

A Biotecnologia Ambiental no norte do Paraná: Uma revisão sistemática da literatura recente

Environmental Biotechnology in northern Paraná: A systematic review of recent literature

Biología Ambiental en el norte de Paraná: Una revisión sistemática de la literatura reciente

Recebido: 04/10/2023 | Revisado: 16/10/2023 | Aceitado: 18/10/2023 | Publicado: 21/10/2023

Lorraine Fernanda Beltrane

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-4176-238X>

Instituto Federal do Paraná, Brasil

E-mail: lorrainebeltrane02@gmail.com

Luciana Fernandes de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0411-8992>

Instituto Federal do Paraná, Brasil

E-mail: luciana.fernandes@ifpr.edu.br

Daniel Meneguello Limeira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7987-8948>

Instituto Federal do Paraná, Brasil

E-mail: daniel.limeira@ifpr.edu.br

Resumo

Biologia ambiental é o conjunto de técnicas que utiliza organismos ou parte deles para monitorar, prevenir e recuperar ambientes. Nesse sentido, esse trabalho teve por objetivo conhecer o cenário atual da pesquisa científica em biotecnologia ambiental realizada na região norte do Paraná, destacando-se as fragilidades e potencialidades. Para tanto, foi realizada uma revisão sistemática da literatura hospedada no Portal de Periódicos da Capes, utilizando descritores e operadores booleanos previamente selecionados para este fim. Os resultados indicam a forte atuação das Universidades Públicas do Norte Paranaense, além de revelar a predominância de trabalhos relacionados à qualidade de ecossistemas aquáticos e a utilização de biomarcadores e bioindicadores distintos, na tentativa de levantar um amplo espectro de dados acerca dos ambientes analisados. Diversos tipos de organismos, de variados táxons, têm sido utilizados como indicadores de qualidade ambiental; assim como uma ampla gama marcadores. Percebe-se que a biotecnologia ambiental pode fornecer ferramentas para dirimir a contaminação ambiental, oferecendo tratamentos eficientes. Como diversas dessas técnicas ainda estão na fase de desenvolvimento, sua ampla utilização ainda não está totalmente difundida.

Palavras-chave: Bioindicadores; Biomarcadores; Biomonitoramento; Degradação ambiental; Recuperação ambiental.

Abstract

Environmental biotechnology is the set of techniques that use organisms or parts of them to monitor, prevent and restore environments. In this sense, this work aimed to understand the current scenario of scientific research in environmental biotechnology carried out in the northern region of Paraná, highlighting the weaknesses and potentialities. To this end, a systematic review of the literature hosted on the Capes Periodicals Portal was carried out, using Boolean descriptors and operators previously selected for this purpose. The results indicate the impressive performance of Public Universities in Northern Paraná, in addition to revealing the predominance of work related to the quality of aquatic ecosystems and the use of distinct biomarkers and bioindicators, to collect a broad spectrum of data about the analyzed environments. Several types of organisms, from different taxa, have been used as indicators of environmental quality; as well as a wide range of markers. It is clear that environmental biotechnology can provide tools to resolve environmental contamination, offering efficient treatments. As several of these techniques are still in the development phase, their widespread use is not yet fully widespread.

Keywords: Bioindicators; Biomarkers; Biomonitoring; Environmental degradation; Environmental recovery.

Resumen

La biología ambiental es el conjunto de técnicas que utilizan organismos o partes de ellos para monitorear, prevenir y restaurar ambientes. En este sentido, este trabajo tuvo como objetivo comprender el escenario actual de la investigación científica en biología ambiental realizada en la región norte de Paraná, destacando las debilidades y potencialidades. Para eso, se realizó una revisión sistemática de la literatura alojada en el Portal de Revistas Periódicas de la Capes, utilizando descriptores booleanos y operadores previamente seleccionados para tal fin. Los resultados indican el fuerte desempeño de las Universidades Públicas del Norte de Paraná, además de revelar el predominio de trabajos relacionados con la calidad de los ecosistemas acuáticos y el uso de distintos biomarcadores y bioindicadores,

en el intento de recolectar un amplio espectro de datos sobre los ecosistemas analizados. ambientes. Se han utilizado varios tipos de organismos, de diferentes taxones, como indicadores de la calidad ambiental; así como una amplia gama de rotuladores. Está claro que la biotecnología ambiental puede proporcionar herramientas para resolver la contaminación ambiental, ofreciendo tratamientos eficientes. Como varias de estas técnicas están en desarrollo, su uso generalizado aún no está extendido.

Palabras clave: Bioindicadores; Biomarcadores; Biomonitorio; Degradación ambiental; Recuperación ambiental.

1. Introdução

A Biotecnologia Ambiental é imprescindível na recuperação, prevenção e monitoramento do meio ambiente, tendo por finalidade a proteção ambiental e o desenvolvimento sustentável. Dentre suas áreas de atuação, a recuperação está diretamente ligada à regeneração do ambiente degradado por meio de técnicas que, em sua grande maioria, se utilizam de espécies nativas. Tais técnicas de manejo incluem: a biodegradação, biorremediação, bioestabilização, fitorremediação e desenvolvimento de novos produtos e processos que são capazes de contribuir para a descontaminação e restabelecimento do ecossistema (Brasil, 2007; Florêncio et al., 2019). Estas biotécnicas são incluídas numa frente de técnicas emergentes no Brasil.

No que concerne à prevenção, a biotecnologia atua no estudo interdisciplinar, aplicando medidas que evitem possíveis danos aos ecossistemas que comprometam a integridade e a biodiversidade do local. Medidas como o tratamento de efluentes industriais e urbanos antes do despejo e a biofiltração podem ser responsáveis por manter a plenitude do meio ambiente durante anos. Ademais, tais medidas são responsáveis por deter e até mesmo adiar técnicas de recuperação (Florêncio et al., 2019).

No que diz respeito ao monitoramento ambiental, a biotecnologia exerce a função de monitorar por meio de técnicas e processos um ecossistema que tem o potencial para ser contaminado, como por exemplo, ribeirões próximos a indústrias. Neste contexto, utilizam-se técnicas para avaliar a qualidade ambiental. Esta avaliação está pautada em uma série de variáveis, como os métodos físico-químicos e biológicos que são eficientes para mensurar e quantificar a qualidade do ambiente monitorado. Os métodos físico-químicos referem-se a oxigênio dissolvido, pH, temperatura, condutividade, presença de substâncias químicas, entre outros. Já os métodos biológicos estão relacionados à utilização de “bioferramentas” de alerta, ou seja, os biomarcadores, marcadores moleculares, bioindicadores e análises de toxinas e patógenos em espécies sentinelas (Florêncio et al., 2019; Gavrilescu, 2009).

Vários estudos e pesquisas foram - e vêm sendo - realizados nos últimos anos a respeito da execução e inovação de técnicas e metodologias em biotecnologia ambiental no Paraná. No entanto, poucos trabalhos tiveram o objetivo de mensurar o que vem sendo produzido neste eixo da biotecnologia. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, o cenário atual da pesquisa científica concernente à biotecnologia ambiental no Norte do Paraná, com foco na recuperação e monitoramento ambiental. Através da presente revisão, buscou-se estabelecer um panorama sobre o estado da arte da pesquisa em biotecnologia ambiental no norte do Estado do Paraná, bem como conhecer as potencialidades, fragilidades e tendências dessa área da ciência nesta região.

2. Metodologia

2.1 A Região Norte do Paraná

O Estado do Paraná localiza-se na Região Sul do Brasil e é dividido em 10 mesorregiões de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). No presente trabalho, as mesorregiões Noroeste, Norte Central e Norte Pioneiro foram consideradas para compor o Norte do Estado. Dentre as cidades localizadas na região, cabe destacar Londrina e Maringá que são importantes centros urbanos e possuem universidades referência em pesquisa ambiental. Além dessas, estão presentes nessa região uma série de instituições públicas de ensino superior e pesquisa (Figura 1).

Segundo o Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social (IPARDES), o Paraná representa a quinta

maior economia do País. Sua Região Norte possui grande potencial com relação ao seu crescimento e desenvolvimento econômico e social. A economia baseia-se em produções agrícolas - principalmente café, trigo, milho e soja -, prestação de serviços, criação de animais - em especial, aves - e indústrias regionais, nacionais e multinacionais de diversos setores e áreas de atuação (IPARDES, 2023).

Figura 1 - Municípios e instituições públicas de ensino superior e pesquisa localizadas nas mesorregiões Noroeste, Norte Central e Norte Pioneiro do Paraná.



Fonte: Autores (2020).

Por consequência das atividades econômicas, a região está suscetível a degradação ambiental, devido à excessiva exploração e manejo inadequado dos solos, despejo de efluentes industriais sem o devido tratamento, uso intensivo de agrotóxicos e fertilizantes, desmatamentos e falta de planejamento e de medidas preventivas e protetivas ao meio ambiente. Assim sendo, a implantação e progresso da biotecnologia ambiental e de suas técnicas no local podem auxiliar na prevenção, recuperação e monitoramento das áreas, além de contribuir no progresso das atividades exercidas na região.

2.2 Busca de artigos para a Revisão Sistemática

A presente revisão sistemática foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Costa e Zoltowski (2014), que resumidamente, consiste na (1) delimitação da questão a ser pesquisada; (2) escolha das fontes dos dados; (3) eleição dos descritores para as buscas; (4) busca dos artigos; (5) seleção dos artigos, através da leitura dos resumos e da aplicação dos critérios de inclusão e exclusão; (6) extração dos dados dos artigos selecionados; (7) avaliação dos artigos; (8) síntese e interpretação dos dados. Inicialmente, seguindo o objetivo inicial que se tratava de responder qual é o estado da arte da pesquisa em biotecnologia ambiental no norte do Estado do Paraná, elencou-se os seguintes descritores: (a) biorremediação, (b) biomonitoramento e (c) bioindicadores. Com o auxílio da ferramenta DECS - Descritores em Ciências da Saúde, foram buscados sinônimos para os descritores (Tabela 1), aumentando, assim, as chances de retorno das buscas.

As buscas foram realizadas no Portal de Periódicos Capes/MEC (<https://www-periodicos-capes-gov-br.ez1.periodicos.capes.gov.br/index.php>), selecionando-se, assunto “contém” e em seguida incluindo, no primeiro campo de

pesquisa, os descritores em inglês (Tabela 1) entre aspas e separados pelo operador booleano “OR”. Para a próxima linha, foi selecionado “AND”, “Qualquer campo” e “contém”. Neste segundo campo, optou-se por usar, além do termo “Paraná”, em diferentes buscas, as principais regiões/cidades localizadas no norte do estado e que possuem universidades, institutos federais e/ou outras instituições de pesquisa (Paraná, Londrina, Cianorte, Cidade Gaúcha, Ivaiporã, Maringá, Bandeirantes, Cornélio Procópio, Apucarana, Paranavaí, Jandaia do Sul, Araçongas, Astorga, Jacarezinho e Umuarama. Estas cidades foram escolhidas por possuírem campi de Universidades e/ou Institutos de Pesquisa).

Tabela 1 - Descritores utilizados para a busca de artigos e sinônimos, em inglês, levantados no DECS - DECS - Descritores em Ciências da Saúde.

| Descritores | Resultado dos termos alternativos em inglês |
|------------------|--|
| Biorremediação | Bioremediation; Environmental Biodegradation; Natural Attenuation, Pollution; Phytoremediation, Pollution Natural Attenuation |
| Biomonitoramento | Bio Monitoring; Bio-Monitoring; Biologic Monitoring Biomonitoring; Monitoring, Biologic; Monitoring, Biological |
| Bioindicador | Bioindicator; Bioindicators; Biological Indicator; Biological Indicators; Biomarker, Environmental; Biomarkers, Environmental; Environmental; Biomarker; Indicator, Biological; Indicators, Biological |

Fonte: Autores (2020).

Para refinar as buscas e a fim de focar as análises nas publicações mais recentes, foram selecionados somente os artigos confeccionados nos últimos 10 anos, escritos em inglês e publicados em periódicos revisados por pares. Para inclusão ou não dos artigos na revisão sistemática, realizou-se a leitura de títulos e resumos de todos os artigos levantados. Foram incluídos na revisão os artigos:

1. que utilizaram métodos considerados dentro do campo da biotecnologia, para monitorar, avaliar ou recuperar ambientes naturais;
2. cuja uma ou mais regiões de estudo localizavam-se geograficamente no norte do Paraná.

Quaisquer artigos que, obrigatoriamente, não cumprissem ambos os critérios acima, foram excluídos.

3. Resultados e Discussão

O resultado da busca dos artigos está retratado de modo quantitativo na Tabela 2, que apresenta a quantidade de artigos que foram selecionados em cada busca referente às regiões/cidades.

A Tabela 3 apresenta os 27 trabalhos selecionados, organizados em ordem alfabética de título, autores, ano de publicação e periódico/revista em que o artigo foi publicado.

Todos os trabalhos foram publicados em revistas e periódicos que abordam a biotecnologia e suas áreas de atuação, além de outras questões ambientais, como ecologia, degradação, contaminação e poluição de corpos d'água ou outros ecossistemas. De 2010 a 2020, houve publicações todos os anos, havendo uma tendência de aumento ao longo dos anos.

Tabela 2 - Resultados das buscas de artigos.

| Região/Cidade | PPC | RP | TR |
|-------------------|-------------|--------------|-----------|
| Paraná | 465 | 435 | 8 |
| Apucarana | 26 | 22 | - |
| Arapongas | 8 | 5 | - |
| Astorga | 370 | 353 | - |
| Bandeirantes | 120 | 110 | - |
| Cianorte | 10 | - | 1 |
| Cidade Gaúcha | 17 | 15 | 1 |
| Cornélio Procópio | 7 | - | - |
| Ivaiporã | 5 | - | - |
| Jacarezinho | 11 | - | 1 |
| Jandaia do Sul | 3 | - | - |
| Londrina | 550 | 460 | 5 |
| Maringá | 677 | 595 | 9 |
| Paranavaí | 11 | 7 | - |
| Umuarama | 80 | 70 | 2 |
| Total | 2.36 | 2.072 | 27 |

PPC: Número de artigos levantados após a primeira busca no Portal de Periódicos da Capes; RP: número de artigos em periódicos revisados por pares; TR: número de artigos selecionados para compor a revisão sistemática após leitura dos títulos e resumos. Fonte: Autores (2020).

Os trabalhos foram produzidos por 143 autores diferentes pertencentes, na maioria dos casos, a instituições públicas (estaduais ou federais) e de maneira geral, localizadas na região estudada (Figura 2). Cinco destes autores publicaram três artigos, oito publicaram dois artigos e o restante um artigo cada.

Vinte e três artigos apresentaram autores filiados a instituições localizadas na região norte do Paraná. Dentre as instituições localizadas fora da região de estudo, apenas três delas (UFPR, UTFPR e UNIOESTE) estão no estado do Paraná; porém nove artigos apresentaram autores filiados a tais instituições, o que corresponde a 18% do total. Nota-se uma efetiva participação de instituições paranaenses na pesquisa em biotecnologia ambiental na região em que estão inseridas. De maneira semelhante, nota-se que os pesquisadores vinculados a tais instituições participam de redes de pesquisa amplamente distribuídas pelo território nacional, visto que 13 instituições (10 nacionais e três estrangeiras) localizadas em outros estados e países participaram dos trabalhos.

Tabela 3 - Artigos selecionados para a revisão sistemática da literatura

| Título | Autores e ano de publicação | Periódico/Revista |
|--|------------------------------------|--|
| Activity of the endophytic fungi <i>Phlebia sp.</i> and <i>Paecilomyces formosus</i> in decolourisation and the reduction of reactive dyes' cytotoxicity in fish erythrocytes. | Bulla et al. (2017) | Environmental Monitoring and Assessment |
| An integrated approach in subtropical agro-ecosystems: Active biomonitoring, environmental contaminants, bioaccumulation, and multiple biomarkers in fish. | Vieira et al. (2019) | Science of the Total Environment |
| Anthropogenic disturbances influencing ciliate functional feeding groups in impacted tropical streams. | Segovia et al. (2016) | Environmental Science and Pollution Research |
| Aquatic insect communities in small stream in the south of Brazil. | Zequi et al. (2019) | Environmental Monitoring and Assessment |
| Biodiscoloration, Detoxification and Biosorption of Reactive Blue 268 by <i>Trametes sp. M3</i> : a Strategy for the Treatment of Textile Effluents. | Araújo et al. (2020) | Water, Air, & Soil Pollution |
| Biomarkers in the freshwater bivalve <i>Corbicula fluminea</i> confined downstream a domestic landfill leachate discharge. | Oliveira et al. (2016) | Environmental Science and Pollution Research |
| Biomarkers of waterborne copper exposure in the Neotropical fish <i>Prochilodus lineatus</i> . | Simonato et al. (2015) | Aquatic Toxicology |
| Biomarkers stratigraphy of Irati Formation (Lower Permian) in the southern portion of Paraná Basin (Brazil). | Reis et al. (2018) | Marine and Petroleum Geology |
| Changes in the genetic structure of Bacteria and microbial activity in an agricultural soil amended with tannery sludge. | Nakatani et al. (2011) | Soil Biology & Biochemistry |
| Cytotoxicity of Crude and Treated Liquid Effluents from Textile Industry Dyeing Using Bioindicator <i>Allium cepa L.</i> | Domingues et al. (2020) | Water, Air, & Soil Pollution |
| Copper Ions Adsorption from Aqueous Medium Using the Biosorbent Sugarcane Bagasse <i>In Natura</i> and Chemically Modified. | Santos et al. (2010) | Water, Air, & Soil Pollution |
| Decolourization of Congo Red by <i>Ganoderma lucidum</i> Laccase: Evaluation of Degradation Products and Toxicity. | Mota et al. (2015) | Water, Air, & Soil Pollution |
| Development of a low-cost sterilization biological indicator using <i>Bacillus atrophaeus</i> by solid-state fermentation. | Sella et al. (2011) | Applied Microbiology and Biotechnology |
| Environmental risk assessment in five rivers of Parana River basin, Southern Brazil, through biomarkers in <i>Astyanax spp.</i> | Barros et al. (2017) | Environmental Science and Pollution Research |
| Evaluation of hospital laundry effluents treated by advanced oxidation processes and their cytotoxic effects on <i>Allium cepa L.</i> | Furtado et al. (2020) | Environmental Monitoring and Assessment |
| Evidence against the use of surrogates for biomonitoring of Neotropical floodplains. | Padial et al. (2012) | Freshwater Biology |
| Improvement of the coagulation/flocculation process using a combination of <i>Moringa oleifera</i> Lam with anionic polymer in water treatment. | Bongiovani et al. (2014) | Environmental Technology |

| | | |
|--|--------------------------|--|
| In Situ Assessment of a Neotropical Fish to Evaluate Pollution in a River Receiving Agricultural and Urban Wastewater. | Ghisi et al. (2014) | Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology |
| Phytoplankton alpha diversity as an indicator of environmental changes in a neotropical floodplain. | Rodrigues et al. (2015) | Ecological Indicators |
| Taxonomic sufficiency in detecting hydrological changes and reproducing ordination patterns: A test using planktonic ciliates. | Cabral et al. (2017) | Ecological Indicators |
| The effects of local and regional environmental factors on the structure of fish assemblages in the Pirapó Basin, Southern Brazil. | Cunico et al. (2012) | Landscape and Urban Planning |
| The Influence of Lead on Different Proteins in Gill Cells From the Freshwater Bivalve, <i>Corbicula fluminea</i> , From Defense to Repair Biomarkers. | Rocha et al. (2011) | Archives of Environmental Contamination and Toxicology |
| The structure of planktonic communities of testate amoebae (<i>Arcellinida</i> and <i>Euglyphida</i>) in three environments of the Upper Paraná River basin, Brazil. | Schwind et al. (2015) | Journal Of Limnology |
| Using Multibiomarker Approach as a Tool to Improve the Management Plan for a Private Reserve of Natural Heritage (RPPN). | Silva et al. (2014) | Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology |
| Utilization of Passion Fruit Skin By-Product as Lead(II) Ion Biosorbent. | Gerola et al. (2013) | Water, Air, & Soil Pollution |
| Water quality monitoring of the Pirapó River watershed, Paraná, Brazil. | Bortoletto et al. (2015) | Brazilian Journal of Biology |

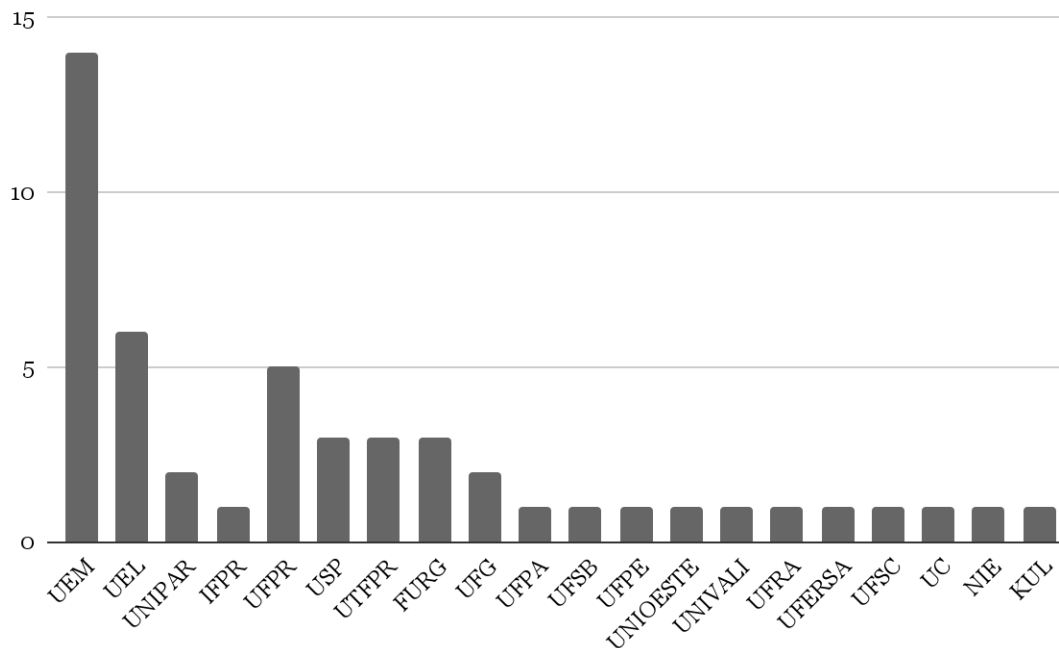
Fonte: Autores (2020).

3.1 Biomarcadores e bioindicadores utilizados

Os artigos selecionados, em sua grande maioria, referiam-se a atuação da biotecnologia ambiental no monitoramento de ecossistemas, expondo resultados de degradação e propondo medidas de proteção, prevenção e remediação aos ambientes degradados. Os 27 artigos foram agrupados de acordo com a utilização de biomarcadores ou bioindicadores e, em seguida, classificados de acordo com a atuação da biotecnologia: recuperação, monitoramento e prevenção.

Com relação a aplicação de biomarcadores, foram incluídos oito artigos em que todos referiam-se às técnicas de monitoramento. Os biomarcadores utilizados foram: genéticos e bioquímicos, com seis artigos cada e histopatológicos, com cinco artigos.

Figura 2 - Quantidade de artigos que apresentaram autores filiados às respectivas instituições de pesquisa.



UEM: Universidade Estadual de Maringá; UEL: Universidade Estadual de Londrina; UNIPAR: Universidade Paranaense; IFPR: Instituto Federal do Paraná Campus Jacarezinho; UFPR: Universidade Federal do Paraná Campus Curitiba; UFPA: Universidade Federal do Pará; UFSB: Universidade Federal do Sul da Bahia; USP: Universidade de São Paulo; UFG: Universidade Federal de Goiás; UTFPR: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campi Curitiba, Dois Vizinhos e Francisco Beltrão; FURG: Universidade Federal do Rio Grande; UFPE: Universidade Federal de Pernambuco; UNIOESTE: Universidade Estadual do Oeste do Paraná; UNIVALI: Universidade do Vale do Itajaí/SC; UFRA: Universidade Federal Rural do Amazonas; UFERSA: Universidade Federal Rural do Semi-Árido/RN; UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina; UC: Universidade de Coimbra/Portugal; NIE: Netherlands Institute of Ecology/Holanda; KUL: Katholieke Universiteit Leuven/Holanda. Fonte: Autores (2020).

Ghisi et al. (2014), Silva et al. (2014), Simonato et al. (2015), Barros et al. (2017) e Vieira et al. (2019) aplicaram os biomarcadores em distintas espécies sentinelas de peixes neotropicais de água-doce que se localizam em áreas de preservação e/ou despejo de efluentes agrícolas e urbanos e que possuem distintos graus de interferência antrópica. Tais trabalhos abordaram a utilização de variados marcadores somados às análises físico-químicas do ambiente, para resultados mais precisos e que reflitam as condições ambientais de modo íntegro. Vale ressaltar que todos os valores de referência utilizados nas pesquisas, como por exemplo a concentração máxima de compostos na água, são pautados em legislações ambientais e repertório científico. Portanto, mesmo tratando-se de ecossistemas semelhantes, mas que possuem propriedades físicas, químicas, biológicas e níveis de interferência antrópica particulares, é possível observar uma sequência metodológica padrão na realização do monitoramento com o uso de biomarcadores e posterior análise estatística para a comparação com valores de referência.

Referente aos biomarcadores genéticos, Ghisi et al. (2014), Simonato et al. (2015), Barros et al. (2017) e Vieira et al. (2019) realizam testes de micronúcleos, ensaio cometa e outras anormalidades nucleares. Silva et al. (2014) foram os únicos a aplicar apenas um marcador genético, sendo este o teste de micronúcleo.

Com relação aos biomarcadores bioquímicos, Simonato et al. (2015) utilizaram proteínas semelhantes a metalotioneína, antioxidantes, peroxidação lipídica, enzimas de biotransformação em fígado e brânquias e atividade da acetilcolinesterase no músculo e no cérebro. Barros et al. (2017) utilizaram biomarcadores bioquímicos incluídos antioxidantes (tióis não proteicos, atividades da catalase e glutatona S-transferase), dano oxidativo aos lipídios (peroxidação lipídica) e proteínas (carbonilação de proteínas), e teor de metalotioneína no fígado, bem como acetilcolinesterase ativa no cérebro e nos músculos. Já Vieira et al. (2019), atividades de 7-etoxiresorufina-O-desetilase (EROD); glutatona S-transferase (GST), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), glutatona redutase (GR), glutamato-cisteína ligase (GCL) e concentrações de

glutathione total (GSH). Silva et al. (2014), por sua vez, utilizaram GST, CAT, LPO e acetilcolinesterase (AChE).

Com relação aos biomarcadores histopatológicos, observou-se a aplicabilidade de parâmetros histológicos no fígado, em todos os trabalhos, e brânquias, em alguns trabalhos, uma vez que esses tecidos são capazes de concentrar compostos nocivos. Neste sentido, entende-se que o emprego de variados biomarcadores nas pesquisas dos autores citados, têm a função de garantir que a degradação ambiental dos ecossistemas aquáticos se reflète de modo fidedigno. Todos os trabalhos avaliaram distintos pontos de coleta e graus de poluição de rios do Norte Paranaense e apresentaram resultados da interferência humana em diferentes níveis de resposta biológica, apresentando danos que interferem diretamente no ciclo de vida dos organismos aquáticos localizados nos mais variados níveis da cadeia trófica (Spadotto et al., 2004).

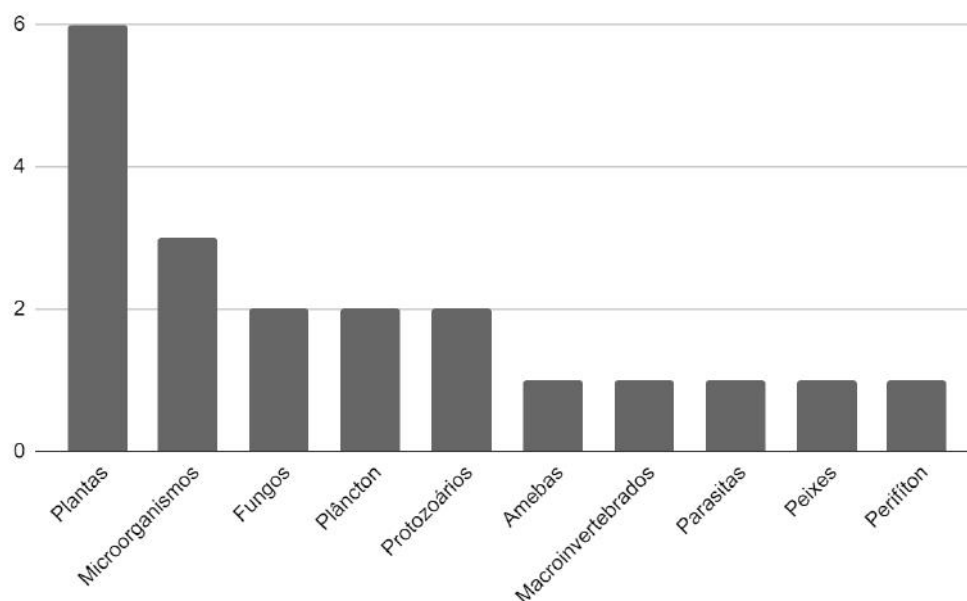
Rocha et al. (2011) e Oliveira et al. (2016) trabalharam com Moluscos (bivalves) de água doce. Ambos utilizaram-se de marcadores bioquímicos, porém Rocha et al. (2011) os aplicaram a distintos aspectos do metabolismo de bivalves, como transporte de íons e água, extrusão de xenobióticos e a proteína de choque térmico 70 (Hsp70) e Oliveira et al. (2016), além de bioquímicos como a atividade EROD, atividade GST, teste para o acúmulo de fluorescência da rodamina B, espécies reativas de oxigênio (ROS) e antioxidante total e capacidade contra radicais peróxido (TAC), também empregaram os marcadores genéticos, cabendo citar o ensaio cometa em que os dados obtidos foram analisados por meio da análise estatística e BRI (Índice de Resposta Biológica). Mesmo utilizando-se de bivalves e objetivando indicar quais os biomarcadores são mais viáveis para retratar e mensurar os impactos causados nos indivíduos por meio de contaminações antrópicas, Rocha et al. (2011) compara a avaliação e a aplicação *in situ* e *in vitro*, indicando melhor custo-benefício dos ensaios *in vitro*. Já Oliveira et al. (2016) realizam a medição desses parâmetros apenas *in situ*. Tais resultados indicam que cabe aos pesquisadores a avaliação da adequação da aplicação dos ensaios, devendo levar-se em consideração além do objetivo do estudo, a área analisada e o organismo observado.

De acordo com Freire et al. (2008), a combinação de diferentes biomarcadores é desejável e estes devem ser complementares, eficientes e adequados ao ecossistema analisado; uma vez que o monitoramento por meio dos biomarcadores fornecerá dados que influenciarão na decisão do tipo de biorremediação e/ou recuperação mais apropriada para o ambiente degradado. A grande utilização de marcadores genéticos e bioquímicos está diretamente ligada ao grau de resposta biológica, ou seja, os autores buscaram avaliar e identificar os impactos ambientais, bem como sua ação nos organismos, nos primeiros níveis de ação dos compostos nocivos. Este é um ponto positivo, pois com a rápida identificação da contaminação e sua remediação/tratamento os danos causados tendem a ser menores.

Com relação aos bioindicadores, uma grande variedade foi identificada: fungos, protozoários, macroinvertebrados, perifíton, amebas, parasitas, plantas, plâncton, peixes e microrganismos (Figura 3). Ao todo, 19 artigos utilizaram bioindicadores, para o monitoramento dos ecossistemas que, em sua grande maioria são aquáticos.

Segovia et al. (2016) e Cabral et al. (2017) utilizaram protozoários ciliados para o monitoramento de ecossistemas aquáticos. Os resultados de Cabral et al. (2017) mostraram que é possível identificar alterações ambientais, utilizando identificação a nível de gênero para ciliados, o que pode fornecer um panorama mais generalizado. No entanto, Segovia et al. (2016) investigaram apenas os efeitos de distintos distúrbios na abundância de ciliados e na carga de matéria orgânica do rio analisado.

Figura 3 - Quantidade e tipos de biomarcadores utilizados em pesquisas de Biotecnologia Ambiental na região Norte do Paraná



Fonte: Autores (2020).

Domingues et al. (2020) e Furtado et al. (2020) aplicaram o teste de citotoxicidade em células de raízes de *Allium cepa* no estudo de efluentes de indústria têxtil e de lavanderia. Os trabalhos possuem metodologias semelhantes; num primeiro momento, caracterizaram o local analisado de acordo com parâmetros físico-químicos, em seguida cultivaram em H₂O as raízes de *A. cepa*, aplicando grupo controle e outros com diferentes concentrações dos efluentes. Nos trabalhos, segundo os autores, *A. cepa* demonstrou-se sensível e eficiente para o biomonitoramento, uma vez que houve redução significativa da divisão celular nas raízes quando expostas à diferentes concentrações dos efluentes monitorados.

Padial et al. (2012) e Rodrigues et al. (2015) recorrem ao fitoplâncton, por possuir alta diversidade e sensibilidade a alterações na integridade das águas. Rodrigues et al. (2015) avaliaram como as ações antrópicas afetam a diversidade fitoplanctônica, em contrapartida Padial et al. (2012) analisaram a possível substituição e os níveis de concordância entre organismos aquáticos, como entre zooplâncton e fitoplâncton, fitoplâncton e perifíton e as macrófitas aquáticas com outros grupos biológicos, uma vez que servem como refúgio contra predadores e para o forrageamento de peixes e macroinvertebrados. Contudo, cabe ressaltar que pesquisas semelhantes possuem maiores custos e levam mais tempo e estudos a serem feitos, o que a curto prazo não é o indicado para ambientes com alto grau de contaminação e degradação.

Cunico et al. (2012), Ribeiro et al. (2014), Bortoletto et al. (2015), Schwind et al. (2015) e Zequi et al. (2019) não demonstraram semelhanças em relação a outras classes de bioindicadores. No entanto, todos os trabalhos referentes ao monitoramento possuem características extremamente padronizadas em suas metodologias, como por exemplo a análise físico-química dos ambientes avaliados, indicando que, mesmo com espécies diferentes, foi criado - de acordo com a realização de vários estudos científicos que possuam as mesmas finalidades - procedimentos e análises padrão que garantem respostas relevantes às pesquisas.

Bortoletto et al. (2015) realizam o monitoramento na bacia do rio Pirapó em distintos pontos de coleta no período de um ano. Neste estudo, a parte biológica (no caso, microrganismos) foi apenas um dos elementos entre 14 parâmetros físicos e químicos analisados.

Cunico et al (2012) utilizaram peixes como bioindicadores por meio da observação de padrões de composição de espécies e diversidade das assembleias de 10 riachos diferentes. Os diferentes níveis de urbanização ao qual os rios estavam expostos interferiram nas comunidades. Ribeiro et al. (2014) utilizaram-se de parasitas de peixes, avaliando sua prevalência, riqueza e abundância que, quando comparadas a outros trabalhos, sofreram alterações em ambientes degradados. Segundo os autores, tais mudanças necessitam de mais estudos para avaliar os fatores causais.

As amebas acelinídeos e euflifídeos foram utilizadas por Schwind et al. (2015) para testar as influências das condições ambientais na estrutura das comunidades. Os autores utilizaram o teste de Mantel e a Análise de Redundância para avaliar as respostas das amebas a perturbações ambientais, bem como os níveis de tolerância. Os resultados mostram que as duas comunidades de amebas respondem de modos diferentes às mesmas condições ambientais.

Zequi et al. (2019) coletaram macroinvertebrados de riacho durante períodos e pontos de coleta distintos. Os grupos indicadores de qualidade utilizados foram o EPT (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera) que, somados às análises físico-químicas, são bons indicadores de degradação ambiental, por serem organismos sensíveis às mudanças aquáticas que afetam diretamente a disponibilidade de alimentos.

Em geral, nota-se que os trabalhos possuem uma grande variedade de espécies sentinelas, em que, algumas são mais usuais quando comparadas a outras. Estudos abrangentes relacionados ao uso de bioindicadores podem alertar sobre os malefícios que as atividades antrópicas ocasionaram, por serem reflexos das condições ecossistêmicas, como por exemplo a extinção de espécies ou a inserção de espécies não nativas que alterariam as relações ecológicas estabelecidas. Neste sentido, distintos parâmetros complementares de monitoramento melhoram a capacidade de avaliação da qualidade de um ecossistema.

Com relação ao uso de seres vivos tendo a finalidade de prevenção/recuperação dos ambientes analisados, foram identificados oito artigos dos quais os únicos agentes biorremediadores foram as plantas, fungos e microorganismos. Mota et al. (2015) e Araújo et al. (2020) realizaram a biorremediação de distintos corantes têxteis em ambientes aquáticos por meio de enzimas de fungos de madeira branca. Mota et al. (2015) empregaram a lacase - e o estudo sobre seus metabólitos - em *G. lucidum*, enquanto Araújo et al. (2020) de enzimas (fenoloxidasas e peroxidasas) de *Trametes* sp. que possuem a capacidade de degradar a lignina.

Para avaliação da eficiência da técnica os autores utilizaram-se de parâmetros distintos, mas que possuíam etapas semelhantes. Mota et al. (2015), lançaram mão de ensaios de descoloração, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, espectroscopia fotoacústica, espectrometria de massa, avaliação de fitotoxicidade e análises estatísticas. Araújo et al. (2020), usaram espectrofotometria e cromatografia líquida, bioensaio de toxicidade, ensaio de bioissorção, análises de microscopia eletrônica de varredura e análise estatística. Já Bulla et al. (2017) buscaram a biorremediação de corantes têxteis por meio de duas cepas endofíticas: *Paecilomyces formosus* isolada de *Helianthus annuus* e *Phlebia* sp. isolado de *Piper hispidum*, esses organismos localizam-se no interior dos tecidos e órgãos de plantas colaborando nos processos de adaptação dos vegetais ao meio ambiente e possuem grande potencial biotecnológico por deterem características metabólicas únicas.

A aplicação de plantas e/ou parte de plantas foi observada nos trabalhos de Santos et al. (2010), Gerola et al. (2013) e Bongiovani et al. (2014). Estes acessaram sua atuação na floculação/coagulação, adsorção e como bioissorventes de águas de rios contaminados por compostos químicos. Bongiovani et al. (2014) utilizaram-se da *Moringa oleifera* juntamente com um polímero aniônico para a floculação/coagulação de partículas e matéria orgânica de águas residuais. Santos et al. (2010) e Gerola et al. (2013) aplicaram, respectivamente, o bagaço de cana de açúcar in natura e modificado quimicamente como alternativa bioissorvente para remoção de cobre e a casca de maracujá in natura e também modificada para avaliar a bioissorção de águas contaminadas por chumbo. Ambos os resultados foram semelhantes, demonstrando que os insumos modificados são mais eficientes. Tais iniciativas estabelecem formas mais sustentáveis de destinação dos rejeitos das plantas supracitadas.

O uso de microrganismos foi distinto nos trabalhos selecionados. Nakatani et al. (2011) avaliaram por meio de bactérias

do solo os resultados da aplicação de lodo de curtume com baixo teor de cromo em uma região agrícola, trazendo resultados positivos no que diz respeito à nutrição e fertilização do solo. Sella et al. (2011) aplicaram o fermentado de efluente de destilaria para a produção de esporos de indicadores biológicos, apresentando bons resultados para cultivos das cepas, no entanto é um tema que ainda necessita de mais estudos para aprimoramento das técnicas.

As medidas biotecnológicas possuem importante papel no que diz respeito a remediação e recuperação dos ambientes afetados, bem como no reaproveitamento de resíduos, uma vez que as fiscalizações em sua grande maioria referem-se apenas a medidas químicas. Estudos apontam a superioridade de agentes biológicos na atuação em locais impactados por proporcionarem melhor desempenho e custos inferiores (Furtado et al., 2020).

Os métodos citados possuem alto potencial para substituir tratamentos químicos que, além de serem mais caros, necessitam de longos períodos de tratamento, geram resíduos sólidos que são armazenados e posteriormente descartados - novamente ao meio ambiente - ou por não efetuarem a descontaminação completa, como ocorre com coagulantes inorgânicos, especialmente alumínio - que não é biodegradável - e ferro, que não são eficientes no processo de sedimentação. Logo, a utilização dos métodos empregados pelos autores trouxe alterações significativas na composição química, pH e turbidez da água, além de reduzir o tempo de sedimentação.

4. Conclusão

A presente revisão foi capaz de demonstrar que as instituições de pesquisa sediadas no Paraná têm participação efetiva na pesquisa ambiental desta região. Além disso, os pesquisadores vinculados a essas instituições, estabelecem bom número de parcerias, tanto nacionais quanto internacionais. A revisão também foi capaz de detectar que, para o monitoramento dos ambientes presentes no Norte do Paraná, diversas técnicas são aplicadas em consórcio. Abordagem essa capaz de revelar um maior número de informações acerca dos ambientes pesquisados. Pode-se notar ainda que os estudos relacionados à biotecnologia ambiental estão de acordo com as medidas e diretrizes propostas pela Política de Desenvolvimento em Biotecnologia.

Diversos tipos de organismos foram utilizados para o monitoramento dos ambientes, abrangendo diversos táxons, o que, inequivocamente, traz respostas mais abrangentes e aplicáveis de forma mais ampla à biota. De acordo com os dados obtidos, os biomarcadores mais utilizados foram os genéticos e histopatológicos e, com relação aos bioindicadores, as espécies empregadas com mais frequência foram as plantas e microrganismos.

Pode-se também destacar que o caráter interdisciplinar da biotecnologia tem a capacidade de monitorar, remediar e proteger os ecossistemas de modo eficiente, além de propor medidas que possuam bom custo-benefício se comparadas aos métodos convencionais aplicados. No entanto, a maioria dos trabalhos levantados é voltada à atuação em ambientes aquáticos, o que demonstra a necessidade de ampliação das pesquisas que também considerem os ecossistemas terrestres.

No futuro, uma nova revisão pode dedicar-se a compreender o papel da biotecnologia ambiental no estudo de ecossistemas terrestres, ajudando assim a conhecer as ferramentas, bioindicadores e biomarcadores mais responsivos a esses ecossistemas. De forma semelhante, tal revisão pode descrever as áreas ainda a serem exploradas e as contribuições da biotecnologia ambiental para tais ecossistemas.

Acredita-se que o progresso da biotecnologia e o desenvolvimento de novas tecnologias são importantes medidas a serem tomadas pelo poder público e pela sociedade em geral, principalmente no que concerne à recuperação de ambientes degradados.

Referências

- Araújo, C. A. V. de, Contato, A. G., Aranha, G. M., Maciel, G. M., Haminiuk, C. W. I., Inácio, F. D., ... & Souza, C. G. M. de. (2020). Biodiscoloration, Detoxification and Biosorption of Reactive Blue 268 by *Trametes* sp. M3: a strategy for the treatment of textile effluents. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231(7), 1-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-020-04723-7>.
- Barros, I. T., Ceccon, J. P., Glinski, A., Liebel, S., Grötzner, S. R., Randi, M. A. F., ... & Ribeiro, C. A. de O. (2017). Environmental risk assessment in five rivers of Parana River basin, Southern Brazil, through biomarkers in *Astyanax* spp. *Environmental Science And Pollution Research*, 24(19), 16228-16240. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-017-9186-z>.
- Brasil. (2007). *Decreto nº 6041, de 08 de fevereiro de 2007: Institui a Política de Desenvolvimento da Biotecnologia, cria o Comitê Nacional de Biotecnologia e dá outras providências*. Distrito Federal, DF. Disponível em: <https://bit.ly/3q9ldrU>. Acesso em: 23 de novembro de 2020.
- Bongiovani, M. C., Camacho, F. P., Nishi, L., Coldebella, P. F., Valverde, K. C., Vieira, A. M., & Bergamasco, R. (2014). Improvement of the coagulation/flocculation process using a combination of Moringa oleifera lam with anionic polymer in water treatment. *Environmental technology*, 35(17-20), 2227-2236. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.899398>
- Bortoletto, E. C., Silva, H. A., Bonifácio, C. M., & Tavares, C. R. G. (2015). Water quality monitoring of the Pirapó River watershed, Paraná, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 75(4), 148-157. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.00313suppl>
- Bulla, L. M. C., Polonio, J. C., Portela-Castro, A. L. de B., Kava, V., Azevedo, J. L., & Pamphile, J. A. (2017). Activity of the endophytic fungi *Phlebia* sp. and *Paecilomyces formosus* in decolourisation and the reduction of reactive dyes cytotoxicity in fish erythrocytes. *Environmental Monitoring And Assessment*, 189(2), 1-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-017-5790-0>.
- Cabral, A. F., Buosi, P. R. B., Segóvia, B. T., Velho, L. F. M., & Bini, L. M. (2017). Taxonomic sufficiency in detecting hydrological changes and reproducing ordination patterns: a test using planktonic ciliates. *Ecological Indicators*, 82, 227-232. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.07.008>.
- Costa, A. B., & Zoltowski, A. P. C. (2014). Como escrever um artigo de revisão sistemática. In: Koller, S., Couto, P. & Von Hohendorff, J. (Orgs). (2014). *Manual de Produção Científica*. Porto Alegre: Penso, 191 p.
- Cunico, A. M., Ferreira, E. A., Agostinho, A. A., Beaumord, A. C., & Fernandes, R. (2012). The effects of local and regional environmental factors on the structure of fish assemblages in the Pirapó Basin, Southern Brazil. *Landscape and Urban Planning*, 105(3), 336-344. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2012.01.002>.
- DECS, *Descritores em Ciências da Saúde*. (Acessado em 30 de novembro de 2020). Disponível em: <http://bit.ly/3i1BgVL>.
- Domingues, G., Dúsmán, E., & Vicentini, V. E. P. (2020). Cytotoxicity of Crude and Treated Liquid Effluents from Textile Industry Dyeing Using Bioindicator *Allium cepa* L. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231(9), 1-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-020-04818-1>.
- Florêncio, M. N. da S., Abud, A. K. de S., Costa, B. M. G., & Oliveira Junior, A. M. de. (2019). Um panorama da produção tecnológica sobre biotecnologia ambiental no Brasil. *International Symposium On Technological Innovation*, 10(1), 846-853. Disponível em: <https://bit.ly/38w2Vvj>.
- Freire, M. M., Santos, V. G., Ginuino, I. S. F., & Arias, A. R. L. (2008). *Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos*. Disponível em: <https://bit.ly/34Fiv3P>.
- Furtado, A. O., Almeida, I. V., Almeida, A. C. C., Zotesso, J. P., Tavares, C. R. G., & Vicentini, V. E. P. (2020). Evaluation of hospital laundry effluents treated by advanced oxidation processes and their cytotoxic effects on *Allium cepa* L. *Environmental Monitoring And Assessment*, 192(6), 1-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-020-08328-9>.
- Gavrilescu, M. (2010). *Environmental Biotechnology: Achievements, Opportunities and Challenges*. Global Science Books: Dynamic Biochemistry, *Process Biotechnology and Molecular Biology*. Disponível em: <https://bit.ly/3kuKo52>.
- Gerola, G. P., Boas, N. V., Caetano, J., Tarley, C. R. T., Gonçalves, A. C., & Dragunski, D. C. (2013). Utilization of Passion Fruit Skin By-Product as Lead(II) Ion Biosorbent. *Water, Air, & Soil Pollution*, 224(2), 1-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-013-1446-z>.
- Ghisi, N. de C., Oliveira, E. C. de, Fávaro, L. F., Assis, H. C. S. de, & Prioli, A. J. (2014). In situ assessment of a Neotropical fish to evaluate pollution in a river receiving agricultural and urban wastewater. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 93(6), 699-709. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-014-1403-6>.
- IPARDES, *Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social*. (Acessado em 02 de outubro de 2023). Disponível em: <https://www.ipardes.pr.gov.br/>.
- Mota, T. R., Kato, C. G., Peralta, R. A., Bracht, A., Morais, G. R. de, Baesso, M. L., ... & Souza, C. G. M. de. (2015). Decolourization of Congo Red by *Ganoderma lucidum* Laccase: evaluation of degradation products and toxicity. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(10), 1-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-015-2612-2>.
- Nakatani, A. S., Martines, A. M., Nogueira, M. A., Fagotti, D. S. L., Oliveira, A. G., Bini, D., ... & Cardoso, E. J. B. N. (2011). Changes in the genetic structure of Bacteria and microbial activity in an agricultural soil amended with tannery sludge. *Soil Biology And Biochemistry*, 43(1), 106-114. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.09.019>.
- Oliveira, L. F. de, Santos, C., & Martinez, C. B. dos R. (2016). Biomarkers in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* confined downstream a domestic landfill leachate discharge. *Environmental Science And Pollution Research*, 23(14). DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-6567-7>.
- Padial, A. A., Declerck, S. A. J., Meester, L. de, Bonecker, C. C., Lansac-Tôha, F. A., Rodrigues, L. C., ... & Bini, L. M. (2012). Evidence against the use of surrogates for biomonitoring of Neotropical floodplains. *Freshwater Biology*, 57(11), 2411-2423. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/fwb.12008>.

- Reis, D. E. S., Rodrigues, R., Moldowan, J. M., Jones, C. M., Brito, M., Cavalcante, D. C., & Portela, H. A. (2018). Biomarkers stratigraphy of Irati Formation (Lower Permian) in the southern portion of Paraná Basin (Brazil). *Marine and Petroleum Geology*, 95, 110-138. <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2018.04.007>.
- Rocha, C. T., & Souza, M. M. (2011). The Influence of Lead on Different Proteins in Gill Cells From the Freshwater Bivalve, *Corbicula fluminea*, From Defense to Repair Biomarkers. *Archives Of Environmental Contamination And Toxicology*, 62(1), 56-67. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00244-011-9675-x>.
- Rodrigues, L. C., Simões, N. R., Bovo-Scomparin, V. M., Jati, S., Santana, N. F., Roberto, M. C., ... & Train, S. (2015). Phytoplankton alpha diversity as an indicator of environmental changes in a neotropical floodplain. *Ecological Indicators*, 48, 334-341. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.08.009>.
- Santos, V. C. G. dos, Souza, J. V. T. M. de, Tarley, C. R. T., Caetano, J., & Dragunski, D. C. (2010). Copper Ions Adsorption from Aqueous Medium Using the Biosorbent Sugarcane Bagasse In Natura and Chemically Modified. *Water, Air, & Soil Pollution*, 216(1-4), 351-359. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-010-0537-3>.
- Schwind, L. T. F., Arrieira, R. L., Dias, J. D., Simões, N. R., Bonecker, C. C., & Lansac-Tôha, F. A. (2015). The structure of planktonic communities of testate amoebae (Arcellinida and Euglyphida) in three environments of the Upper Paraná River basin, Brazil. *Journal Of Limnology*, 1(75), 78-89. DOI: <http://dx.doi.org/10.4081/jlimnol.2015.1180>.
- Segovia, B. T., Lansac-Toha, F. M., Meira, B. R. de, Cabral, A. F., Lansac-Tôha, F. A., & Velho, L. F. M. (2016). Anthropogenic disturbances influencing ciliate functional feeding groups in impacted tropical streams. *Environmental Science And Pollution Research*, 23(19), 20003-20016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7185-0>.
- Sella, S. R. B. R., Guizelini, B. P., Zanello, P. H., Vandenberghe, L. P. S., Ribeiro, C. A. O., Minozzo, J. C., ... & Socoli, C. R. (2011). Development of a low-cost sterilization biological indicator using *Bacillus atrophaeus* by solid-state fermentation. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 93(1), 151-158. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-011-3491-0>.
- Silva, M. D. da, Rossi, S. C., Ghisi, N. de C., Ribeiro, C. A. de O., Cestari, M. M., & Assis, H. C. S. de. (2014). Using Multibiomarker Approach as a Tool to Improve the Management Plan for a Private Reserve of Natural Heritage (RPPN). *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 92(5), 602-608. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-014-1230-9>.
- Simonato, J. D., Mela, M., Doria, H. B., Guiloski, I. C., Randi, M. A. F., Carvalho, P. S. M., ... & Martinez, C. B. R. (2016). Biomarkers of waterborne copper exposure in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Aquatic Toxicology*, 170, 31-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.012>.
- Spadotto, C. A., Gomes, M. A. F., Luchini, L. C., & Andréa, M. M. de. (2004). Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações. *Jaguariúna: Embrapa*. Disponível em: <https://bit.ly/3nGjed8>. Acesso em: 19 de novembro de 2020.
- Vieira, C. E. D., Costa, P. G., Caldas, S. S., Tesser, M. E., Risso, W. E., Escarrone, A. L. V., ... & Martinez, C. B. dos R. (2019). An integrated approach in subtropical agro-ecosystems: active biomonitoring, environmental contaminants, bioaccumulation, and multiple biomarkers in fish. *Science Of The Total Environment*, 666, 508-524. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.209>.
- Zequi, J. A. C., Espinoza, A. A., Paccola, J. A., & Lopes, J. (2019). Aquatic insect communities in small stream in the south of Brazil. *Environmental Monitoring And Assessment*, 191(7), 1-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-019-7536-7>.