO *et al.*, 2020). Em meio a tantos materiais poluentes, destacaram-se os resíduos Hg, compostos fenólicos e bifenil policlorados como os principais causadores

de danos estressores, caracterizados pela elevação da atividade de GST, decorrente ao contato com xenobióticos ali presentes (RIBEIRO *et al.*, 2020).

Vale ressaltar que, assim como bentônicos de vida livre, como o *C. sancticaroli*, os moluscos bivalves apresentam grande potencial para análises ecotoxicológicas de sedimentos por sua sensibilidade ao substrato. Assim, a espécie *C. rhizophorae* apresenta ótimo potencial para uso de bioindicador de qualidade ambiental e organismo modelo alternativo para ambientes marinhos.

Anomalocardia flexuosa

A espécie *Anomalocardia flexuosa*, até pouco tempo chamada de *Anomalocardia brasiliiana*, é um representante dos moluscos bivalves de regiões marinhas (LANA *et al.*, 2018). Por ser encontrada no Brasil e podendo se estender até a costa do Caribe, a espécie *A. flexuosa* prefere regiões de climas tropicais para seu desenvolvimento, entre 25-36 °C, suportando elevadas concentrações de salinidade (17-38%) (Fig. 12) (MOREIRA *et al.*, 2020).

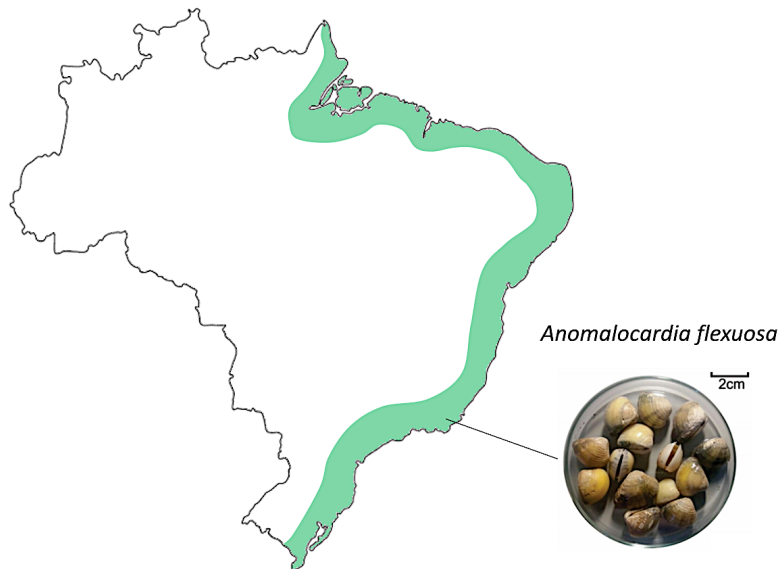


Figura 12: Distribuição estimada de *Anomalocardia flexuosa* em território brasileiro. Foto: Nascimento *et al.*, (2018).

Foi analisado nas regiões da Baía de Mucuripe, no Ceará, a presença de compostos derivados de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PHAs) e alquilbenzenos lineares (LABs) em seus sedimentos (MOREIRA *et al.*, 2020). Os testes indicaram após 28 dias de análise, que os sedimentos não apresentaram toxicidade. Porém, observou-se a bioacumulação destes contaminantes nos tecidos dos organismos testados, o que a longo prazo provocaria danos crônicos sobre a fisiologia dos mesmos, como visto pelos autores em estudos prévios realizados no mesmo local (MOREIRA *et al.*, 2019). Pelas análises, determinou-se uma maior atividade da enzima GST, um marcador responsável pela via de detoxificação de xenobióticos e principal biomarcador de estresse ambiental (GIRVAN; MUNRO, 2016; NARRA *et al.*, 2017; SRIKANTH *et al.*, 2013). Apresentando também relativo aumento das atividades das enzimas glutatona peroxidase (GPx) e glutatona redutase (GR), foi observado indicativos de peroxidação lipídica (LPO) e danos ao DNA (MOREIRA *et al.*, 2019).

Poucos estudos com a espécie foram encontrados na literatura, o que indica ainda grande margem para estudo e aperfeiçoamento desse modelo experimental. Mas, como organismos da espécie *C. rhizophorae*, a espécie *A. flexuosa* também apresenta grande potencial para uso nos ensaios ecotoxicológicos marinhos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O entendimento de como as atividades humanas impactam as comunidades aquáticas são de grande importância para a conservação da biodiversidade destes ambientes. Assim, a avaliação ecotoxicológica surge como uma importante ferramenta que contribui significativamente para proposição e melhoria de modelos de gestão e monitoramento de contaminantes em ecossistemas.

Impactos negativos sobre um único grupo de organismos podem desencadear problemas a nível ecossistêmico, uma vez que organismos como invertebrados e peixes possuem grande importância para a manutenção do ecossistema aquático. Deste modo, os estudos ecotoxicológicos requerem uma abordagem muito ampla para que se possa compreender a magnitude dos impactos de poluentes aquáticos nos organismos expostos.

O uso de organismos-modelo já é uma prática amplamente adotada em pesquisas científicas e por órgãos fiscalizadores. Entretanto, o uso de espécies exóticas em estudos ambientais pode resultar em interpretações que podem não representar com fidelidade os reais efeitos de poluentes sobre um corpo hídrico específico, uma vez que a sensibilidade a determinados poluentes pode variar de espécie para espécie.

O presente capítulo citou apenas algumas espécies de água doce e salgada nativas do território brasileiro que podem ser utilizadas em estudos ecotoxicológicos, porém, considerando a enorme biodiversidade do país, outras espécies podem se destacar como alternativas viáveis, representativas e ecologicamente seguras aos organismos exóticos atualmente utilizados.

Além disso, é importante ressaltar que a busca por novas espécies de organismos-modelo permite que novas formas de avaliação da toxicidade de contaminantes aquáticos sejam propostas e, com isso, novas respostas sobre os impactos ambientais poderão ser obtidas. Assim, ao adotar um novo organismo-modelo é possível propor melhores condições para cada tipo de análise, reduzir números experimentais e maximizar os resultados obtidos em estudos ecotoxicológicos.

O uso de um organismo-modelo amplamente consolidado nos permite realizar estudos comparativos em qualquer lugar do mundo, a fim de avaliar os impactos de diferentes contaminantes sobre esta espécie e, assim, extrapolar os dados obtidos às demais. Entretanto, a adoção de espécies nativas pode fornecer uma melhor compreensão sobre como os ambientes naturais estão sendo afetados pelas atividades antrópicas. Se combinadas, estas duas abordagens nos permitirão obter informações mais abrangentes sobre os impactos de poluentes sobre a biota e os ecossistemas aquáticos brasileiros, permitindo assim aprimorar a gestão dos recursos hídricos e mitigação de impactos nestes ecossistemas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, F. E. A. *et al.* Toxic and essential trace element concentrations in the freshwater shrimp *Macrobrachium amazonicum* in the Lower Amazon, Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 86, p. 103361, 2020.
- ALMEIDA, S. S. *et al.* Acute exposure to environmentally relevant concentrations of benzophenone-3 induced genotoxicity in *Poecilia reticulata*. **Aquatic Toxicology**, v. 216, p. 105293, 2019.
- ANTUNES, L. S.; OSHIRO, L. M. Y. Aspectos reprodutivos do camarão de água doce *Macrobrachium potiuna* (Müller) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) na Serra do Piloto, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 2, p. 261-266, 2004.
- ARAMBAWATTA-LEKAMGE, S. H.; PATHIRATNE, A.; RATHNAYAKE, I. V. N. Sensitivity of freshwater organisms to cadmium and copper at tropical temperature exposures: derivation of tropical freshwater ecotoxicity thresholds using species sensitivity distribution analysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 211, p. 111891, 2021.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: aquatic ecotoxicology — acute toxicity — test with *Daphnia spp* (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2016.

- BARBOSA, N. P. U. *et al.* *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae): first record in the São Francisco River basin, Brazil. **Check List**, v. 12, n. 1 p. 1846, 2016.
- BARROS, G. S. *et al.* Utilização de planárias da espécie *Dugesia Girardia tigrina* em testes de toxicidade de efluente de refinaria de petróleo. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 1, p. 67-70, 2006.
- BOND, G.; BUCKUP, L. O cultivo de *Macrobrachium borellii* (Nobili, 1896) e de *Macrobrachium potiuna* (Müller, 1880) em laboratório (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). **Rev. Brasil. Biol.**, v. 43, n. 2, p. 177-190, 1983.
- BOULTON, A. J. *et al.* Are tropical streams ecologically different from temperate streams? *In*: DUDGEON, D. (ed.). **Tropical stream ecology**. Cambridge: Academic Press, 2008. p. 257-284.
- BURATINI, S. V.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A. Evaluation of *Daphnia similis* as a test species in ecotoxicological assays. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 73, n. 5, p. 878-882, 2004.
- CAIXETA, M. B. *et al.* Risk assessment of iron oxide nanoparticles in an aquatic ecosystem: a case study on *Biomphalaria glabrata*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, p. 123398, 2021.
- CAMPOS, R. P. *et al.* Analysis of ZnO nanoparticle-induced changes in *Oreochromis niloticus* behavior as toxicity endpoint. **Science of the Total Environment**, v. 682, p. 561-571, 2019.
- CARSON, R. **Primavera silenciosa**. São Paulo: Gaia, 2010. 328 p.
- CASTRO, E. J. T. **A influência da aquaponia no desempenho reprodutivo e zootécnico de *Macrobrachium amazonicum***. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2019.
- CAVALCANTI, M. G. S. **Caracterização dos hemócitos de *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria straminea* sadios e infectados por *Schistosoma mansoni***. 2011. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.
- COSTA, R. C. *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.
- COVA, A. W. *et al.* Parasites in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* cultivated in the estuary of the Graciosa River in Taperoá, Bahia. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 21-27, 2015.
- DAAM, M. A.; VAN DEN BRINK, P. J. Implications of differences between temperate and tropical freshwater ecosystems for the ecological risk assessment of pesticides. **Ecotoxicology**, v. 19, n. 1, p. 24-37, 2010.
- DAL PONT, G. **Effects of petroleum hydrocarbons to tropical and temperate fish species: a toxicity and multibiomarker approach for the assessment of environmental contamination**. 2018. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.
- DEACON, A. E. *et al.* Predatory behaviour of female guppies (*Poecilia reticulata*) in a mosquito control context: the importance of social and habitat factors. **Aquatic Invasions**, v. 14, n. 3, p. 478-489, 2019.
- DORNELAS, A. S. P. *et al.* Effects of two biopesticides and salt on behaviour, regeneration and sexual reproduction of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 404, p. 124089, 2021.
- DORNFELD, C. B. *et al.* *Chironomus sancticarloi* (Diptera, Chironomidae) as a sensitive tropical test species in laboratory bioassays evaluating metals (copper and cadmium) and field testing. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 76, n. 1, p. 42-50, 2019.
- DUEÑAS, M. A. *et al.* The threat of invasive species to IUCN-listed critically endangered species: a systematic review. **Global Ecology and Conservation**, v. 26, p. e01476, 2021.
- DUTRA, F. M. *et al.* Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Amazon river prawn, *Macrobrachium amazonicum*, Heller, 1862. **Aquaculture**, v. 453, p. 104-109, 2016.
- DUTRA, F. M. *et al.* Nitrate acute toxicity to post larvae and juveniles of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862). **Chemosphere**, v. 242, p. 125229, 2020.

- FANALI, L. Z. *et al.* Liver description in three neotropical anuran species: from anatomy to ultrastructure. **Acta Zoologica**, jan., p. 1-10, 2021.
- FIGUEREDO, C. C.; GIANI, A. Ecological interactions between Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) and the phytoplanktonic community of the Furnas Reservoir (Brazil). **Freshwater Biology**, v. 50, n. 8, p. 1391-1403, 2005.
- FOLLE, N. M. T. *et al.* 2,4,6-Tribromophenol is toxic to *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) after trophic and subchronic exposure. **Chemosphere**, v. 268, p. 128785, 2021.
- FONSECA, A. L.; ROCHA, O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus*. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16, n. 2, p. 153-161, 2004.
- GARUTT, V. **Psicultura ecológica**. São Paulo: UNESP, 2003. 336 p.
- GEMUSSE, S. L. *et al.* Micropollutants impair the survival of *Oreochromis niloticus* and threaten local species from Iguazu River, Southern of Brazil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 83, p. 103596, 2021.
- GIRVAN, H. M.; MUNRO, A. W. Applications of microbial cytochrome P450 enzymes in biotechnology and synthetic biology. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 31, p. 136-145, 2016.
- GREGORIO, L. S. *et al.* Flutamide effects on morphology of reproductive organs and liver of Neotropical Anura, *Rhinella schneideri*. **Aquatic Toxicology**, v. 176, p. 181-189, 2016.
- GUNNARSSON, J. S.; CASTILLO, L. E. Ecotoxicology in tropical regions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 14, p. 13203-13206, 2018.
- IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.
- KASHIMSHETTY, R. *et al.* Underlying mitochondrial dysfunction triggers flutamide-induced oxidative liver injury in a mouse model of idiosyncratic drug toxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 238, n. 2, p. 150-159, 2009.
- KULKARNI, R.; DEOBAGKAR, D.; ZINJARDE, S. Metals in mangrove ecosystems and associated biota: a global perspective. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 153, p. 215-228, 2018.
- KWOK, K. W. H. *et al.* Comparison of tropical and temperate freshwater animal species' acute sensitivities to chemicals: implications for deriving safe extrapolation factors. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 3, n. 1, p. 49-67, 2007.
- LANA, P. C. *et al.* Benthic estuarine assemblages of the Southeastern Brazil Marine Ecoregion (SBME). In: LANA, P. C.; BERNARDINO, A. F. (eds.). **Brazilian estuaries: a benthic perspectives**. Berlin: Springer, 2018. p. 117-175. (Brazilian Marine Biodiversity).
- LATINI, A. O.; PETRERE, M. Reduction of a native fish fauna by alien species: an example from Brazilian freshwater tropical lakes. **Fisheries Management and Ecology**, v. 11, n. 2, p. 71-79, 2004.
- LAVILLA, E. O.; BRUSQUETTI, F. On the identity of *Bufo diptychus* Cope, 1862 (Anura: Bufonidae). **Zootaxa**, v. 4442, n. 1, p. 161-170, 2018.
- LIMA, J. F. *et al.* Reproductive aspects of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) in the State of Amapá, Amazon River mouth. **Acta Amazonica**, v. 44, n. 2, p. 245-254, 2014.
- MARTINEZ-BENGOCHEA, A. *et al.* Effects of 17 β -estradiol on early gonadal development and expression of genes implicated in sexual differentiation of a South American teleost, *Astyanax altiparanae*. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 248/249, p. 110467, 2020.
- MELO, M. S. **Toxicidade do herbicida à base de glifosato (Roundup WG) no hepatopâncreas e sistema endócrino do camarão de água doce *Macrobrachium potiana***. 2020. Tese (Doutorado em Biologia Celular e do Desenvolvimento) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.
- MELO, M. S. *et al.* Modulation of antioxidant gene expressions by Roundup® exposure in the decapod *Macrobrachium*

- potiuna. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 190, p. 110086, 2020a.
- MELO, M. S. *et al.* Roundup® disrupts chitinolytic enzyme activity and ecdysteroid concentration in *Macrobrachium potiuna*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 34, p. 43396-43402, 2020b.
- MONTRESOR, L. C. *et al.* Short-term toxicity of ammonia, sodium Hydroxide and a commercial biocide to golden mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 92, p. 150-154, 2013.
- MORAIS, G. S. *et al.* Biological, biochemical and genotoxic effects of Sb in the midge *Chironomus sancticaroli* Strixino and Strixino, 1981 (Diptera: Chironomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 176, p. 196-203, 2019.
- MORAIS, G. S. *et al.* Genotoxic effect of Phenanthrene on *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). **Zoologia**, v. 31, n. 4, p. 323-328, 2014.
- MORAIS, G. S. *et al.* Genotoxic, metabolic, and biological responses of *Chironomus sancticaroli* Strixino & Strixino, 1981 (Diptera: Chironomidae) after exposure to BBP. *Science of the Total Environment*, v. 715, p. 136937, 2020.
- MOREIRA, L. B. *et al.* Biomarkers responses of the clam *Anomalocardia flexuosa* in sediment toxicity bioassays using dredged materials from a semi-arid coastal system. **Heliyon**, v. 6, n. 5, p. e04030, 2020.
- MOREIRA, L. B. *et al.* Impacts of dredging on biomarkers responses of caged bivalves in a semi-arid region (Ceará State, NE Brazil). **Marine Environmental Research**, v. 151, p. 104784, 2019.
- MUÑOZ-PENUELA, M. *et al.* Diclofenac and caffeine inhibit hepatic antioxidant enzymes in the freshwater fish *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology and Pharmacology**, v. 240, p. 108910, 2021.
- NARRA, M. R. *et al.* Insecticides induced stress response and recuperation in fish: biomarkers in blood and tissues related to oxidative damage. **Chemosphere**, v. 168, p. 350-357, 2017.
- NASCIMENTO, C. H. V. *et al.* Microbiota de *anomalocardia flexuosa* Linnaeus, 1767 (Bivalvia: Veneridae) como bioindicador da qualidade ambiental. *In: CONGRESSO NACIONAL DE BIÓLOGOS*, 8., 2018, João Pessoa. **Anais...João Pessoa**, 2018. p. 186-193.
- NILIN, J. *et al.* Biological responses of mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) and mercury contamination in an urban tropical estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 166, p. 112233, 2021.
- NUNES, S. M. *et al.* Impact of different crystalline forms of nTiO₂ on metabolism and arsenic toxicity in *Limnoperna fortunei*. **Science of the Total Environment**, v. 728, p. 138318, 2020.
- OLIVEIRA, C. *et al.* Use of melanin-pigmented cells as a new tool to evaluate effects of agrochemicals and other emerging contaminants in brazilian anurans. *In: LARRAMENDY, M. L. (ed.). Ecotoxicology and genotoxicology: non-traditional terrestrial models*. Londres: Royal Society of Chemistry, 2017. p. 125-142.
- OLIVEIRA, S. R. S. *et al.* Enzymatic and histological biomarkers in *ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda) in an industrial port on the north coast of Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 102, n. 6, p. 802-810, 2019.
- ORGANIZACION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPEMNT. OECD. Test nº 202: *Daphnia* sp., acute immobilisation test. *In: ORGANIZACION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPEMNT. OECD guidelines for the testing of chemicals, section 2: effects on biotic systems*. Paris: OECD, 2004.
- PALACIO-CORTÉS, A. M. *et al.* Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) effects on *Chironomus sancticaroli* larvae after short-term exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 139, p. 308-315, 2017.
- PARESCI, D. C. *et al.* First occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) in the Rio Tietê watershed (São Paulo State, Brazil). **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4 suppl., p. 1107-1114, 2008.
- PENHA, B. R. *et al.* Avaliação dos efeitos da toxicidade em planárias límnicas expostas a cádmio e cromo. **Revista Biociências**, v. 20, n. 2, p. 13-21, 2014.
- PÉREZ-IGLESIAS, J. M. *et al.* Biomarkers at different levels of organisation after atrazine formulation (SIPTRAN 500SC

- ®) exposure in *Rhinella schneideri* (Anura : Bufonidae) Neotropical tadpoles *. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 733-746, 2019.
- PESTANA, D. *et al.* Prospecção do molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) nos principais corpos hídricos do Estado do Paraná, Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 50, n. 34, p. 553-560, 2010.
- PINHEIRO, J. P. S. *et al.* Water temperature and acid pH influence the cytotoxic and genotoxic effects of aluminum in the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae). **Chemosphere**, v. 220, p. 266-274, 2019.
- PINHEIRO, J. P. S. *et al.* Aluminum, at an environmental concentration, associated with acidic pH and high water temperature, causes impairment of sperm quality in the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae). **Environmental Pollution**, v. 262, p. 114252, 2020.
- PINTO, M. R. *et al.* Effects of ammonia stress in the Amazon river shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 13-23, 2016.
- PRADO, C. C. A. *et al.* Ecotoxicological effect of ketoconazole on the antioxidant system of *Daphnia similis*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 246, p. 109080, 2021
- PREZA, D. D. L. C.; SMITH, D. H. Use of newborn *Girardia tigrina* (Girard, 1850) in acute toxicity tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 50, n. 1, p. 1-3, 2001.
- QUEIROZ, L. G. *et al.* Responses of aquatic nontarget organisms in experiments simulating a scenario of contamination by imidacloprid in a freshwater environment. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 80, p. 437-449, 2021.
- RAYMUNDO, L. B. *et al.* Sensitivity of tropical cladocerans to chlorpyrifos and other insecticides as compared to their temperate counterparts. **Chemosphere**, v. 220, p. 937-942, 2019.
- RIBEIRO, E. B. *et al.* Biomarkers (glutathione S-transferase and catalase) and microorganisms in soft tissues of *Crassostrea rhizophorae* to assess contamination of seafood in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 158, p. 11348, 2020.
- RICHARDI, V. S. *et al.* Effects of phenanthrene on different levels of biological organization in larvae of the sediment-dwelling invertebrate *Chironomus sancticarloi* (Diptera: Chironomidae). **Environmental Pollution**, v. 242, p. 277-287, 2018.
- RIETZLER, A. C *et al.* Sensitivity of tropical cladocerans and chironomids to toxicants and their potential for routine use in toxicity tests. *In: ARAÚJO, C. V. M.; SHINN, C. (eds.). Ecotoxicology in Latin America*. New York: Nova Science Publishers, 2017. p. 87-103.
- ROCHA, G. S. *et al.* Effect of copper contaminated food on the life cycle and secondary production of *Daphnia laevis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, p. 235-242, 2016.
- RUSSEL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The principles of humane experimental technique**. Baltimore: Johns HopKins, 1959.
- SANTOS, A.; HAYD, L.; ANGER, K. A new species of *Macrobrachium* Spence Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae), *M. pantanalense*, from the Pantanal, Brazil. **Zootaxa**, v. 3700, n. 4, p. 534, 2013.
- SANTOS, A. P. R. *et al.* A glyphosate-based herbicide induces histomorphological and protein expression changes in the liver of the female guppy *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, v. 168, p. 933-943, 2017.
- SCANLON, M.; MARSDEN, T.; MOORE, M. **Shoalwater bay training area pest fish management strategy**. Queensland: Queensland Government, 2011.
- SHEIMAN, I. M. *et al.* Regeneration processes in various species of planarians. **Russian Journal of Developmental Biology**, v. 41, n. 2, p. 88-93, 2010.
- SILVA, D. C. V. R. *et al.* Potential effects of triclosan on spatial displacement and local population decline of the fish *Poecilia reticulata* using a non-forced system. **Chemosphere**, v. 184, p. 329-336, 2017.

- SINDHI, V. *et al.* Potential applications of antioxidants - a review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 9, p. 828-835, 2013.
- SOARES, M. P. *et al.* Cypermethrin-based formulation Barrage ® induces histological changes in gills of the Pantanal endemic shrimp *Macrobrachium pantanalense*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 67, p. 66-72, 2019.
- SOARES, M. P. *et al.* Endemic shrimp *Macrobrachium pantanalense* as a test species to assess potential contamination by pesticides in Pantanal (Brazil). **Chemosphere**, v. 168, p. 1082-1092, 2017.
- SOUSA, D. L. H.; LEONEL, B. F.; FILHO, P. L. Distribuição espacial e temporal de anuros em Vereda, em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Oecologia Australis**, v. 23, n. 4, p. 1070-1082, 2019.
- SRIKANTH, K. *et al.* Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to toxic metals and metalloids in fish-a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 4, p. 2133-2149, 2013.
- SYVITSKI, J. P. M. *et al.* How important and different are tropical rivers? - an overview. **Geomorphology**, v. 227, p. 5-17, 2014.
- TALLARICO, L. F. *et al.* Developmental toxicity, acute toxicity and mutagenicity testing in freshwater snails *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) exposed to chromium and water samples. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 110, p. 208-215, 2014.
- TKACZYK, A. *et al.* *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: a review. **Science of The Total Environment**, v. 763, p. 143038, 2020.
- TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. *In*: INTERNATIONAL COLLOQUIUM, 1976, Luxembourg. **The Evaluation of Toxicological Data for the Protection of Public Health**. Amsterdam: Elsevier, 1977. p. 373-413, 1977.
- VASCONCELOS-TEIXEIRA, R. *et al.* Stress response, immunity, and organ mass in toads (*Rhinella diptycha*) living in metal-contaminated areas. **Biological Trace Element Research**, abr., p. 1-12, 2021.
- VO, T. M. C. *et al.* Responses of a tropical micro-crustacean, *Daphnia lumholtzi*, upon exposures to dissolved toxins and living cells of cyanobacteria. **Environmental Technology & Innovation**, v. 19, p. 100973, 2020.
- WANG, Z.; KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y. Comparison of temperate and tropical freshwater species' acute sensitivities to chemicals: an update. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 15, n. 3, p. 352-363, 2019.
- ZEIN, M. A. *et al.* Optical bioassay for measuring sublethal toxicity of insecticides in *Daphnia pulex*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 1, p. 144-151, 2014.
- ZHU, Q. *et al.* Photodegradation kinetics, mechanism and aquatic toxicity of deltamethrin, permethrin and dihaloacetylated heterocyclic pyrethroids. **Science of the Total Environment**, v. 749, p. 142106, 2020a.
- ZHU, Q. *et al.* Synthesis, insecticidal activity, resistance, photodegradation and toxicity of pyrethroids (a review). **Chemosphere**, v. 254, p. 126779, 2020b.

CAPÍTULO 15

UTILIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DE MICROALGAS EM DIFERENTES SISTEMAS

Gustavo Laranjeira de Melo-Santos

1- Universidade Estadual Paulista - UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, SP, Brasil

RESUMO

O cultivo de microalgas teve início na década de 1950 e era feita em lagos e lagoas naturais, muito antes das aplicações comerciais. As algas podem viver em sistemas de águas residuais, o que é uma vantagem, quando o objetivo for auxiliá-las na remoção de nutrientes dos esgotos. Desta maneira, empregar águas que não são adequadas para o consumo pode agregar um valor como “identidade verde” e retornar como um impacto positivo na economia e no meio ambiente, uma vez que essa água poderá gerar emprego e renda. As algas podem ser utilizadas para a produção de óleos, combustível, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, aminoácidos e peptídeos, vitaminas, polissacarídeos, compostos fenólicos e voláteis, pigmentos, carotenoides e ficobiliproteínas, entre outras possibilidades. Mas também são utilizadas como alimento humano e na nutrição animal, além de ser o elo primário da cadeia trófica. As microalgas também são utilizadas como indicadores da qualidade da água. O efeito adverso dos compostos químicos presentes nas águas sobre as populações de algas, pode afetar os níveis tróficos mais elevados, assim estas podem fornecer informações valiosas sobre os riscos que esses compostos podem representar para os ecossistemas aquáticos. Deste modo, as microalgas devem continuar sendo objeto de estudos, visando cada vez mais compreender suas relações com o ambiente e as demais espécies, somados aos estudos mais aplicados.

CONTEXTO HISTÓRICO

O cultivo de microalgas como uma produção comercial tecnológica teve início na década de 1950 (ONCEL, 2015). A produção em massa de microalgas era feita em lagos e lagoas naturais muito antes das aplicações comerciais. Após simular a ocorrência natural, sistemas artificiais de lagoas foram construídos para produzir microalgas de uma forma mais controlada. Dessa forma, iniciou-se a produção em locais onde terras não disponíveis também pudessem ser utilizadas para o cultivo (CHEW *et al.*, 2018).

Estima-se que em relação às microalgas, existam mais de 50.000 espécies e destas, mais de 100 espécies possam ser produzidas usando técnicas de bioprocessamento (SUGANYA *et al.*, 2015). Segundo Yu, *et al.* (2015), as microalgas ainda são um reservatório oculto para estudos de biotecnologia.

As microalgas são frequentemente consideradas fotoautótrofas obrigatórias que requerem luz para crescer. No entanto, várias microalgas são capazes de crescimento heterotrófico com um ou mais substratos orgânicos como sua única fonte de carbono e energia (MORALES-SÁNCHEZ; MARTINEZ-RODRIGUEZ; MARTINEZ, 2017).

Franceschini *et al.* (2009), explica que algumas espécies ocorrem amplamente em uma variedade de ambientes naturais e artificiais, incluindo água doce, salobra, marinha e águas residuais, bem como em solos. A maioria das microalgas pode ser encontrada em habitats de águas doces, salobras e salgadas, como lagos, rios, riachos, lagoas, estuários, áreas costeiras e abertas. Sudha *et al.* (2020) relatou que embora atualmente cerca de 30.000 espécies tenham sido identificadas e analisadas para realização de pesquisas na área de biotecnologia, possa haver cerca de 50.000 espécies ainda a serem descobertas.

Com base na grande quantidade de pesquisas desenvolvidas, o potencial de aplicação de microalgas à indústria de biocombustíveis aumentou nos últimos anos. Existem microalgas que podem acumular grandes quantidades de lipídios em suas células (LIM *et al.*, 2012), por exemplo. Os teores de lipídios dependem de cepas específicas e de suas condições de crescimento. A alga *Botryococcus braunii* pode produzir hidrocarbonetos em até 75% de seu peso seco. Esta espécie está sendo considerada uma possível fonte para a produção futura de biodiesel (PRASERTSIN; PEERAPORNPIAL, 2018), mas suas taxas de crescimento são consideradas não competitivas em comparação com muitas outras microalgas (KABIR *et al.*, 2020; SHARMA; SCHUHMAN; SCHENK, 2012).

Embora a produção de óleo de microalgas para a produção de biocombustíveis ainda não tenha atingido a viabilidade comercial, diversas pesquisas têm avaliado o potencial do uso de microalgas para a produção de biodiesel no Brasil e no mundo. Como exemplo, podemos citar os trabalhos desenvolvidos por Carneiro *et al.* (2017, 2021), que avaliaram o ciclo de vida de biocombustíveis de microalgas na Europa e no Brasil. Os autores demonstraram que em um cenário futuro, poderá ser possível utilizar microalgas como matéria-prima para extração de óleo para biodiesel, enquanto a biomassa restante pode ser usada como ração animal (DA MAIA *et al.*, 2020; DUONG *et al.* 2015).

Desta maneira, há que ser incentivados e intensificados os estudos para a produção de algas. A visão industrial da produção, da relação de mercado e do produto torna-se mais viável e mais evidente em larga escala, possibilitando a diminuição dos custos e a maior produção/proporção de vários itens advindos das microalgas, como alimentos, óleos, rações, mudanças climáticas, etc (KUSMAYADI *et al.*, 2021; HAO *et al.*, 2021; HERRERA *et al.*, 2021; ONCEL; SABANKAY, 2012).

CORRELAÇÃO: MICROALGAS E QUALIDADE D'ÁGUA

A qualidade da água tem sido assunto de vários estudos no Brasil e no mundo (DAWSON *et al.*, 2015; CHRISPIM; NOLASCO, 2017; ZHANG *et al.*, 2017; BIANCHI *et al.*, 2019; TORREMORELL *et al.*, 2021). Uma das discussões desses estudos é, principalmente a restrição desse recurso natural, devido ao aumento da densidade populacional e a descarga de efluentes domésticos e industriais em corpos d'água, resultando em eutrofização artificial.

Não há produção em escala comercial usando fontes de água doce para cultivo de microalgas. Este é um forte alvo para o incentivo de pesquisas com relação a produção de biocombustíveis feitos a partir de microalgas, em larga escala de forma sustentável e eficiente (DASSEY; HALL; THEEGALA, 2014). Desta maneira, a água é o insumo crítico no desenvolvimento da biotecnologia na produção sustentável de microalgas e, em alguns casos, requer processos de otimização (fluxos de águas residuais, fontes de água com alta carga de nutrientes orgânicos) para atingir as quantidades desejadas de produção (biomassa, biocombustível) (QUIROZ ARITA; PEEBLES; BRADLEY, 2015).

De acordo com Kose; Oncel (2017), as algas podem viver em sistemas de águas residuais, tornando-se uma vantagem utilizá-las para o tratamento de águas residuais industriais. Usar águas que não são adequadas para consumo pode agregar um valor, como “identidade verde”, e retornar como um impacto positivo na economia, uma vez que essa água não teria retorno rentável. A água residual contém alta carga orgânica. Macronutrientes como nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio e micronutrientes como zinco e boro, são essenciais para o cultivo de algas (KOSE; ONCEL, 2017). A utilização de microalgas no tratamento de águas residuais requer otimização em termos do fornecimento de nutrientes. As microalgas também podem ser usadas como um agente de biorremediação para ambientes aquáticos com um impacto social crescente. Nesse tipo de cultivo, elas são utilizadas para a remoção de metais, na remediação de águas residuais e mitigação de dióxido de carbono, além de outras utilizações. Para a produção de algas marinhas, a água do mar pode ser utilizada diretamente (MUSTAFA *et al.*, 2021).

Um dos maiores problemas enfrentados no cultivo de microalgas para obtenção de óleos é resultante do fato de que um dos métodos mais aplicados é o de lagoa aberta, que acaba facilitando a ocorrência de contaminações. Além disso, a produção fica estritamente dependente das condições climáticas, o que muitas vezes pode drasticamente retardar o crescimento da biomassa, que necessita de uma temperatura constante para uma produção rentável bem como iluminação adequada (NARALA *et al.*, 2016). No cultivo de microalgas, também existe a necessidade de se manter constantes outros parâmetros de processo, como pH, concentração dos nutrientes e do CO₂. Após ocorrer a extração dos lipídios, o óleo obtido possui um alto teor de água e ácidos graxos livres, o que impede o uso direto nos processos alcalinos tradicionais quando o foco é a produção de biodiesel (CHENA *et al.*, 2018).

Assim, é possível observar que a qualidade da água tem papel fundamental no crescimento da microalga (CRUZ *et al.*, 2019).

Como citado por Zhan *et al.* (2016), é possível observar que as águas de rios, lagos e até mares podem conter grandes quantidades de nutrientes, fósforo e nitratos, os quais podem promover o crescimento de microalgas, além da cor da água que também é um dos fatores limitantes. As microalgas podem servir para a purificação e remediação da água, juntamente com a redução dos gases de efeito estufa globais. As espécies que crescem nesses ambientes precisam sobreviver sob condições limitadas de luz, ao mesmo tempo em que são capazes de degradar os compostos responsáveis pela cor e, também suportar as concentrações de nutrientes muito altas (CHONG *et al.*, 2021). O principal problema enfrentado é que a maioria dos estudos conduzidos é simulada usando águas residuais sintéticas que realmente remove problemas como interferência de cor, sólidos suspensos e presença de outros organismos (DUONG *et al.*, 2012).

A importância das microalgas em relação a qualidade d'água torna-se incontestável quando observado a influência dessas no ambiente, tendo papel estruturador na cadeia trófica, quantidade de clorofila do ambiente, remoção e aumento de nutrientes disponíveis, alteração na turbidez do ambiente, surgimento de toxinas advindas de grupos algais específicos e outros fatores que devem ser correlacionados e trabalhados (SINGH; PATIDAR, 2020).

TIPOS DE MICROALGAS

Microalgas podem ser classificadas em procariontes fotossintéticos como cianobactérias e eucariontes, como microalgas clorofíceas, rodofíceas e diatomáceas. As microalgas podem ser cultivadas em várias condições tróficas como fototróficas, fotomixotróficas, foto-heterotróficas e algumas espécies são capazes de viver em condições heterotróficas (WOBBE; BASSI; KRUSE, 2015; CHEN, 1996). A

adaptabilidade a várias condições de cultivo é uma vantagem para produções flexíveis em grande escala e que gera a adaptabilidade das diferentes espécies de microalgas.

A biologia das microalgas é vital para decidir a estratégia de cultivo. Algumas espécies de microalgas como *Spirulina*, *Chlorella*, *Nannochloropsis sp.* e *Dunaliella* são fáceis de cultivar em condições de extremos (ZHU *et al.*, 2014).

Hoje, o mercado de combustível é impulsionado por produtos à base de carbono derivados de fontes fósseis à base de petróleo. No entanto, os biocombustíveis são vantajosos em comparação com as fontes de combustíveis de petróleo no que diz respeito à caracterização química. Os biocombustíveis de alga também são ricos em oxigênio e baixos em nitrogênio e enxofre, o que torna as características de combustão melhores com alta taxa de queima (GAI *et al.*, 2015). Isso também leva à neutralidade do CO₂ como outra vantagem para substituir as fontes de combustível convencionais existentes. As microalgas são consideradas uma fonte promissora de biocombustíveis como biodiesel, biometano, bioetanol e biohidrogênio, sem subestimar os possíveis desafios e limitações, porém é preciso saber e conhecer os diferentes tipos de microalgas e, como podem ser utilizadas e produzidas em escala global (ONCEL, 2013).

Chlorella e *Spirulina* são dois dos gêneros de microalgas com ampla utilização nas pesquisas relativas a produção de biodiesel. A *Chlorella* é unicelular e a *Spirulina* é uma cianobactéria filamentosa, multicelular. Ambas vivem em água doce e possuem compostos bioativos como proteínas, vitaminas, pigmentos, ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, esteróis e outros compostos que tornam essas microalgas muito interessantes do ponto de vista biológico (ANDRADE *et al.*, 2018).

As cianobactérias podem produzir uma grande diversidade de metabólitos secundários, cujas vias biossintéticas são conhecidas para uma série de compostos individuais ou classes de compostos, respectivamente (CHORUS; WELKER, 2021). Apenas uma pequena parte dos metabólitos conhecidos mostra efeitos tóxicos, mas essas cianotoxinas causaram inúmeros casos de envenenamento de animais de fazenda ou selvagens, que demonstram seu potencial tóxico (WOOD, 2016; SVIRČEV *et al.*, 2019) e sugerem que doenças e mortes de animais são eventos sentinela para riscos à saúde humana (HILBORN; BEASLEY, 2015).

Para que se obtenha maiores resultados com a utilização dessas e de outras microalgas, é necessário maiores estudos e compreensão dos sistemas de cultivo. Simionato *et al.* (2013) mostrou em seu estudo que os sistemas de cultivo permitem o monitoramento e controle dos principais parâmetros do processo de crescimento, como pH, disponibilidade de oxigênio, nutrientes, temperatura e luz. Esses feedbacks das unidades de controle podem fornecer informações valiosas que podem ser usadas no projeto de novos sistemas ou modificados que contornarão as possíveis limitações para aumentar as produtividades e variabilidade na utilização de diferentes microalgas como matéria prima em diversos setores.

IMPORTÂNCIA DAS MICROALGAS

As microalgas possuem extrema importância visto que são utilizadas de diversas formas, como: ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (HANDAYANIA; ARIYANTIB; HADIYANTO, 2012), compostos fenólicos (MACHU *et al.*, 2015), compostos voláteis (FRADIQUE *et al.*, 2013), esteróis (VOLKMAN, 2016), proteínas, aminoácidos e peptídeos (HAN; CHEE; CHO, 2015), vitaminas (JESKE; TRENTINI; BONTEMPO, 2011), polissacarídeos (CHAIKLAHAN *et al.*, 2013), pigmentos, carotenoides e ficobiliproteínas (MANIRAFASHA *et al.*, 2016), como alimento humano (VAZ *et al.*, 2016), na nutrição animal (SHI *et al.*, 2017) e na alimentação de peixes (SIPAÚBA-TAVARES *et al.*, 2019); além de ser o elo primário da cadeia trófica.

Um dos componentes que tem destaque também é a fucoxantina, que de acordo com Martin (2015), é um carotenoide presente nos cloroplastos de algas marrons. Quando ingerido, é metabolizado principalmente em fucoxantíol por enzimas digestivas do trato gastrointestinal. Foi demonstrado que esses compostos têm muitos efeitos benéficos à saúde, incluindo ações antimutagênicas, antidiabéticas, antiobesidade, anti-inflamatórias e antineoplásicas. As descobertas atuais sugerem que esses compostos podem ser eficazes para o tratamento e / ou prevenção do desenvolvimento e agressividade do câncer,

porém mais estudos devem ser feitos para saber ao certo os componentes de cada macroalga e microalga, e como é possível utilizá-las da melhor forma possível, agregando a saúde, alimentação e ao meio ambiente (MARTIN, 2015).

As microalgas apresentam também diversas vantagens sobre a produção de biocombustíveis de 1ª e 2ª geração, como rápido crescimento de biomassa, alta proporção de lípidos e alta produtividade por área explorada (SITEPU *et al.*, 2014; AMOAH *et al.*, 2017). A produção de biocombustíveis de microalgas pode reduzir a dependência de combustíveis fósseis e, além disso, contribuir para a mitigação do aumento de CO₂ atmosférico e mudanças climáticas relacionadas com o efeito estufa (SINGH; GU, 2010; YANG *et al.*, 2011). Em relação aos produtos, a biomassa de microalgas e cianobactérias possui considerável teor de óleo, que pode ser convertido em biodiesel. Este óleo da célula algal é um dos biocombustíveis mais populares, sendo biodegradável, não tóxico, com alto ponto de fulgor e menor emissão em comparação ao óleo diesel (KONG *et al.*, 2020; JACOB-LOPES, 2020).

Além disso as microalgas e cianobactérias, desempenham importante papel como produtores primários de sistemas aquáticos, são fundamentais para o equilíbrio ecológico, circulação de material, fluxo de energia, fixação de nitrogênio e degradação da poluição, além de sua sensibilidade aos poluentes levar diretamente à deterioração geral destes em muitos ecossistemas, tornando-as um instrumento importante em testes toxicológicos devido a seu curto ciclo de vida, rápida reprodução e alta sensibilidade, além de poderem ser usadas em diversas aplicações (LU *et al.*, 2021; RASMUSSEN *et al.*, 2015).

UTILIZAÇÃO DE MICROALGAS PARA TRATAMENTO DE EFLUENTES

O emprego de microalgas para o tratamento de efluentes já vem sendo utilizada a algum tempo no Brasil e no mundo. Lagoas contendo algas com alta taxa reprodutiva são investigadas desde 1959 (BRANCO, 1959; GOLDMAN, 1979; SOEDER, 1980; DE PAUW; MORALES; PERSOONE, 1984), mas geralmente não progrediram além da escala piloto devido aos problemas inerentes de controle de espécies, colheita e processamento das microalgas.

A remoção de nutrientes através de algas ocorre principalmente devido a assimilação na biomassa de algas. A quantidade de nitrogênio e fósforo que pode ser removida do efluente pelo mecanismo de assimilação das algas depende do conteúdo intercelular da biomassa das algas e da quantidade de biomassa que pode ser extraída diariamente como produtividade ou rendimento (HENSMAN, 1986; KANDADAI, 1992).

Uma das alternativas na utilização de culturas de algas (PRESCOTT, 1964) é a consideração para utilizá-las na purificação de resíduos e esgoto antes que estes sejam lançados em rios. O trabalho assim iniciado seria realizado em redes de abastecimentos, riachos, rios e outros, visando o poder de autopurificação das algas, que é também o produto destas.

Como exemplo, um caso ocorrido foi o mostrado por Wurtz (1964) em uma Estação Hidrobiológica no norte da França: a poluição do rio Somme pelos resíduos domésticos e industriais da cidade de Amiens. Entre a saída do rio Somme da cidade e um ponto alguns quilômetros a jusante, existia uma zona de poluição em que a água continha mais de 200.000 bactérias/ml, além de *Escherichia coli* e *Enterococcaceae*, que tornavam a água perigosa para o consumo. Não existiam algas na água. Então, após as decomposições comuns, as bactérias patogênicas começaram a desaparecer sendo substituídas por outras indesejáveis, como a filamentosa *Sphaerotilus natans* e a bactéria filamentosa de enxofre *Beggiatoa alba*, cuja presença mostra que a água continha vestígios de H₂S. Então, começou a haver crescimento algal após mudanças de alguns fatores físicos, químicos e biológicas da água do sistema, aumentando sua densidade rapidamente, havendo assim competição ao qual elas são dominantes. Após cerca de 10 dias, as algas realizaram seu trabalho e eliminaram as bactérias. Ao fazer mais e mais fotossíntese no riacho, elas purificaram a água, até mesmo produzindo supersaturação.

O controle das florações de algas e cianobactérias em ecossistemas aquáticos são comumente realizados através do emprego de algicidas à base de sulfato de cobre, havendo também outras inúmeras formas de controle (TSAI, 2016). O emprego de algicidas a base de sulfato de cobre tem contribuído com

aumento dos teores de cobre em ambientes aquáticos (OTOMO *et al.*, 2015; LEAL *et al.*, 2018). O cobre em excesso pode causar efeitos tóxicos e até mesmo a morte das espécies aquáticas (SAMPAIO; BOIJINK; RANTIN, 2013). Com intuito de compreender a ação e os efeitos nocivos que essas substâncias metálicas causam, e assim sinalizar o seu potencial risco e o seu mecanismo de ação sobre os organismos, ensaios ecotoxicológicos com organismos bioindicadores vêm sendo empregados em testes de rotina em monitoramentos ambientais (WARREN; HAACK, 2001). Através dos resultados desses ensaios é possível desenvolver ações preventivas e medidas mitigadoras para essas substâncias químicas (HE *et al.*, 2016).

Em 1960 o hidrobiologista Palmer em estudo em algumas represas de abastecimento em São Paulo sobre algas e suprimento de água, verificou que, em algumas regiões como na Billings, a maior parte do reservatório apresentava visíveis formações de *Microcystis* na superfície da água. Este estudo também mostrou que *Microcystis* eram encontradas nas estações de tratamento, que não eram feitos testes tão aplicados, e que eram comuns em períodos específicos. Palmer (1960) realizou uma série de sugestões com formas de controle como: aumento na quantidade de carvão aplicado para o controle de odor quando os testes indicarem necessário; coletas de amostras para análises no plâncton local periodicamente, uma vez que esse se mostra grande bioindicador de diversas alterações físicas e químicas na água do ambiente. Além disso, o hidrobiologista recomendou o uso de sulfato de cobre na água quando houver floração de cianobactérias em excesso. Di Bernardo (1995) no entanto, explica que o sulfato de cobre pode ser aplicado com o intuito de reduzir as populações de algas, porém é preciso se atentar para a toxicidade do cobre aos demais organismos vivos presentes nos ecossistemas aquático, razão pela qual a dosagem desse produto deve seguir padrões estabelecidos a partir de testes laboratoriais.

Apesar da preocupação com o crescimento excessivo de algas, o seu monitoramento pode ser utilizado para avaliar a presença de contaminantes nocivos à vida aquática e, com isso, possivelmente aos seres humanos. Como expresso por Dokulil (2003), a utilização das algas como bioindicadores da qualidade de água doce já era conhecido na metade do século XIX.

Ao fim do estudo, Palmer (1960) verificou que em algumas represas, como na Guarapiranga, a floração de algas ocorria apenas próximo à margem, enriquecidos pela drenagem de fazendas que possuem animais tais como porco, gado, cavalos e área agrícola, sendo relativamente livre de algas tóxicas e nocivas, não havendo em grande números cianobactérias.

As algas produzem oxigênio, de interesse não só para a respiração dos animais aquáticos, como também para a oxidação bioquímica de matéria orgânica, estabilização de esgotos, contribuindo muito para melhorar as características da água potável tornando-a, inclusive, mais palatável. Além disso é indiscutível o papel predominante que desempenham na depuração natural ou artificial de esgotos, especialmente no caso de tratamento nas chamadas “lagoas de oxidação” (BRANCO, 1962).

Segundo Branco (1962), se por qualquer razão, for eliminado um dos fatores que inibem ou elevam a concentração determinante ao crescimento de uma espécie, evidencia-se o aumento de número desta, com conseqüente quebra do equilíbrio biológico. Já a ascendência de um fator inibidor ou sua diminuição, pode determinar a extinção, ou uma significativa redução numérica dos organismos indesejáveis.

Com todo o pressuposto alguns pontos foram evidenciados por Fitzgerald; Skoog (1954) como o fato de que a utilização de microalgas para tratamento de efluentes pode ser aplicada, porém é necessário um controle e mesmo assim pode-se acabar por interferir na flora, fauna e nutrientes do local.

Kawai; Grieco; Jureidini (1982) também corroboraram com as afirmações explicando que no tratamento de efluentes com microalgas, deve ser acompanhado o crescimento e quantidade de biomassa regularmente, podendo ser utilizado também como remediador para controle desse crescimento algumas espécies de peixes micrófagos e zooplâncton que se alimentam da espécie em questão, devendo assim haver um estudo da espécie utilizada, e dos agentes remediadores para possíveis danos.

Branco (1964) retrata que as cianobactérias, podem chegar a atingir número muito elevados, como ocorre com *Microcystis*, podendo chegar a um milhão de células por centímetro cúbico em lagoas do Estado de São Paulo, produzindo, ao se decomporem, forte odor de esgoto prejudicial a qualidade estética da

lagoa aeróbica. Há referências ao fato de que, em algumas lagoas do sudoeste americano, a proliferação de cianobactérias acaba produzindo mau cheiro, sendo relacionadas com temperaturas muito elevadas. De modo geral, as análises sistemáticas de São Paulo confirmam os resultados encontrados na Califórnia, a não ser com relação às *Microcystis*, que atingem aqui números muito elevados, assim como as clorofíceas, *Chlorococum*, não mencionadas na Califórnia, devendo ser mais estudados esses “blooms” e como aproveitar essas microalgas para diminuição do cheiro e melhoria da qualidade da água advinda do despejo de esgotos (BRANCO, 1964). E nos dias atuais ainda se mantém estudos e observações sobre essas microalgas e o crescimento de outras, principalmente no caso de “blooms” de cianobactérias (SOPEZKI *et al.*, 2020)

Estudos experimentais de tratamento de esgoto têm sido feitos utilizando-se culturas de diferentes espécies de algas, a fim de verificar resultados com absorção de nutrientes, sais, purificação, benefícios, prejuízos, entre outros (AMENORFENYO; HUANG; ZHANG, 2019; ARASHIRO; FERRER; ROUSSEAU, 2019). Vários são os poluentes que prejudicam ativamente os ambientes aquáticos, como a descarga de excrementos humanos, a limpeza de pisos, garrafas, tanques e máquinas que também contribuem para a contaminação de corpos d'água (DOUBLA *et al.*, 2007). Estes efluentes contêm demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio, fósforo e outras altas cargas orgânicas que o tornam inadequados para muitos usos (DVOŘÁK *et al.*, 2014).

No Brasil, na represa Billings, em São Paulo, ocorre com frequência o fenômeno periódico de floração de cianobactérias dos gêneros *Microcystis* e *Dolichospermum*, que frequentemente causam transtornos e grandes despesas com o tratamento das suas águas, destinadas ao abastecimento público. Um estudo experimental em rede de tratamento de esgoto citado por Branco (1964) discute o forte odor que ali se desenvolvia, causado pela decomposição dessas algas, que exigia o emprego de carvão ativado e outros recursos dispendiosos. Onde o elevado teor mineral, era o principal responsável pelo mal cheiro no local, sendo causador dessas proliferações, devido ao despejo de esgotos parcialmente tratados que se realiza em um ponto da represa, distante cerca de 20 quilômetros do ponto de tomada para abastecimento.

Nos dias atuais ainda ocorre monitoramento frequente do reservatório Billings, e verifica-se a recorrência de florações de cianobactérias e a presença de cianotoxinas no reservatório. Algumas espécies de cianobactérias, como *Microcystis aeruginosa*, *Raphidiopsis raciborskii*, *Woronichinia naegeliana* foram dominantes durante a maior parte do período estudado e são relatadas na literatura como potenciais produtoras de microcistina e anatoxina-a (ALCANTARA *et al.*, 2021, SVIRČEV *et al.*, 2017; HOFF-RISSETI *et al.*, 2013; MOSCINI-CARLOS *et al.*, 2009). Por fim sugere-se ainda que haja frequentemente a detecção concomitante de genes produtores de cianotoxinas e espécies potencialmente produtoras de cianotoxinas destacadas com potencial da técnica de PCR como uma ferramenta (ZUPANČIČ *et al.*, 2021)

O processo biológico para desmineralização de efluentes lançados, vindo sendo bastante estudado, e, o principal inconveniente desse lançamento, contendo sais minerais, está relacionado a sua capacidade de provocar o desenvolvimento de algas que os utilizam em sua nutrição. Parece lógico que o processo que se apresenta, pelo menos como o mais natural, para a remoção desses sais, é o que consiste em criar condições que favorecem, ao máximo, o desenvolvimento das algas, em tanques especiais por onde passarão as águas do efluente tratado, antes de serem lançados. Admite-se que 80 a 90% dos fosfatos possam ser consumidos pelas algas e, portanto, eliminados do efluente (GUPTA *et al.*, 2021; BOGAN, 1961), desde que possa, de algum modo, retirar depois essas algas (WILKERSON, 2021).

Pode se pensar na utilização desses organismos, depois de mortos e removidos do efluente por decantação ou outro processo, como alimento para peixes, forragem para gado ou mesmo como adubo rico em fósforo, nitrogênio e outros elementos (LUDWIG *et al.*, 1951; SENA, 1963).

O processo de tratamento de efluentes com utilização de microalgas e macrófitas vem sendo estudado a bastante tempo (VEGAS *et al.*, 2021; KOTOULA *et al.*, 2020; PUTRI; HUNG, 2020; ZUGMAN, 1969; BRANCO, 1964). Zugman (1969) fala sobre a utilização das lagoas de estabilização, que são locais criados para tratar os efluentes, por processos biológicos e químicos, com o intuito de reter a matéria orgânica e fornecer água com qualidade para regressar ao meio ambiente. Para o autor há pelo menos 6

razões pelas quais o esgoto deve ser tratado antes de sua descarga em corpos d'água: razões de saúde, estética, aproveitamento da água, econômicas, proteção da vida aquática e depleção de oxigênio.

Romitelli (1983) utilizou de macrófitas para tratar efluentes, dizendo que o controle de nutrientes para evitar eutrofização é apoiado pelo conceito de fator limitante. Ainda diz que somente determinados fatores podem ser economicamente controlados, como nitrogênio, fósforo e potássio; e sugeriu a utilização da macrófita conhecida como aguapé, que atingiu o nível de remoção de fosfatos de 90%.

Dentre os sistemas para tratamento de esgotos que vêm sendo estudados a bastante tempo (ZUGMAN, 1969), a lagoa de estabilização apesar de algumas desvantagens, parece ser o sistema de tratamento mais econômico e mais fácil para a população menor que 5000 habitantes, ou mesmo para comunidades maiores, dependendo da disponibilidade de grandes áreas a baixo custo.

De acordo com McCallum (1963), uma das maiores desvantagens do sistema de lagoas de estabilização, é a presença de grandes quantidades de algas e nutrientes para estas, como nitrogênio e fósforo, presentes no efluente destas lagoas, fazendo muitas vezes com que outro problema seja instaurado, que é o aumento de microalgas com excesso de nutrientes (absorvidos), e insuficiência de informações para utilização dessas algas com sobrecarga.

Foi a partir dessas idéias que surgiram adaptações e aos poucos melhorando e criando-se novas possibilidades para descarte e utilização dessa algas, como o demonstrado por Kawai; Grieco; Jureidini (1982) posteriormente. Os autores discutem a tratabilidade de poluentes em lagoa fotossintética acelerada e aproveitamento do potencial proteico de algas. Discutem a possibilidade de se utilizar a microalgas como substituto parcial proteico em ração basal para aves e animais em geral, resultando em diminuição no preço da ração, e pouca diferença em relação ao crescimento animal com a substituição proteica implementada.

Em outro experimento realizado por Kawai; Neto; Jureidini (1985), ele utiliza sistema de policultura com crustáceos e microalgas, o que demonstrou boas perspectivas de utilização do sistema de policultura (algas e zooplâncton), tendo em vista a tratabilidade dos esgotos e aproveitamento dos microcrustáceos como fonte proteica. Necessitando porém de estudos mais aprofundados para utilização a longo prazo.

Já em pesquisas atuais é possível verificar os esforços para se utilizar microalgas em processo de fitorremediação de água em lago contaminado por esgoto usando culturas de microalgas juntamente com bactérias, como no caso de Verma *et al.* (2020), onde a cultura de microalgas obteve uma interação positiva apresentando melhor eficiência no tratamento de efluentes e produtividade de biomassa. A estabilidade dessa cultura de microalgas ainda foi confirmada pelo tratamento de águas residuais com sucesso em operações repetidas, mas a interação variou de espécie para espécie e dependeu das condições ambientais. A compreensão de tais interações pode levar a aplicações específicas para tratamento de águas residuais, biorremediação e geração de outros subprodutos. O uso de alguns tipos de reatores em biomassa de microalgas podem ter outros benefícios também, como remoção de patógenos e colheita eficaz de biomassa por meio de biofloculação. Um maior conhecimento no nível molecular na regulação das interações microalgas-bactérias com organismos sequenciados deve permitir estudar sistemas "algas-bactérias" específicos (AZIZI *et al.*, 2020).

Leong; Chang (2020) afirmam que culturas de microalgas devem ser estudadas tendo em vista seu uso para a remoção de metais específicos. O tratamento de alguns efluentes industriais poderia então ser implementado. No entanto, para não simplesmente deslocar o problema, será necessário encontrar soluções de engenharia para extrair facilmente esses metais da biomassa. O destino da biomassa deve ser considerado, especialmente quando está contaminada. Os processos a jusante devem, portanto, ser parte integrante de qualquer sistema de tratamento proposto (LIANG *et al.*, 2020).

EFEITOS NA REDE TRÓFICA

Os organismos aquáticos geram produtos químicos primários e secundários biologicamente ativos, que podem ser interessantes para as indústrias farmacêuticas e alimentícias (ROMANO *et al.*, 2017). Nesse contexto, têm chamado a atenção principalmente o grupo das cianobactérias (SOUZA *et al.*, 2019).

Embora as cianobactérias e suas toxinas possam exercer efeitos em todos os níveis taxonômicos, incluindo bactérias, algas e plantas, atenção especial tem sido dedicada aos efeitos em invertebrados aquáticos, principalmente no zooplâncton (MOUSTAKA-GOUNI; SOMMER, 2020; FUJIBAYASHI *et al.*, 2018). Vários estudos têm mostrado o acúmulo de cianotoxinas em algum nível trófico (Fig. 1), enquanto apenas alguns apresentam evidências de transferência de cianotoxinas advindas das cianobactérias através da cadeia alimentar (LEHMAN *et al.*, 2010; WATANABE; KAYA; TAKAMURA, 1992; OBERHAUS *et al.*, 2007; FACEY *et al.*, 2019; PHAM; UTSUMI, 2018; DROBAC *et al.*, 2016; WIJEWICKRAMA; MANAGE, 2019).

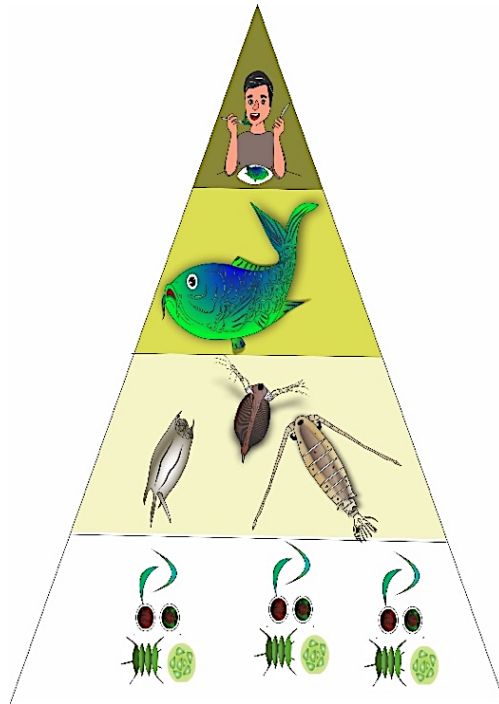


Figura 1: Pirâmide trófica de forma simplificada, sendo: base- Algas e cianobactérias; Região intermediária I- Zooplâncton e animais bentônicos; Região intermediária II- Peixes; Topo da pirâmide- ser humano e animais que consomem os alimentos acima do seu nível trófico.
 Fonte: Próprio autor

ABDEL-RAOUF; AL-HOMIDAN; IBRAHEEM (2012) demonstraram que o descarte de dejetos animais em geral poluem as águas superficiais e subterrâneas. Isso significa que muitas substâncias orgânicas e inorgânicas alteram a qualidade da água, que são as principais causas da eutrofização dos corpos d'água. Eles também provaram ser estimulantes poderosos para o crescimento de microalgas e, conseqüentemente, a formação de “proliferação de microalgas”. A proliferação dessas algas pode afetar a qualidade da água de várias maneiras direta e indiretamente.

No Brasil, as pesquisas exploraram perspectivas, cenários e avaliações técnico-econômicas de um sistema de produção de microalgas, incluindo discussões sobre o mercado interno, políticas e vantagens. Microalgas podem ser produzidas a partir dos resíduos das seguintes cadeias produtivas: produção de biocombustíveis a partir da cana-de-açúcar (KLEIN *et al.*, 2018b), cadeias de produção de suínos (RIBEIRO; RAIHER, 2013), produção de oleaginosas (ALVES *et al.*, 2017), entre outras (CREMONEZ *et al.*, 2015). A biomassa de microalgas pode então ser usada como biocombustível na produção de bioenergia, podendo ou não afetar a cadeia trófica do ambiente dependendo da forma utilizada.

Como citando anteriormente sobre o biodiesel, algumas publicações vem estudando a integração da produção de microalgas com instalações de biocombustíveis industriais, principalmente em usinas de cana-de-açúcar brasileiras que usam efluentes (por exemplo, vinhaça) como meio de cultura, o que

diminuiria os danos e prejuízos decorrentes da utilização de certos tipos de combustíveis, óleos, extrações, etc, que alteram a biota e podem destruir ou interferir na cadeia local (KLEIN; BONOMI; FILHO, 2018a).

UTILIZAÇÃO E BIOPRODUTOS

As microalgas constituem uma das matérias-primas sustentáveis mais promissoras para a fabricação de produtos derivados de plantas. Devido à sua facilidade de cultivo, altas taxas de crescimento, produtividade e possibilidade de se adaptarem as condições de crescimento para modificar sua composição, as microalgas têm ganhado grande interesse pelo seu uso em uma ampla gama de aplicações, como a produção de biocombustíveis e commodities alimentares (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; DRAAISMA *et al.*, 2013; KOSE; ONCEL, 2017).

Desde 1970, microalgas e macroalgas atraem pesquisadores e investidores como uma futura fonte para a produção de biocombustíveis como uma das mais novas alternativas que desperta interesse global (ONCEL, 2015).

A biomassa microalgal fóssil de diatomáceas foi usada por Alfred Nobel (1867) para a adsorção de nitroglicerina para criar dinamite. Mais de uma década atrás, este era o exemplo mais notável de uma aplicação de microalgas. A espirulina (*Arthrospira*) já era coletada e cultivada pela população asteca. Em comparação, a *Chlorella* é uma novata na biotecnologia das microalgas e em breve será seguida por outras espécies promissoras para substâncias valiosas (PULZ; GROSS, 2004).

A biotecnologia e os bioprocessos de microalgas sobre os aspectos, fundamentos e técnicas de modelos e leis vem sendo cada vez mais aplicada para combinar a ciência relacionada à fisiologia, morfologia, bioquímica e genética de algas (RAWAT *et al.*, 2013). Um determinado bioprocessos com o objetivo de produzir grandes quantidades de biomassa depende de uma compreensão conceitual da fisiologia das algas para projetar sistemas de cultivo em grande escala e fundamentos para projetar um bioprocessos (RAWAT *et al.*, 2013). A combinação de operações unitárias em bioprocessos para cultivar microalgas em grande proporção cria um caminho na biotecnologia que também é chamado de biotecnologia de algas, com uma natureza imatura que guarda inúmeras incógnitas, limitações e questões (BOROWITZKA, 2016).

A biotecnologia está intimamente relacionada com a produção biotecnológica, uso e aplicação dessas macro e microalgas. Macroalgas, representadas principalmente por algumas espécies de Rhodophyta e Phaeophyta, têm uma antiga tradição no uso de biomassa para a produção de ficolóides como ágar-ágar, alginatos ou carragenina. E através dessas macroalgas vieram posteriormente estudos que resultaram na descoberta de várias outras macro e microalgas com importante papel atualmente, tal como, ágar-ágar, *Spirulina*, astaxantina, *Chlorella*, cálcio de algas, e vários outros subprodutos alimentícios e da indústria de cosmético (PULZ; GROSS, 2004).

Um dos principais grupos de produtos derivados desses bioprocessos de microalgas que se tornou um divisor de águas na indústria de bioprodutos, são os biocombustíveis de algas, que podem ser considerados uma alternativa natural de base biológica, que ajudará a substituir os combustíveis fósseis. Assim, entender o metabolismo de algas no campo de bioprocessos pode ser considerado como um passo importante para ver as vantagens e desvantagens dos biocombustíveis algais (SLADE; BAUEN, 2013).

A ideia de usar microalgas como fontes renováveis não é nova, mas agora é levada a sério por causa do aumento do preço do petróleo e, mais significativamente, das questões emergentes sobre o aquecimento global e o efeito estufa que está associado à incineração de combustíveis fósseis. Assim, várias empresas estão envolvidas na produção de combustível de algas com o objetivo de diminuir o aquecimento global e o efeito estufa. O biodiesel é um combustível já fixado. Nos Estados Unidos, o biodiesel é produzido principalmente a partir da soja (RATLEDGE; COHEN, 2008). Outras origens do biodiesel comercial incluem óleo de canola, gordura animal, óleo de palma, óleo de milho (ERICKSON, 2006) e óleo de cozinha residual. As microalgas oferecem vários tipos diferentes de biocombustíveis renováveis (ARCIGNI *et al.*, 2019).

O imenso consumo de combustíveis fósseis para suprir a necessidade de energia tem causado problemas ambientais (ANDERSON, 2015) que finalmente forçam as sociedades a recuar e se esforçar para ver o estado atual de utilização de energia, prejudicial ao meio ambiente e as expectativas futuras, o que na verdade não é nada animador (MAITY *et al.*, 2014). Existem termos-chave para definir as fontes de energia renováveis como sustentáveis, verdes, amigas do ambiente, tecno-econômicas e inovadoras (ZHU *et al.*, 2014; SUGANYA *et al.*, 2016).

Projetar a produção de biocombustível em torno desses termos-chave descreve as características fundamentais de um novo produto de biocombustível e compete no mercado. Com a orientação observadas com os combustíveis à base de biomassa, os biocombustíveis à base de algas estão ganhando atenção como uma nova matéria-prima de energia renovável com um futuro visionário em termos de sustentabilidade, reprodução e natureza ambientalmente correta (ZHU, 2015).

Governos e empresas de energia em todo o mundo têm grande interesse na fixação de CO₂ por meio da biotecnologia. Na Noruega, Japão, Itália e Estados Unidos, por exemplo, estão em andamento esforços de pesquisa para encontrar processos economicamente viáveis para aplicações de microalgas na proteção ambiental e fixação de CO₂, além de começarem a inseri-la como alimento para diversos organismos (RAZZAK *et al.*, 2017).

Nowruz; Sarvari; Blanco (2020) fala que a biomassa microalgal e os extratos da biomassa vêm conquistando uma posição firme no mercado. Há uma demanda crescente por produtos à base de microalgas, que frequentemente estão intimamente relacionados à sua posição taxonômica e fisiologia. As cianobactérias produzem numerosas substâncias que exibem efeitos antioxidantes, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas induzidas pelo calor ou compostos virostáticos imunologicamente eficazes. Algumas dessas substâncias são até excretadas pelas algas.

Muller-Feuga; Moal; Kaas (2003) explica que em todo o mundo, pelo menos duas tendências crescem com relação às aplicações de microalgas: a produção cada vez mais sofisticada de algumas espécies de microalgas para atender às necessidades de alimentação de larvas de invertebrados e jovens vertebrados e a introdução de microalgas comumente produzidas em rações de peixes para obter resultados positivos e efeitos semelhantes aos da alimentação animal. Normalmente, a produção de biomassa de microalgas vivas como alimento inicial para larvas é realizada localmente. Equipamentos muito diferentes, principalmente tecnicamente inadequados, são usados a um alto custo (MULLER-FEUGA; MOAL; KAAS, 2003).

Após décadas de testes em que os animais foram alimentados com grandes quantidades de microalgas - até 50% da ração comum para explorar seu conteúdo de proteína (KUSMAYADI *et al.*, 2021; RICHMOND, 2004), doses menores foram investigadas, especialmente na Europa Oriental (MUSAFAROV; TAUBAYEV, 1974). Há evidências de que quantidades muito pequenas de biomassa microalgal, quase exclusivamente dos gêneros *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina*, podem afetar positivamente a fisiologia dos animais. Em particular, há observações de uma resposta imune não específica e um reforço do sistema imune dos animais (CANELLI *et al.*, 2020; BELAY, 1993).

Sabendo disso Sipaúba-Tavares *et al.* (2019) mostraram que peixes juvenis e adultos quando alimentado com ração e substituição parcial de lipídio e proteína por microalgas, demonstrou um maior crescimento dos peixes, provando que deve haver um maior incentivo, pois essa estratégia de substituição alimentar pode baratear o custo de produção e melhorar a qualidade de vida do animal em questão.

As algas em geral podem ser um componente chave para uma nova compreensão da energia renovável relacionada com a maquinaria de fotossíntese e de alimento animal, mas, infelizmente a falta de experiência na etapa comercial retém as melhorias nas produções em grande escala (HOU *et al.*, 2020). Assim, compreender os desafios técnicos para desenhar uma produção comercial em termos de biocombustíveis de algas, produção para desenvolvimento alimentar e técnicas que facilitem o rendimento torna-se crucial.

Apesar das inúmeras possibilidades de usos das microalgas, cabem aqui algumas considerações. Como apresentado, particularmente as cianobactérias têm a potencialidade em produzir compostos tóxicos, as cianotoxinas. Decorrente dos seus potenciais efeitos danosos aos organismos, o uso para consumo direto pelo homem de cianobactérias deveria ser evitado. Para fazê-lo há que ter comprovado a inexistência de cianotoxinas ou se presentes, devem se apresentar em concentrações abaixo dos níveis considerados potencialmente perigosos. Portanto, para o consumo de itens que tenham cianobactérias em sua composição, deverá existir normativa que defini padrões para o consumo, em termos de concentrações de cianotoxinas, do contrário, não é recomendado o seu uso.

FOTOSSÍNTESE, CLOROFILA E HETEROGENEIDADE ESPACIAL

Microalgas fotossintéticas são influenciadas pela luz, que afeta a composição da biomassa, principalmente em termos de ácidos graxos e antioxidantes (SCAGLIONI; BADIALE-FURLONG, 2017).

As atividades humanas, como o lançamento de esgoto, efluentes industriais e escoamento da agricultura, estão poluindo os ecossistemas de água doce devido à adição de excesso de matéria orgânica e nutrientes que leva à eutrofização (BHATERIA; JAIN, 2016; BARBERA *et al.*, 2017).

Tundisi; Matsumura-Tundisi (2015) expõe que a escassez de água de vários ambientes aquáticos e de outros sistemas podem afetar os aspectos básicos da segurança da água. A integração de aspectos quantitativos, qualitativos e sazonais da segurança da água é um fator crucial no planejamento de bacias hidrográficas, especialmente no que diz respeito a bacias de abastecimento de água. Por exemplo, no Brasil, a diminuição do volume de água doce nos rios, bem como o aumento da temperatura da água e concentrações elevadas de nutrientes, causam frequentemente florações de cianobactérias (VANDERLEI, 2021; TESTER; LITAKER; BERDALET, 2020; TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2015).

Para prevenir a floração de cianobactérias e restaurar os corpos d'água, há uma grande necessidade de explorar novas estratégias ecológicas e econômicas para remover nutrientes e alto conteúdo orgânico (demanda bioquímica de oxigênio - DBO) (VERMA *et al.*, 2020).

Griffin *et al.* (2018) explicam que observações espaciais da dinâmica do reservatório são especialmente valiosas para reservatórios geograficamente remotos ou de alta elevação, onde um monitoramento consistente e de longo prazo é um desafio, ou em regiões onde o custo de construção ou manutenção de uma rede hidrológica é extremamente caro. Assim, com essas análises espaciais pode-se compreender e desvendar os efeitos das mudanças ambientais nos ecossistemas de água doce mais facilmente e, auxiliar para modelar mudanças futuras, uma vez que o sistema pode estar intrinsecamente relacionado ao abastecimento de parte da população da região em questão (OGILVIE *et al.*, 2016; SINGH; KUMAR; SEITZ, 2015; DOXANI *et al.*, 2018).

O mapeamento da superfície terrestre e as técnicas de sensoriamento remoto possibilitam ter uma visão espacial e temporal dos parâmetros de qualidade da água, monitorar de maneira mais eficaz e eficiente os corpos de água e quantificar os problemas de qualidade da água (GHOLIZADEH; MELESSE; REDDI, 2016; KHATAMI; MOUNTRAKIS; STEHMAN, 2016; POMPÊO *et al.*, 2021).

Dörnhöfer; Oppelt (2016) descrevem que um dos problemas em reservatórios que pode ser rapidamente elucidado com a utilização do satélite é decorrente da frequência temporal de Chl-*a* e cianobactérias, que podem ser extremamente prejudiciais para o ambiente e para posterior consumo se encontradas em excesso, assim a utilização de técnicas de sensoriamento remoto pode auxiliar as estratégias tradicionais de amostragem para aumentar a informação sobre a variabilidade espacial no habitat. Diversos índices espectrais têm sido propostos especificamente para a avaliação do teor de clorofila em grandes ou pequenas quantidades (DARVISHZADEH *et al.*, 2019; CLEVERS; KOOISTRA; VAN DEN BRANDE, 2017; CAZZANIGA *et al.*, 2019; CUI; ZHOU, 2017; POMPÊO *et al.*, 2021).

O aumento na quantidade de nitrogênio e fósforo lançados num dado ecossistema pode ser considerado um dos fatores desencadeadores do crescimento algal, potencializando os efeitos da eutrofização artificial. Dessa forma, a qualidade da água de qualquer ambiente e, principalmente de

reservatórios à montante afeta a qualidade da água que chega ao último reservatório do sistema seja ele qual for (POMPÊO *et al.*, 2017).

As proliferações de algas, que são frequentemente induzidas por fenômenos de eutrofização em água doce, estão diretamente relacionadas às concentrações de clorofila sendo a clorofila o principal indicador do estado trófico porque atua como um elo entre a concentração de nutrientes, particularmente o fósforo e a produção de algas (LIM; CHOI, 2015). Altas concentrações de clorofila estão associadas a maiores valores de pH e concentrações de oxigênio dissolvido, devido à fotossíntese, além de altos valores de turbidez, uma vez que a biomassa fitoplanctônica pode ser responsável por reduzir a transparência no sistema (PIRES *et al.*, 2015).

Estes fatores são problemas cada vez mais comuns nos reservatórios brasileiros destinados ao abastecimento público, intensificando a degradação ambiental e trazendo como consequências a diminuição da disponibilidade de água e o comprometendo a sua qualidade (HOEK *et al.*, 2019; TORREMORELL *et al.*, 2021).

Observações diárias ou até múltiplas aquisições de dados por dia podem melhorar a visão de processos altamente dinâmicos em termos espaço-temporais, tais como as florações de cianobactérias (HESTIR *et al.*, 2015).

O sensoriamento remoto não pode fornecer informações sobre a toxicidade das cianobactérias (STUMPF *et al.*, 2016), mas um monitoramento por satélite pode apoiar os cuidados de saúde preventivos. Integração adicional de amostragem *in situ* pode cobrir períodos nublados, bem como a variabilidade vertical de Chl-a e, adicionalmente, fornecer informações detalhadas sobre o acúmulo de espécies fitoplanctônicas e, conseqüentemente, da biomassa de algas através das concentrações de Chl-a (DÖRNHÖFER *et al.*, 2018). Além disso, Pompêo *et al.* (2021) demonstraram que há viabilidade nas estimativas do número de células de cianobactérias por meio de imagens de satélites, empregando relações alométricas relacionando a concentração de clorofila a com a densidade de cianobactérias.

Mouw *et al.* (2017) explica como desenvolver e implementar leituras de densidades de fitoplâncton por satélites, e conseqüentemente de clorofila-a, porém não fornece recomendações diretas para aplicações específicas, apenas fornece algoritmos que ajudam os usuários a selecionar com mais confiança as bandas para um determinado aplicativo e iniciar futuras investigações sobre esses aspectos para determinados locais no mundo.

Alguns satélites como o Sentinel-2 vem sendo bastante utilizado na Europa e outros países para quantificar as concentrações de Chl-a de ecossistemas aquáticos. No Brasil os estudos vem sendo feitos apenas para ambientes terrestres (INOUE *et al.*, 2016; ELHAG *et al.*, 2019; POMPÊO *et al.*, 2021), já para ambientes aquáticos ainda é necessário gerar e validar as equações, pois o hemisfério é diferente, o clima, relevo, altitudes, temperatura, entre outras questões que alteram o resultado, necessitando assim de um estudo para haver essa reformulação e, assim, facilitar o cálculo das concentrações de Chl-a em ambientes aquáticos no Brasil. Assim é possível verificar a heterogeneidade espacial, que permite melhor compreensão de aspectos da modelagem, estrutura e dinâmica dos ecossistemas aquáticos. Facilitando verificar locais mais impactados ou eutrofizados, melhorando assim e direcionando o monitoramento e manejo para as áreas mais críticas.

USO DE MICROALGAS EM ENSAIOS TOXICOLÓGICOS

As medidas de controle da poluição foram, nas últimas décadas, focadas principalmente em poluentes convencionais, como materiais que demandam oxigênio e sólidos em suspensão. No entanto, a atenção recente tem se concentrado no controle de substâncias tóxicas, especialmente nas descargas de estações de tratamento de esgoto. A detecção desses compostos tóxicos em amostras ambientais, e particularmente na água, é de crescente importância para a indústria de água e autoridades regulatórias (LIN *et al.*, 2020).

Isso ocorre por causa da quantidade alarmante de tóxicos que os sistemas de tratamento de águas agora estão sendo obrigados a manipular e tratar com eficácia (SCHWARZENBACH *et al.*, 2010).

Para estabelecer tais padrões de controle e toxicidade dos ambientes, Rand (2020) afirma que organismos vivos respondem aos componentes dos resíduos químicos que induzem uma resposta biológica e integram os efeitos dos impactos químicos e das condições ambientais experimentados durante o seu crescimento. Portanto, os bioensaios podem fornecer medidas mais diretas e apropriadas sobre o nível de misturas de toxinas do que as análises químicas e físicas por si só, que não são suficientes para avaliar os efeitos potenciais na biota aquática. As comunidades de plantas e animais são diversas em composição e sensibilidade aos compostos potencialmente tóxicos. Assim, uma bateria de bioensaios em vez de ensaio de uma única espécie é geralmente usada na avaliação de toxicidade para representar a gama de sensibilidades de organismos no campo (RAND, 2020).

Os testes de toxicidade são ensaios importantes que dependem da medição da resposta de organismos expostos a contaminantes em relação a um controle. Testes de bioensaios têm sido usados para estabelecer os níveis de toxicidade de compostos para organismos aquáticos. Muitos tipos de bioensaios estão disponíveis e os testes podem ser realizados em laboratório ou em campo e monitorados manual ou automaticamente (SMITH *et al.*, 2010).

Os ecossistemas aquáticos contêm numerosos organismos aquáticos e desempenham papéis essenciais na manutenção do ciclo de nutrientes e da diversidade biológica (LEEBENS-MACK *et al.*, 2019; SEYMOUR *et al.*, 2017). Entre eles, as microalgas e as cianobactérias, como importantes produtores primários de sistemas aquáticos, são de fundamental importância para a produção primária, equilíbrio ecológico, circulação de material, fluxo de energia, fixação de nitrogênio e degradação da poluição, e sua sensibilidade aos poluentes diretamente leva a deteriorações gerais em muitos ecossistemas (RAMAKRISHNAN *et al.*, 2010; MACKEN; BYRNE; THOMAS, 2012).

O efeito adverso dos produtos químicos nas populações de algas pode afetar os níveis tróficos mais elevados, assim estas podem fornecer informações valiosas sobre os riscos que os produtos químicos podem representar para os ecossistemas aquáticos (ERTÜRK; SAÇAN, 2012).

As microalgas e cianobactérias também têm potencial para transferir metais e outros poluentes ao longo da rede trófica aquática (QUIGG *et al.*, 2013). A pesquisa aprofundada desses organismos destaca-se, pois suas interações com diferentes poluentes, pode fornecer informações sobre como os poluentes mudam o desenvolvimento dos organismos, bem como relativo aos impactos causados ao meio ambiente. Esta é a razão pela qual eles são frequentemente usados como espécies modelo em estudos de toxicologia (DAHMS; HAGIWARA; LEE, 2011; KUMAR *et al.*, 2014).

Uma aplicação até então pouco explorada para algas é o teste de ecotoxicidade. Protocolos que empregam células de algas livres têm sido amplamente usados para avaliação de toxicidade, particularmente mais usadas para metais e herbicidas (TURBAK; OLSON; MCFETERS, 1986). Os sistemas podem ainda expandir a utilidade dos ensaios de toxicidade de algas para outros organismos também. Por exemplo, uma alga de teste pode ser encapsulada e exposta a efluentes tóxicos sob condições de campo, e então recuperada para análise laboratorial de crescimento ou outras características fisiológicas (TAMPONNET *et al.*, 1985).

Investigações usando diferentes espécies de algas como organismos teste demonstraram que as algas variam muito em sua resposta a produtos químicos, e existem espécies “chaves” que demonstram ser mais impactadas por metais e contaminantes específicos (FU *et al.*, 2017; BOZEMAN; KOOPMAN; BITTON, 1989).

Além disso, as microalgas são um dos indicadores ecológicos ideais para avaliar a qualidade da água e a ecotoxicidade de diversos poluentes devido ao seu curto tempo de geração e alta sensibilidade à poluição aquática (SANCHEZ *et al.*, 2015).

Contaminantes emergentes (ECs) ou "produtos químicos de preocupação emergente" estão atraindo um interesse considerável devido ao aumento da consciência de seus riscos para a saúde humana e a biota aquática (BILAL *et al.*, 2019; ESCAPA *et al.*, 2016). A exposição de organismos a níveis tóxicos de poluentes pode causar doenças, contaminação da carne de peixes, morte de peixes e, além disso, modificar as taxas de processos biológicos que ocorrem no meio aquático. Isso inclui a inibição de longo prazo do crescimento, reprodução e migração (AUTHMAN *et al.*, 2015).

A utilização destes teste ainda vêm sofrendo melhorias e adaptações, além de fornecerem resultados úteis na avaliação dos riscos à saúde humana e à vida aquática decorrentes da liberação de contaminantes nas águas superficiais. Visto que não é possível determinar a toxicidade específica de cada um dos compostos tóxicos em efluentes complexos, o teste de toxicidade do efluente total usando organismos aquáticos é um meio direto, econômico e relevante de determinar a toxicidade do efluente. Os ensaios biológicos também podem monitorar poluentes não detectados pela faixa restrita de sensores que podem ser operados na estação de monitoramento (BRACK *et al.*, 2017).

A exposição e os efeitos tóxicos de contaminantes também podem ser medidos pelas respostas bioquímicas dos organismos que são designados como biomarcadores moleculares. As aplicações de tais testes diagnósticos e prognósticos baseados no uso de biomarcadores moleculares para monitoramento da poluição estão aumentando (GOUVEIA *et al.*, 2019; TOTHILL; TURNER, 1996).

Muitos pesticidas são persistentes em graus variáveis e seu uso contínuo e crescente representa uma ameaça potencial às comunidades aquática por meio da exposição crônica, mesmo quando as concentrações ambientais de produtos químicos individuais não são agudamente tóxicas (MCCLELLAN; ALTENBURGER; SCHMITT-JANSEN, 2008).

Os efeitos dos antibióticos nas microalgas são atribuídos principalmente à inibição e interferência das vias envolvidas na síntese protéica e no metabolismo fotossintético no cloroplasto (BISHOP, 1974; SENDRA *et al.*, 2018).

Nesse ínterim, as espécies de algas variam amplamente em sua resposta aos pesticidas com correlação a cada espécie e suas características como observado em estudos antigos como de Boyle (1984); porém nos dias atuais já sabendo como a grande maioria das algas reage a cada componente químico, estudos mais eficazes e específicos direcionados para o componente utilizando espécies já determinadas, tem se mostrado bem eficaz (LUO *et al.*, 2020). As algas, sem sistema nervoso, parecem ser mais sensíveis do que a grande maioria dos peixes usados em testes para inseticidas (YEH; CHEN, 2006). Há um grande número de evidências mostrando que as algas são mais sensíveis a produtos químicos do que os peixes (HUANG; WANG; CHEN, 2007; KAHRU; DUBOURGUIER, 2010).

Os tratamentos à base de algas são considerados mais eficientes também na remoção de nutrientes e metais de águas residuais em comparação com o tratamento químico (OLGUIN, 2003). As microalgas têm recebido muita atenção na última década devido à sua capacidade de remoção de nutrientes (nitrogênio, fósforo e carbono) e metais tóxicos de águas residuais (AGÜERA; PLAZA-BOLAÑOS; FERNÁNDEZ, 2020; ESCAPA *et al.*, 2019; NGUYEN *et al.*, 2020).

Enquanto isso, o meio ambiente de água doce é a fonte de água potável para os humanos. A alocação de recursos hídricos em regiões com demandas crescentes de água e declínios na qualidade e disponibilidade da água é um desafio social significativo. Portanto, proteger esses ambientes da poluição e avaliações toxicológicas representam uma ferramenta importante a esse respeito (BEKTURGANOV *et al.*, 2016).

No entanto, devido a ser um sistema aberto o ambiente aquático, ele captura todos os tipos de poluentes de muitas fontes. Por exemplo, poluentes podem fluir do solo para a água superficial através do escoamento superficial (CUEVAS; MARTINS; COSTA, 2018). Estudos têm mostrado que altas concentrações de pesticidas nas águas superficiais ocorrem frequentemente após chuvas intensas (RASMUSSEN *et al.*, 2015).

Ambientes abióticos podem alterar os efeitos biológicos dos poluentes e o estado de crescimento das microalgas e cianobactérias (ZHANG *et al.*, 2021). Van Regenmortel; De Schamphelaere (2018) relataram que diferentes condições químicas da água podem levar a mudanças na ação combinada dos metais sobre as algas.

O comportamento humano afeta os processos naturais dos sistemas ecológicos por meio de forças físicas e químicas e interfere na biodiversidade. Mudanças na dinâmica de microalgas e cianobactérias em ecossistemas podem ser indicadores úteis do impacto e extensão da poluição. No entanto, as informações sobre a ecotoxicologia de vários poluentes aquáticos em microalgas e cianobactérias ainda são fragmentárias (LU *et al.*, 2021).

Lu *et al.* (2021) afirmam que as características dos poluentes determinam seus mecanismos toxicológicos em microalgas e cianobactérias, que geralmente podem ser divididos em danos físicos e citotoxicidade, e tudo varia de acordo com o poluente depositado no ambiente.

Portanto, estudos adicionais sobre os efeitos tóxicos de poluentes em microrganismos aquáticos são necessários para identificar continuamente os poluentes e compreender os riscos ecológicos combinados de vários poluentes. Isso equivale a mudar de uma perspectiva reducionista para uma perspectiva holística para entender os poluentes e a saúde do ecossistema de água doce, permitindo-nos prever melhor os riscos dessas substâncias para a saúde do ecossistema.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As microalgas são e devem continuar sendo objeto de estudos cada vez mais aplicados pois, sua relação com a cadeia ecológica demonstra sua importância no ambiente aquático, além de estarem entre as maiores produtoras de oxigênio.

Além disso, as microalgas apresentam propriedades específicas que não são encontradas em qualquer organismo e possuem uma vasta aplicabilidade industrial (alimentos, shampoos, bebidas, remédios, produção de bioetanol, testes de toxicidade, alimentação de toda a cadeia alimentar).

Em muitas aplicações vem sendo bem recebidas e fornecendo bons resultados, como é o caso da utilização das microalgas em testes toxicológicos, onde de acordo com a espécie de microalga no ambiente é possível avaliar rapidamente se o ambiente possui alguma divergência baseado nos pressupostos estabelecidos em cada região. Em laboratório também mostram grande eficácia pois as microalgas são resistentes a diversos impactos, entre eles os de aparecimento de metais em quantidades que extrapolam o permitido.

Com o aumento do descarte de metais e dejetos em rios, represas, açudes, mares, e ambiente aquático em geral, as microalgas vem sendo utilizadas como parâmetro de avaliação, onde os testes podem ser feitos utilizando diferentes concentrações, e os resultados obtidos demonstram em qual grau o ambiente será afetado, ficando notório a necessidade de estudos, utilização de diferentes espécies para determinar a sensibilidade destas no ambiente e a possível alteração no ambiente, para o quanto antes conseguir solucionar os problemas de forma mais eficaz e menos impactante.

Contudo as microalgas demonstram importância e aplicabilidade em diversas esferas, pois, demonstram ser uma fonte alternativa com resposta rápida a problemas ambientais, desde que haja controle para não se tornar um dos problemas; além de desempenharem também papel fundamental na cadeia ecológica, em produção de combustíveis, várias espécies também vem sendo utilizadas em tratamento de efluentes, possuem propriedades de grande valia na indústria de cosméticos e alimentícios, produzem infinidades de bioprodutos oriundos de um bom crescimento e utilização adequada, além de serem cada vez mais determinantes em testes toxicológico e análises ambientais espaciais para determinação da qualidade d'água.

Assim há uma grande necessidade de estudos e análises do maior número de espécies possíveis de microalgas, para aplicações de forma correta e utilização destas onde possam ser mais eficazes e, de forma que possam melhorar a qualidade de vida e ambiental.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, p. 257-275, 2012.
- AGÜERA, A.; PLAZA-BOLAÑOS, P.; FERNÁNDEZ, F. A. Removal of contaminants of emerging concern by microalgae-based wastewater treatments and related analytical techniques. *In*: VARJANI, S. *et al.* **Current developments in biotechnology and bioengineering: emerging organic micro-pollutants**. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 503-525.
- ALCANTARA, E. *et al.* A satellite-based investigation into the algae bloom variability in large water supply urban reservoirs during COVID-19 lockdown. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, v. 23, 100555, 2021.
- ALVES, C. M. *et al.* Techno-economic assessment of biorefinery technologies for aviation biofuels supply chains in Brazil. **Biofuels Bioprod. Biorefining**, v. 11, n. 1, p. 67-91, 2017.
- AMENORFENYO, D. K.; HUANG, X.; ZHANG, Y. Microalgae brewery wastewater treatment: potentials, benefits and the challenges. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 16, n. 11, p. 1910, 2019.
- AMOA, J. *et al.* Conversion of *Chlamydomonas* sp. JSC4 lipids to biodiesel using *Fusarium heterosporum* lipase-expressing *Aspergillus oryzae* whole-cell as biocatalyst. **Algal Res.**, v. 28, p. 16-23, 2017.
- ANDERSON, L. G. Effects of using renewable fuels on vehicle emissions. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 47, p. 162-172, 2015.
- ANDRADE, L. *et al.* *Chlorella* and *Spirulina* Microalgae as sources of functional foods, nutraceuticals, and food supplements; an overview. **MOJ Food Processing & Technology**, v. 6, n. 1, p. 45-58, 2018.
- ARASHIRO, L. T.; FERRER, I.; ROUSSEAU, D. P. L. The effect of primary treatment of wastewater in high rate algal pond systems: Biomass and bioenergy recovery. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 27-36, 2019.
- ARCIGNI, F. *et al.* Harmonized and systematic assessment of microalgae energy potential for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 101, p. 614-624, 2019.
- AUTHMAN, M. M. N. *et al.* Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. **Journal of Aquaculture Research & Development**, v. 6, n. 4, p. 1-13, 2015.
- AZIZI, K. *et al.* On the pyrolysis of different microalgae species in a conical spouted bed reactor: bio-fuel yields and characterization. **Bioresource Technology**, v. 311, 123561, 2020.
- BARBERA, E. *et al.* Recycling minerals in microalgae cultivation through a combined flash hydrolysis–precipitation process. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 1, p. 929-935, 2017.
- BEKTURGANOV, Z. *et al.* Water related health problems in central Asia—a review. **Water**, v. 8, n. 6, p. 219, 2016.
- BELAY, A. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina platensis*. **J. Appl. Phycol.**, v. 5, p. 235-240, 1993.
- BHATERIA, R.; JAIN, D. Water quality assessment of lake water: a review. **Sustainable Water Resources Management**, v. 2, n. 2, p. 161-173, 2016.
- BIANCHI, E. *et al.* Water quality monitoring of the Sinos River Basin, Southern Brazil, using physicochemical and microbiological analysis and biomarkers in laboratory-exposed fish. **Ecohydrology & Hydrobiology**, v. 19, n. 3, p. 328-338, 2019.
- BILAL, M. *et al.* Emerging contaminants of high concern and their enzyme-assisted biodegradation—a review, **Environ. Int.**, v. 124, p. 336-353, 2019.

- BISHOP, D. The effect of polyene antibiotics on photosynthetic electron transfer. **J. Exp. Bot.**, v. 25, p. 491-502, 1974.
- BOGAN, R. H. Removal os sewage nutrients by algae. **Public Health Reports**, v. 76, n. 4, p. 301-308, 1961.
- BOROWITZKA, M. A. Algal physiology and large-scale outdoor cultures of microalgae. In: BOROWITZKA, M. A.; BEARDALL, J.; RAVEN, J. A. (eds.) **The physiology of microalgae**. Cham: Springer, 2016. p. 601-652, 2016.
- BOYLE, T. P. The effect of environmental contaminants on aquatic algae. In: SHUBERT, L. E. (ed.). **Algae as ecological indicators**. Cambridge: Academic Press, 1984. p. 237-256.
- BOZEMAN, J.; KOOPMAN, B.; BITTON, G. Toxicity testing using immobilized algae. **Aquatic Toxicology**, v. 14, n. 4, p. 345-352, 1989.
- BRACK, W. *et al.* Rumo à revisão da Diretiva Quadro da Água da União Europeia: recomendações para uma avaliação e gestão mais eficientes da contaminação química nos recursos hídricos superficiais europeus. **Ciência do Meio Ambiente Total**, v. 576, p. 720-737, 2017.
- BRANCO, S. M. Biologia do tratamento de esgotos. **Revista DAE**, v. 55, p. 99-115, 1964.
- BRANCO, S. M. Algas tóxicas: controle das toxinas em águas de abastecimento. **Revista DAE**, v. 35, p. 47-53, 1959
- BRANCO, S. M. Controle preventivo e corretivo de algas em águas de abastecimento. **Revista DAE**, v. 45, p. 61-75, 1962.
- CANELLI, G. *et al.* Biochemical and nutritional evaluation of Chlorella and Auxenochlorella biomasses relevant for food application. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, p. 168, 2020.
- CARNEIRO, M. L. N. M. *et al.* Potential of biofuels from algae: comparison with fossil fuels, ethanol and biodiesel in Europe and Brazil through life cycle assessment (LCA). **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 73, p. 632-653, 2017.
- CAZZANIGA, I. *et al.* Comparison of Sentinel-3-OLCI and Sentinel-2-MSI derived Chlorophyll-*a* maps for two large Italian lakes. **Remote Sensing Letters**, v. 10, n. 10, p. 978-987, 2019.
- CHAIKLAHAN, R. *et al.* Polysaccharide extraction from *Spirulina sp.* And its antioxidante capacity. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 58, p. 73-78, 2013.
- CHEN F. High cell density culture of microalgae in heterotrophic growth. **Trends in Biotechnology**, v. 14, n. 11, p. 421-426, 1996.
- CHENA, J. *et al.* The potential of microalgae in biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 90, p. 336-346, 2018.
- CHEW, K. W. *et al.* Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: a review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 91, p. 332-344, 2018.
- CHONG, J. W. R. *et al.* Recent advances on food waste pretreatment technology via microalgae for source of polyhydroxyalkanoates. **Journal of Environmental Management**, v. 293, 112782, 2021.
- CHORUS, I.; WELKER, M. (eds.). **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. 2. ed. Genebra: CRC Press/WHO, 2021.
- CHRISPIM, M. C.; NOLASCO, M. A. Greywater treatment using a moving bed biofilm reactor at a university campus in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v. 142, n. 1, p. 290-296, 2017.
- CLEVERS, J. G. P. W.; KOOISTRA, L.; VAN DEN BRANDE, M. M. M. Using sentinel-2 data for retrieving LAI and leaf and canopy chlorophyll content of a potato crop. **Remote Sensing**, v. 9, n. 5, 2017.
- CREMONEZ, P. *et al.* Biodiesel production in Brazil: current scenario and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 415-428, 2015.

- CRUZ, M. A. S. *et al.* Spatial and seasonal variability of the water quality characteristics of a river in Northeast Brazil. **Environmental Earth Sciences**, v. 78, p. 68, 2019.
- CUEVAS, N.; MARTINS, M.; COSTA, P. M. Risk assessment of pesticides in estuaries: a review addressing the persistence of an old problem in complex environments. **Ecotoxicology**, v. 27, p. 1008-1018, 2018.
- CUI, S.; ZHOU, K. A comparison of the predictive potential of various vegetation indices for leaf chlorophyll content. **Earth Science Informatics**, v. 10, p. 169-181, 2017.
- DA MAIA, J. *et al.* Microalgae starch: a promising raw material for the bioethanol production. **International Journal of Biological Macromolecules. Part B**, v. 165, p. 27-39-2749, 2020.
- DAHMS, H. U.; HAGIWARA, A.; LEE, J. S. Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic studies with rotifers. **Aquatic toxicology**, v. 101, n. 1, p. 1-12, 2011.
- DARVISHZADEH, R. *et al.* Mapping leaf chlorophyll content from Sentinel-2 and RapidEye data in spruce stands using the invertible forest reflectance model. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 79, p. 58-70, 2019.
- DASSEY, A. J.; HALL, S. G.; THEEGALA, C. S. An analysis of energy consumption for algal biodiesel production: comparing the literature with current estimates. **Algal Research**, v. 4, p. 89-95, 2014.
- DAWSON, D. *et al.* Long-term trends in reservoir water quality and quantity in two major river basins of the southern Great Plains. **Lake and Reservoir Management**, v. 31, n. 3, p. 254-279, 2015.
- DE PAUW, N.; MORALES, J.; PERSOONE, G. Mass culture of microalgae in aquaculture systems: progress and constraints. **Hydrobiologia**, v. 116, n. 1, p. 121-34, 1984.
- DI BERNARDO, L. **Algas e suas influências na qualidade das águas e nas tecnologias de tratamento**. Rio de Janeiro: ABES, 1995. 140 p.
- DOKULIL, M. T. Algae as ecological bio-indicators. **Trace Metals and other Contaminants in the Environment**, v. 6, p. 285-327, 2003.
- DÖRNHÖFER, K. *et al.* Multi-sensor satellite and in situ monitoring of phytoplankton development in a eutrophic-mesotrophic lake. **Science of the Total Environment**, v. 612, p. 1200-1214, 2018.
- DÖRNHÖFER, K.; OPPELT, N. Remote sensing for lake research and monitoring – recent advances. **Ecological Indicators**, v. 64, p. 105-122, 2016.
- DOUBLA, A. *et al.* Organic pollutants abatement and biodecontamination of brewery effluents by a non-thermal quenched plasma at atmospheric pressure. **Chemosphere**, v. 69, p. 332-337, 2007.
- DOXANI, G. *et al.* Atmospheric correction inter-comparison exercise. **Remote Sensing**, v. 10, n. 2, p. 352, 2018.
- DRAAISMA, R. B. *et al.* Food commodities from microalgae. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 169-177, 2013.
- DROBAC, D. *et al.* Cyanobacteria and cyanotoxins in fishponds and their effect on fish tissue. **Harmful Algae**, v. 55, p. 66-76, 2016.
- DUONG, V. T. *et al.* High Protein- and high lipid-producing microalgae from Northern Australia as potential feedstock for animal feed and biodiesel. **Front. Bioeng. Biotechnol.**, v. 3, p. 53, 2015.
- DUONG, V. T. *et al.* Microalgae isolation and selection for prospective biodiesel production. **Energies**, v. 5, n. 6, p. 1835-1849, 2012.
- DVOŘÁK, L. *et al.* Removal of aniline, cyanides and diphenylguanidine from industrial wastewater using a full-scale moving bed biofilm reactor. **Process. Biochem**, v. 49, p. 102-109, 2014.
- ELHAG, M. *et al.* Assessment of water quality parameters using temporal remote sensing spectral reflectance in arid environments, Saudi Arabia. **Water**, v. 11, p. 556, 2019.

- ERICKSON, A. **Corn oil**. 5. ed. Washington: Corn Refiners Association, 2006.
- ERTÜRK, M. D.; SAÇAN, M. T. First toxicity data of chlorophenols on marine alga *Dunaliella tertiolecta*: correlation of marine algal toxicity with hydrophobicity and interspecies toxicity relationships. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 31, p. 1113-1120, 2012.
- ESCAPA, C. *et al.* Acetaminophen removal from water by microalgae and effluent toxicity assessment by the zebra fish embryo bioassay. **Water**, v. 11, n. 9, p. 19-29, 2019.
- ESCAPA, C. *et al.* Comparative assessment of diclofenac removal from water by different microalgae strains. **Algal Research**, v. 18, p. 127-134, 2016.
- FACEY, J. A. *et al.* An examination of microcystin-LR accumulation and toxicity using tethered bilayer lipid membranes (tBLMs). **Toxicon**, v. 158, p. 51-56, 2019.
- FITZGERALD, G. P.; SKOOG, F. Controlo f blue-green algae bloms with 2, 3 – Dichloro naphthoquinone. **Sewage and Industrial Wastes**, v. 26, p. 1136-1140, 1954.
- FRADIQUE, M. *et al.* *Isochrysis galbana* and *Diacronema vlkianum* biomass incorporation in pasta products as PUFA's source. **LWT-Food Sci. Technol.**, v. 50, n. 1, p. 312-319, 2013.
- FRANCESCHINI, I. M. *et al.* **Algas**: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- FU, L. *et al.* Toxicity of 13 different antibiotics towards freshwater green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and their modes of action. **Chemosphere**, v. 168, p. 217-222, 2017.
- FUJIBAYASHI, M. *et al.* Transfer of cyanobacterial carbon to a higher trophic-level fish community in a eutrophic lake food web: fatty acid and stable isotope analyses. **Oecologia**, v. 188, p. 901-912, 2018.
- GAI, C. *et al.* Combustion behavior and kinetics of low-lipid microalgae via thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology**, v. 181, p. 148-154, 2015.
- GHOLIZADEH, M. H.; MELESSE, A. M.; REDDI, L. A comprehensive review on water quality parameters estimation using remote sensing techniques. **Sensors**, v. 16, n. 8, p. 1298, 2016.
- GOLDMAN, J. C. Outdoor algal mass cultures - II. Photosynthetic yield limitations. **Water Research**, v. 13, n. 2, p. 119-136, 1979.
- GOUVEIA, D. *et al.* Ecotoxicoproteômica: uma década de progresso em nossa compreensão do impacto antropogênico no meio ambiente. **Journal of Proteomics**. v. 198, p. 66- 77, 2019.
- GRIFFIN, C. G. *et al.* Quantifying CDOM and DOC in major Arctic rivers during icefree conditions using Landsat TM and ETM+ data. **Remote Sensing of Environment**, v. 209, p. 395-409, 2018.
- GUPTA, S. *et al.* An algal assisted constructed wetland-microbial fuel cell integrated with sand filter for efficient wastewater treatment and electricity production. **Chemosphere**, v. 263, p. 128-132, 2021.
- HAN, S. W.; CHEE, K. M.; CHO, S. J. Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein. **Food Chem.**, v. 172, p. 766-769, 2015.
- HANDAYANIA, N. A.; ARIYANTIB, D.; HADIYANTO, H. Potential production of polyunsaturated fatty acids from microalgae. **Open Access Scient Report**, v. 1, n. 2, p. 1-4, 2012.
- HAO, X. *et al.* Simulation and exploration of cavitation process during microalgae oil extracting with ultrasonic-assisted for hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 46, n. 3, p. 2890-2898, 2021.
- HE, Y. *et al.* Bioassay-directed identification of toxicants in sediments of Liaohe River, northeast China. **Environmental Pollution**, v. 219 p. 663-671, 2016.
- HENSMAN, L. C. The use of algae for the removal of phosphorus from secondary wastewater effluents. 1986. Tese (Doutorado) – University of Pretoria, África do Sul, 1986.

- HERRERA, A. *et al.* Sustainable production of microalgae in raceways: Nutrients and water management as key factors influencing environmental impacts. **Journal of Cleaner Production**, v. 287, 125005, 2021.
- HESTIR, E. L. *et al.* Measuring freshwater aquatic ecosystems: the need for a hyperspectral global mapping satellite mission. **Remote Sensing of Environment**, v. 167, p. 181-195, 2015.
- HILBORN, E.; BEASLEY, V. One health and cyanobacteria in freshwater systems: animal illnesses and deaths are sentinel events for human health risks. **Toxins**, v. 7, p. 1374-1395, 2015.
- HOEK, J. V. D. *et al.* Monitoring reservoir drought dynamics with landsat and radar/lidar altimetry time series in persistently cloudy eastern Brazil. **Remote Sensing**, v. 11, n. 7, p. 827, 2019.
- HOFF-RISSETI, C. *et al.* Cylindrospermopsis and saxitoxin synthetase genes in Cylindrospermopsis raciborskii strains from Brazilian freshwater. **PLoS One**, v. 8, n. 8, e74238, 2013.
- HOU, Q. *et al.* Using an anaerobic digestion tank as the anodic chamber of an algae-assisted microbial fuel cell to improve energy production from food waste. **Water Research**, v. 170, p. 115305, 2020.
- HUANG, C. P.; WANG, Y. J.; CHEN, C. Y. Toxicity and quantitative structure–activity relationships of nitriles based on Pseudokirchneriella subcapitata. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 67, p. 439-446, 2007.
- INOUE, Y. *et al.* Simple and robust methods for remote sensing of canopy chlorophyll content: a comparative analysis of hyperspectral data for different types of vegetation. **Plant, Cell and Environment**, v. 39, p. 2609-2623, 2016.
- JACOB-LOPES, E. *et al.* (eds.). **Handbook of microalgae-based processes and products: fundamentals and advances in energy, food, feed, fertilizer, and bioactive compounds.** Cambridge: Academic Press, 2020.
- JESKE, M.; TRENTINI, A. M.; BONTEMPO, M. Clorela, o alimento completo, compêndio de fitoterapia. *In*: BONTEMPO, M. **Manual da medicina integral: o mais completo guia das terapias alternativas já publicado no Brasil.** Rio de Janeiro: Best Seller, 2011.
- KABIR, F. *et al.* Screening of native hyper-lipid producing microalgae strains for biomass and lipid production. **Renewable Energy**, v. 160, p. 1295- 307, 2020.
- KAHRU, A.; DUBOURGUIER, H. C. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. **Toxicology**, v. 269, p. 105-119. 2010.
- KANDADAI, A. L. Phosphorus species in wastewater: a seasonal analysis. **Indian Journal of Environmental Protection**, v. 12, n. 9, p. 682-688, 1992.
- KAWAI, H.; GRIECO, V. M.; JUREIDINI, P. Tratabilidade de poluentes em lagoa fotossintética acelerada e aproveitamento do potencial proteico de algas. **Revista DAE**, v. 128, p. 82-98, 1982.
- KAWAI, H.; NETO, J. C.; JUREIDINI, P. Utilização do sistema policultura (algas-microcrustáceos) para tratamento de esgotos domésticos. **Revista DAE**, v. 142, p. 308-312, 1985.
- KHATAMI, R.; MOUNTRAKIS, G.; STEHMAN, S. A meta-analysis of remote sensing research on supervised pixel-based land-cover image classification processes: General guidelines for practitioners and future research. **Remote Sensing of Environment**, v. 177, p. 89-100, 2016.
- KLEIN, B. C.; BONOMI, A.; FILHO, R. M. Integration of microalgae production with industrial biofuel facilities: a critical review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 1376-1392, 2018a.
- KLEIN, B. C. *et al.* Techno-economic and environmental assessment of renewable jet fuel production in integrated Brazilian sugarcane bio-refineries. **Appl. Energy**, v. 209, p. 290-305, 2018b.
- KONG, W. *et al.* Regulation of biomass, pigments, and lipid production by Chlorella vulgaris 31 through controlling trophic modes and carbon sources. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, p. 1569-1579, 2020.
- KOSE, A.; ONCEL, S. S. Algae as a promising resource for biofuel industry: facts and challenges. **Int. J. Energy Res.**, v. 41, p. 924-951, 2017.

- KOTOULA, D. *et al.* Municipal wastewater treatment by combining in series microalgae *Chlorella sorokiniana* and macrophyte *Lemna minor*: Preliminary results. **Journal of Cleaner Production**, v. 271, p. 122704, 2020.
- KUMAR, K. S. *et al.* Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 104, p. 51-71, 2014.
- KUSMAYADI, A. *et al.* Microalgae as sustainable food and feed sources for animals and humans—Biotechnological and environmental aspects. **Chemosphere**, v. 271, p. 129800, 2021.
- LEAL, P. *et al.* Impact of copper sulfate application at an urban Brazilian reservoir: a geostatistical and ecotoxicological approach. **Science of The Total Environment**, v. 618, p. 621-634, 2018.
- LEEBENS-MACK, J. H. *et al.* One thousand plant transcriptomes and the phylogenomics of green plants. **Nature**, v. 574, p. 668-679, 2019.
- LEHMAN, P. W. *et al.* Initial impacts of microcystis aeruginosa blooms on the aquatic food web in the San Francisco Estuary. **Hydrobiologia**, v. 637, p. 229-248, 2010.
- LEONG, Y. K.; CHANG, J. S. Bioremediation of heavy metals using microalgae: recent advances and mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122886, 2020.
- LIANG, S. X. T. *et al.* Toxicity of metals and metallic nanoparticles on nutritional properties of microalgae. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, art. 52, 2020.
- LIM, D. K. Y. *et al.* Isolation and evaluation of oil producing microalgae from subtropical coastal and brackish waters. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, p. e40751, 2012.
- LIM, J.; CHOI, M. Assessment of water quality based on Landsat 8 operational land imager associated with human activities in Korea. **Environ. Monit. Assess**, v. 187, p. 1-17, 2015.
- LIN, L. *et al.* Tratamento de água produzida com fotocatalise: avanços recentes, fatores que afetam e perspectivas de pesquisas futuras. **Catalysts**, v. 10, n. 8, p. 924, 2020.
- LU, T. *et al.* Pollutant toxicology with respect to microalgae and cyanobacteria. **Journal of Environmental Sciences**, v. 99, p. 175-186, 2021.
- LUDWIG, H. F. *et al.* Algae symbiosis in oxidation ponds – I. Growth characteristics of *Euglena gracilis* cultured in sewage. **Sewage and Industrial Wastes**, v. 23, p. 1337-1355, 1951.
- LUO, Z. *et al.* New insights into toxic effects of arsenate on four microcystis species under different phosphorus regimes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 35, p. 44460-44469, 2020.
- MACHU, L. *et al.* Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 1118-1133, 2015.
- MACKEN, A.; BYRNE, H. J.; THOMAS, K. V. Effects of salinity on the toxicity of ionic silver and Ag-PVP nanoparticles to *Tisbe battagliai* and *Ceramium tenuicorne*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 86, p. 101-110, 2012.
- MAITY, J. P. *et al.* Microalgae for third generation biofuel production, mitigation of greenhouse gas emissions and wastewater treatment: present and future perspectives - a minireview. **Energy**, v. 78, p. 104-113, 2014.
- MANIRAFASHA, E. *et al.* Phycobiliprotein: potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. **Biochemical Engineering Journal**, v. 109, p. 282-296, 2016.
- MARTIN, L. J. Fucoxanthin and its metabolite fucoxanthinol in cancer prevention and treatment. **Marine Drugs**, v. 13, n. 8, p. 4784-4798, 2015.
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.
- MCCALLUM, G. E. Advanced waste treatment and water reuse. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, v. 35, n.1, p. 1-10, 1963.

- MCCLELLAN, K.; ALTENBURGER, R.; SCHMITT-JANSEN, M. Pollution-induced community tolerance as a measure of species interaction in toxicity assessment. **Journal of Applied Ecology**, v. 45, p. 1514-1522, 2008.
- MORALES-SÁNCHEZ, D.; MARTINEZ-RODRIGUEZ, O. A.; MARTINEZ, A. Heterotrophic cultivation of microalgae: production of metabolites of commercial interest. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, v. 92, p. 925-936, 2017.
- MOSCHINI-CARLOS, V. *et al.* Cyanobacteria and cyanotoxin in the Billings Reservoir (São Paulo, SP, Brazil). **Limnetica**, v. 28, n. 2, p. 227-236, 2009.
- MOUSTAKA-GOUNI, M.; SOMMER, U. Effects of harmful blooms of large-sized and colonial cyanobacteria on aquatic food webs. **Water**, v. 12, n. 6, p.1587, 2020.
- MOUW, C. B. *et al.* A Consumer's guide to satellite remote sensing of multiple phytoplankton groups in the global ocean. **Frontiers in Marine Science**, v. 4, art. 41, 2017.
- MULLER-FEUGA, A.; MOAL, J.; KAAS, R. The microalgae for aquaculture. *In*: STOTTRUP, J. G.; MCEVOY, L. A. (eds.) **Life feeds in marine aquaculture**. Oxford: Blackwell, 2003.
- MUSAFAROV, A. M.; TAUBAYEV, T. T. **Chlorella (in Russian)**. Tashkent: FAN, 1974.
- MUSTAFA, S. *et al.* Eficiência da bio sorção, bioacumulação e biodegradação de microalgas para a remediação de águas residuais e mitigação de dióxido de carbono: perspectivas, desafios e oportunidades. **Journal of Water Process Engineering**, v. 41, p. 102009, 2021.
- NARALA, R. R. *et al.* Comparison of microalgae cultivation in photobioreactor, open raceway pond, and a two-stage hybrid system. **Front. Energy Res.**, v. 4, art. 29, 2016.
- NGUYEN, H. T. *et al.* The application of microalgae in removing organic micropollutants in wastewater. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 51, n. 12, p. 1187-1220, 2020.
- NOWRUZI, B.; SARVARI, G.; BLANCO, S. The cosmetic application of cyanobacterial secondary metabolites. **Algal Research**, v. 49, p. 101959, 2020.
- OBERHAUS, L. *et al.* Grazing of two toxic Planktothrix species by *Daphnia pulex*: potential for bloom control and transfer of microcystins. **J. Plankton Res.**, v. 29, p. 827-838, 2007.
- OGILVIE, A. *et al.* Assessing floods and droughts in ungauged small reservoirs with long-term landsat imagery. **Geosciences**, v. 6, n. 4, p. 42, 2016.
- OLGUIN, E. J. Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. **Biotechnol. Adv.**, v. 22, n. 1-2, p. 81-91, 2003.
- ONCEL, S. S. **Handbook of marine microalgae**. Oxford: Elsevier, 2015.
- ONCEL, S. S. Microalgae for a macroenergy world. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 26, p. 241-264, 2013.
- ONCEL, S.; SABANKAY, M. Microalgal biohydrogen production considering light energy and mixing time as the two key features for scale-up. **Bioresource Technology**, v. 121, p. 228-234, 2012.
- OTOMO, J. I. *et al.* Avaliação de políticas para preservação e recuperação de mananciais de abastecimento público da região metropolitana de São Paulo. *In*: POMPÊO, M. *et al.* (orgs.). **Ecologia de reservatórios e interfaces**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015.
- PALMER, C. M. Algas e suprimento de água na área de São Paulo. **Revista DAE**, v. 37, p. 11-15, 1960.
- PHAM, T-L.; UTSUMI, M. An overview of the accumulation of microcystins in aquatic ecosystems. **Journal of Environmental Management**, v. 213, p. 520-529, 2018.
- PIRES, D. A. *et al.* Water quality in four reservoirs of the metropolitan region of São Paulo, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 27, n. 4, p. 370-380, 2015.

- POMPÊO, M. *et al.* Water quality assessment using Sentinel-2 imagery with estimates of chlorophyll a, Secchi disk depth, and Cyanobacteria cell number: the Cantareira System reservoirs (São Paulo, Brazil). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 34990-35011, 2021.
- POMPÊO, M. *et al.* Nitrogen and phosphorus in cascade multi-system tropical reservoirs: water and sediment. **Limnological Review**, v. 17, n. 3, p. 133-150, 2017.
- PRASERTSIN, T.; PEERAPORNPIBAL, Y. Distribution and isolation of microalgae for lipid production in selected freshwater reservoirs of northern Thailand. **Biodiversitas**, v. 19, n. 1, p. 343-350, 2018.
- PRESCOTT, G. W. Contributions of current research to algal systematics. In: *Algae and Man*. Springer, Boston, MA, p. 1-30, 1964..
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 65, p. 635-648, 2004.
- PUTRI, F. E.; HUNG, T.-C. Comparison of nutrient removal and biomass production between macrophytes and microalgae for treating artificial citrus nursery wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 264, p. 110303, 2020.
- QUIGG, A. *et al.* Direct and indirect toxic effects of engineered nanoparticles on algae: role of natural organic matter. **ACS Sustain. Chem. Eng.**, v. 1, n. 7, p. 686-702, 2013.
- QUIROZ ARITA, C. E.; PEEBLES, C.; BRADLEY, T. H. Scalability of combining microalgae-based biofuels with waste water facilities: a review. **Algal Research**, v. 9, p. 160-169, 2015.
- RAMAKRISHNAN, B. *et al.* The impacts of environmental pollutants on microalgae and cyanobacteria. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 8, p. 699-821, 2010.
- RAND, G. M. (ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment**. Geneva: CRC Press, 2020.
- RASMUSSEN, S. B. *et al.* Effects of single rainfall events on leaching of glyphosate and bentazone on two different soil types, using the DAISY model. **Vadose Zone Journal**, v. 14, n. 11, p. 1-15, 2015.
- RATLEDGE, C.; COHEN, Z. Microbial and algal oils: do they have a future for biodiesel or as commodity oils? **Lipid Technology**, v. 20, n. 7, p. 155-160, 2008.
- RAWAT, I. *et al.* Biodiesel from microalgae: a critical evaluation from laboratory to large scale production. **Applied Energy**, v. 103, p. 444-467, 2013.
- RAZZAK, S. A. *et al.* Biological CO₂ fixation with production of microalgae in wastewater – a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 379-390, 2017.
- RIBEIRO, M. D. F. D. S.; RAIHER, A. P. Potentialities of energy generation from wasteand feedstock produced by the agricultural sector in Brazil: the case of the Stateof Paraná. **Energy Policy**, v. 60, p. 208-216, 2013.
- RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture**. Oxford: Blackwell, 2004.
- ROMANO, G. *et al.* Marine microorganisms as a promising and sustainable source of bioactive molecules. **Marine Environmental Research**, v. 128, p. 58-69, 2017.
- ROMITELLI, M. S. Remoção de fósforo em efluentes secundários com emprego de. **Revista DAE**, v. 133, p. 66-68, 1983.
- SAMPAIO, F. G.; BOIJINK, C. L.; RANTIN, F. T. **O uso do sulfato de cobre em ecossistemas aquáticos: fatores que afetam sua toxicidade em peixes de água doce**. Brasília: Embrapa Meio Ambiente, 2013.
- SANCHEZ, D. *et al.* Transcriptional and cellular responses of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* to perfluoroalkyl phosphonic acids. **Aquatic Toxicology**, v. 160, p. 31-38, 2015.

- SCAGLIONI, P. T.; BADIALE-FURLONG, E. Can Microalgae Act as Source of Preservatives in Food Chain? **Journal of Food Science and Engineering**, v. 7, p. 283-296, 2017.
- SCHWARZENBACH, R. P. *et al.* Poluição global da água e saúde humana. **Revisão Anual do Meio Ambiente e Recursos**, v. 35, p. 109-136, 2010.
- SENA, O. L. S. **A Lagoa de estabilização de esgotos, início de seu uso no Brasil e a teoria da nova agricultura das algas**. Salvador: Escola de Engenharia da Universidade da Bahia, 1963. (Mimeografado).
- SENDRA, M. *et al.* Erythromycin sensitivity across different taxa of marine phytoplankton. A novel approach to sensitivity of microalgae and the evolutionary history of the 23S gene. **Aquatic Toxicology**, v. 204, p. 190-196, 2018.
- SEYMOUR, J. R. *et al.* Zooming in on the phycosphere: the ecological interface for phytoplankton-bacteria relationships. **Nat. Microbiol.**, v. 2, n. 7, p. 1-12, 2017.
- SHARMA, K.; SCHUHMANN, H.; SCHENK, P. M. High lipid induction in microalgae for biodiesel production. **Energies**, v. 5, p. 1532-1553, 2012.
- SHI, X. *et al.* Effect of fish meal replacement by *Chlorella* meal with dietary cellulase addition on growth performance, digestive enzymatic activities, histology and myogenic genes expression for crucial carp *Carassius auratus*. **Aquacult. Res.**, v. 48, n. 6, p. 3244-3256, 2017.
- SIMIONATO, D. *et al.* Optimization of light use efficiency for biofuel production in algae. **Biophysical Chemistry**, v. 182, n. 71-78, 2013.
- SINGH, A.; KUMAR, U.; SEITZ, F. Remote sensing of storage fluctuations of poorly gauged reservoirs and state space model (SSM) - based estimation. **Remote Sens.**, v. 7, p. 17113-17134, 2015.
- SINGH, G.; PATIDAR, S. K. Water quality restoration by harvesting mixed culture microalgae using *Moringa oleifera*. **Water Environment Research**, v. 92, n. 9, p. 1268-1282, 2020.
- SINGH, J.; GU, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 2596-2610, 2010.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. *et al.* Microalgae *Ankistrodesmus gracilis* as feed ingredient for ornamental fish *Xiphophorus maculatus*. **International Aquatic Research**, v. 11, n. 2, p. 125-134, 2019.
- SITEPU, R. *et al.* Oleaginous yeasts for biodiesel: current and future trends in biology and production. **Biotechnol. Adv.**, v. 32, p. 1336-1360, 2014.
- SLADE, R.; BAUEN, A. Microalgae cultivation for biofuels: cost, energy balance, environmental impact and future prospects. **Biomass and Bioenergy**, v. 53, p. 29-38, 2013.
- SMITH, K. E. C. *et al.* Controlling and maintaining exposure of hydrophobic organic compounds in aquatic toxicity tests by passive dosing. **Aquatic Toxicology**, v. 98, n. 1, p. 15-24, 2010.
- SOEDER, C. J. Massive cultivation of microalgae: results and prospects. **Hydrobiologia**, v. 72, n. 1-2, p. 197-209, 1980.
- SOPEZKI, M. S. *et al.* The effects of *Microcystis aeruginosa* cells lysate containing microcystins on physiological and molecular responses in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Toxicology**, v. 35, p. 591-598, 2020.
- SOUZA, M. P. *et al.* Potential of microalgal bioproducts: general perspectives and main challenges. **Waste and Biomass Valorization**, v. 10, p. 2139-2156, 2019.
- STUMPF, R. P. *et al.* Challenges for mapping cyanotoxin patterns from remote sensing of cyanobacteria. **Harmful Algae**, v. 54, p. 160-173, 2016.
- SUDHA, P. N. *et al.* Microalgal efficiency for wastewater treatment. **Encyclopedia of Marine Biotechnology**, v. 1, p. 459-495, 2020.

- SUGANYA, K. S. *et al.* Blue green alga mediated synthesis of gold nanoparticles and its antibacterial efficacy against Gram positive organisms. **Materials Science and Engineering: C**, v. 47, p. 351-356, 2015.
- SUGANYA, T. *et al.* Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: a biorefinery approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 55, p. 909-941, 2016.
- SVIRČEV, Z. *et al.* Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyano-bacterial poisonings. **Arch. Toxicol.**, v. 93, p. 2429-2481, 2019.
- SVIRČEV, Z. *et al.* Toxicology of microcystins com referência a casos de intoxicações humanas e investigações epidemiológicas de exposições a cianobactérias e cianotoxinas. **Arco. Toxicol.**, v. 91, p. 621-650, 2017.
- TAMPONNET, C. *et al.* Cytological and physiological behaviour of *Euglena gracilis* cells entrapped in a calcium alginate gel. **Physiol. Planet.**, v. 63, p. 277-283, 1985.
- TESTER, P. A. ; LITAKER, R. W.; BERDALET, E. Climate change and harmful benthic microalgare. **Harmful Algae**, v. 91, p. 101655, 2020.
- TORREMORELL, A. *et al.* Present and future threats for the ecological quality management of South American freshwater ecosystems. **Inland Waters**, v. 11, n. 2, p. 125-140, 2021.
- TOTHILL, I. E.; TURNER, A. P. F. Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 15, n. 5, p. 178-188, 1996.
- TSAI, K. P. Management of target algae by using copper-based algaecides: effects of algal cell density and sensitivity to copper. **Water Air Soil Pollut**, v. 227, p. 238, 2016.
- TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. The multiple dimensions of the water crisis. **Revista USP**, n. 106, p. 21-30, 2015.
- TURBAK, S. C.; OLSON, S. B.; MCFETERS, G. A. Comparison of algal assay systems for detecting waterborne herbicides and metals. **Water Res.**, v. 20, p. 91-96, 1986.
- VAN REGENMORTEL, T.; DE SCHAMPHELAERE, K. A. C. Mixtures of Cu, Ni, and Zn act mostly noninteractively on *Pseudokirchneriella subcapitata* growth in natural waters. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 37, n. 2, p. 587-598, 2018.
- VANDERLEI, K. C. S. Processo de degradação do Córrego Itaim no bairro de Itaim Paulista, em São Paulo. **Revista Desenvolvimento Intelectual**, v. 2, n. 2, p. 153-165, 2021.
- VAZ, B. S. *et al.* Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements. **Curr. Opin. Food Sci.**, v. 7, p. 73-77, 2016.
- VERMA, K. *et al.* Phycoremediation of sewage-contaminated lake water using microalgae–bacteria co-culture. **Water Air Soil Pollut.**, v. 231, n. 299, 2020.
- VIEGAS, C.; GOUVEIA, L.; GONÇALVES, M. Aquaculture wastewater treatment through microalgal. Biomass potential applications on animal feed, agriculture, and energy. **Journal of Environmental Management**, v. 286, p. 112187, 2021.
- VOLKMAN, J. K. Sterols in microalgae. *In*: BOROWITZKA, A. M.; BEARDALL, J. (eds.). **The physiology of microalgae**. Murdoch: Springer, 2016. p. 485-505
- WARREN, L. A.; HAACK, E. A. Biogeochemical controls on metal behaviour in freshwater environments. **Earth Science Reviews**, v. 54, n. 4, p. 261-320, 2001.
- WATANABE, M. M.; KAYA, K.; TAKAMURA, N. J. Fate of the toxic cyclic hepatopeptides, the microcystins, from blooms of *Microcystis* (Cyanobacteria) in a hypereutrophic lake. **Phycology**, v. 28, p. 761-767, 1992.
- WIJEWICKRAMA, M. M.; MANAGE, P. M. Accumulation of microcystin-LR in grains of two rice varieties (*Oryza sativa* L.) and a leafy vegetable, *Ipomoea aquatica*. **Toxins**, v. 11, n. 8, p. 432, 2019.

- WILKERSON, F. P. Symbionts involved in phosphate uptake by green hydra. *In*: SCHENK, H. E. A.; SCHWEMMLER, W. (EDS.). **Endosymbiosis and cell biology**. Berlin: De Gruyter, 2021. p. 269-278.
- WOBBE, L.; BASSI, R.; KRUSE, O. Multi-level light capture control in plants and green algae. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 1, p. 55-68, 2015.
- WOOD, R. Acute animal and human poisonings from cyanotoxin exposure: a review of the literature. **Environment International**, v. 91, p. 276-282, 2016.
- WURTZ, A. G. Some problems remaining in algae culturing. *In*: JACKSON, D. F. **Algae and man**. Boston: Springer, 1964, p. 120-137.
- YANG, J. *et al.* Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: water footprint and nutrients balance. **Bioresourcetechnology**, v. 102, p. 159-165, 2011.
- YEH, H. J.; CHEN, C. Y. Toxicity assessment of pesticides to *Pseudokirchneriella subcapitata* under air-tight test environment. **J. Hazard. Mater.**, v. A131, p. 6-12, 2006.
- YU, N. *et al.* Optimization of process configuration and strain selection for microalgae-based biodiesel production. **Bioresourcetechnology**, v. 193, p. 25-34, 2015.
- ZHAN, J. *et al.* Selection and characterization of eight freshwater green algae strains for synchronous water purification and lipid production. **Front. Environ. Sci. Eng.**, v. 10, n. 3, p. 548-558, 2016.
- ZHANG, L.; THOMAS, S.; MITSCH, W. J. Design of real-time and long-term hydrologic and water quality wetland monitoring stations in South Florida, USA. **Ecological Engineering. Part B**, v. 108, p. 446-455, 2017.
- ZHANG, Z. *et al.* Alteration of dominant cyanobacteria in different bloom periods caused by abiotic factors and species interactions. **Journal of Environmental Sciences**, v. 99, p. 1-9, 2021.
- ZHU, L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: an innovative framework. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 1376-1384, 2015.
- ZHU, L. D.; HILTUNEN, E.; ANTILA, E.; ZHONG, J. J.; YUAN, Z. H.; WANG, Z. M. Microalgal biofuels: flexible bioenergies for sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 30, p. 1035-1046, 2014.
- ZUGMAN, J. Lagoas de estabilização de esgotos: Separação de algas e remoção de nitrogênio amoniacal nos seus efluentes. **Revista DAE**, v. 72, p. 321-346, 1969.
- ZUPANČIČ, M. *et al.* Potentially toxic planktic and benthic cyanobacteria in Slovenian Freshwater Bodies: detection by quantitative PCR. **Toxins**, v. 13, n. 2, p. 133, 2021.