

USO DE BIOINDICADORES NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE AMBIENTAL

Mariana Silveira Guerra Moura e Silva, Marcos Eliseu Losekann, Alfredo José Barreto Luiz, Artur Jordão de Magalhães Rosa, Ana Maria Cirino Ruocco, Claudio Martín Jonsson, Cristiano Campos Mattioli, Everton Santos Dias, Hamilton Hisano, Hugo Henrique Lanzi Saulino, Josilaine Taeco Kobayashi, Kathia Cristhina Sonoda, Simone de Souza Prado, William Viveiros, João Roberto Correia, Renato Berlim Fonseca, Rafaela Fernandes Zanesco e Herbert Cavalcante de Lima

INTRODUÇÃO

Um indicador biológico, ou bioindicador, é um táxon/taxa selecionado com base em sua sensibilidade a algum carácter particular, que é avaliado para inferir algum atributo do meio em que ele vive. Assim, um organismo bioindicador, ou uma comunidade bioindicadora, pode substituir a mensuração direta de uma característica abiótica ou com relação à outra biota onde ele convive (Oertel; Salánki, 2003). Estes podem ser avaliados com base em presença/ausência, abundância relativa, sucesso reprodutivo, estrutura da comunidade (p. ex., composição e diversidade), função comunitária (estrutura trófica ou qualquer outra combinação) (Moog et al., 2018).

Este capítulo apresenta as diversas aplicações da ferramenta de biomonitoramento desenvolvidas em projetos de pesquisa da Embrapa Meio Ambiente nos últimos 20 anos. Os projetos e trabalhos relacionam-se à avaliação de impactos resultantes de atividades agropecuárias que afetam ecossistemas terrestres e aquáticos.

BIOINDICADORES TERRESTRES

Bioindicadores terrestres são amplamente utilizados como indicadores de conservação/degradação de ambientes terrestres, ou seja, são capazes de evidenciar os impactos do manejo em determinados habitats, tais como alteração, destruição, contaminação, reabilitação, sucessão da vegetação, mudanças climáticas e, conseqüentemente, degradação dos solos e ecossistemas. A presença de determinados organismos em um habitat fornece informações sobre a situação ambiental a partir de suas reações quando expostos a diferentes tipos de degradação ambiental (Allaby, 1992; Mazzoni-Viveiros;

Trufem, 2004). As espécies bioindicadores são divididas em indicadoras ambientais, ecológicas e de diversidade, cada um indicando alguma sensibilidade e/ou mudança no ambiente ou na biodiversidade. Os indicadores mais comumente utilizados são de qualidade e integridade ambiental (42%), de poluição e contaminação (18%) e de gestão e restauração de ecossistemas (18%) (McGeoch, 1998; Tibcherani et al., 2018).

Em geral, os trabalhos com invertebrados correspondem a aproximadamente 30% dos trabalhos com bioindicadores (Siddig et al., 2016; Tibcherani et al., 2018). Os insetos utilizados como bioindicadores terrestres destacam-se por ter taxonomia, ciclo e biologia bem conhecidos, apresentar características de ocorrência em diferentes condições ambientais ou ser restritos a determinadas áreas. Um fator limitante ao uso de bioindicadores sempre esteve atrelado à falta de taxonomistas especialistas em determinadas espécies, no entanto, após o desenvolvimento e a utilização de ferramentas de biologia molecular, esse problema foi contornado, impulsionando estudos que fazem uso de bioindicadores.

Entre os insetos terrestres utilizados como bioindicadores, encontram-se espécies pertencentes às ordens Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera e Orthoptera, entre outras (Brown, 1997; Oliveira et al., 2014). Esses insetos estão relacionados a diversas atividades importantes, como a ciclagem de nutrientes, a decomposição, a produtividade secundária, a polinização, o fluxo de energia, a predação, a dispersão de sementes e a regulação das populações de plantas e de outros organismos (Price, 1984).

A ordem Coleoptera (besouros) é considerada a maior em termos de riqueza de espécies e apresenta elevada abundância de indivíduos nos mais diversos ecossistemas, podendo ser classificados como pragas agrícolas, polinizadores, dispersores de sementes, predadores e decompositores de matéria orgânica, formando, portanto, um maior grupo de insetos utilizados como bioindicadores de poluição do solo e poluição por metais. Besouros das famílias Carabidae, Cerambycidae, Chrysomelidae, Curculionidae e Elateridae destacam-se como bioindicadoras, principalmente por responderem rapidamente à modificação ou à fragmentação do ambiente (Didham, 1998; Triplehorn; Johnson, 2011; Oliveira et al., 2014; Sajjad, 2020).

Outra ordem de interesse de bioindicadores é a dos Hymenoptera, representados por abelhas, formigas e vespas. Esses insetos destacam-se pelas interações simbióticas que mantêm com outros grupos de organismos (parasitismo, predação, polinização, dispersão). De modo geral, os insetos desse grupo são sensíveis às mudanças ecológicas, principalmente àquelas referentes à estrutura, à composição da vegetação e, também, aos resíduos de moléculas de inseticidas, de fungicidas e de poluentes encontrados nas plantas. Essa sensibilidade tem sido utilizada como ferramenta para avaliar a qualidade dos ecossistemas em áreas de mineração e de agricultura e até mesmo em áreas urbanas (Lambert et al., 2012; Oliveira et al., 2014).

Insetos da ordem Diptera estão amplamente distribuídos em todos os continentes e em ambientes aquáticos, com alta capacidade de colonização, principalmente no estágio larval (Courtney; Merritt, 2008; Oliveira et al., 2014). São conhecidos como moscas, mosquitos e mutucas, e são importantes como decompositores, polinizadores e controladores biológicos (Triplehorn; Johnson, 2011; Oliveira et al., 2014).

Os insetos da ordem Lepidoptera também têm sido considerados bioindicadores, atuando em ecossistemas florestais e agrícolas como desfolhadores, decompositores, presas e hospedeiros de animais. Os acidentes ambientais, tais como desmatamento e queimadas, têm sido um dos fatores que afetam a riqueza, a abundância e a uniformidade da fauna de lepidópteros em diversas áreas do mundo (Hill et al., 1995; Spitzer et al., 1997).

Outro grupo de inseto que pode se destacar como bioindicador terrestre é o grupo dos cupins. Esses insetos pertencem à ordem Isoptera e são classificados como insetos sociais, porque vivem organizados em sistema de castas de indivíduos, podendo ser ápteros (sem asas) ou alados. Esses insetos contam com menos espécies descritas em relação às ordens mencionadas anteriormente, sendo a maioria encontrada em regiões tropicais e subtropicais. As principais espécies de cupins pertencem às famílias Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae, sendo que a maior parte dos insetos coletados e registrados no Brasil pertencem à família Termitidae. Em altas infestações, os cupins são conhecidos por sua importância econômica como pragas de madeira e de outros materiais celulósicos. Os cupins, além de auxiliar na formação de matéria orgânica no solo, também ajudam a melhorar a qualidade física, haja vista os inúmeros túneis construídos por eles abaixo da superfície do solo. Apesar de serem conhecidos como pragas, somente uma pequena parte (em torno de 10%) pode causar danos econômicos (Melo; Silva, 2008; Prado, 2015). Dadas as dificuldades encontradas em avaliações desses insetos de hábitos subterrâneos, a Embrapa Meio Ambiente desenvolveu o método de amostragem de cupins utilizando iscas de papelão corrugado (Melo; Silva, 2008).

A isca em forma de rolos de papelão corrugado de 20 cm de comprimento e 8 cm de diâmetro são inseridas em buracos de 20 cm feitos no solo com a ajuda de um trado, deixando livre a extremidade superior. Melo e Silva (2008) utilizaram essas iscas em um experimento sobre o impacto do uso de lodo de esgoto em cultura de milho, localizado na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna (SP), onde se testaram quatro doses de lodo (1N, 2N, 4N e 8N), com base na necessidade de nitrogênio pela cultura, comparadas com adubação convencional (NPK) e testemunha sem adubação (0). As iscas mostraram-se eficientes, pois coletaram as espécies *Rhynchotermes* sp. e *Syntermes* sp. nos tratamentos NPK, Lodo 1N e Lodo 2N, mostrando que essas espécies poderiam constituir bioindicadoras de qualidade do solo.

BIOINDICADORES AQUÁTICOS

Macroinvertebrados bentônicos

O termo “bioindicadores” foi criado por Kolkwitz e Marson (1909) ao se referirem a organismos aquáticos influenciados pela presença de poluição orgânica, em especial, esgoto doméstico.

A abordagem investigativa com uso de bioindicadores torna-se extremamente útil quando as condições ambientais são altamente variáveis e, principalmente, quando se torna difícil ou custoso obter essas medidas de maneira mais acurada (Rosenberg; Resh, 1993, 2010). Nesse contexto, as medições de variáveis químicas da água destacam-se como um bom exemplo desse caso, pois nelas ocorrem mudanças espaciais e temporais muito rápidas. Assim, as coletas de dados físico-químicos possibilitam somente uma mera caracterização momentânea do estado da qualidade do ambiente. Uma vez que alguns eventos são impossíveis de serem observados diretamente, a abordagem com uso de bioindicadores possibilita uma inferência das alterações ocorridas (Singh; Singh, 2020). Um bom exemplo são as mudanças na estrutura das comunidades de diatomáceas (algas), que, muitas vezes, podem indicar alteração de pH em um reservatório (Saxena et al., 2021) ou a determinação da concentração de mercúrio nos tecidos moles de peixes como possível indicador de contaminação por atividades de mineração (Nyeste et al., 2019).

Os macroinvertebrados aquáticos estão entre os principais grupos bioindicadores de alterações dos ecossistemas aquáticos, principalmente os de água doce, o que vem resultando em sua inclusão em diretrizes nacionais e internacionais para gestão do monitoramento da biodiversidade dos ecossistemas de água doce (Eriksen et al., 2021; Sumudumali; Jayawardana, 2021). Sua importância deve-se a sua atuação nos processos de decomposição da matéria orgânica morta, ciclagem de nutrientes (Sonoda, 2010a) e transferência de energia entre os diferentes níveis que estruturam diversas redes tróficas (Hauer; Resh, 2017). Geralmente, o estágio de vida sensitivo dos macroinvertebrados é a fase larval, a qual representa o período mais longo. Tal característica permite-lhes integrar os efeitos de variações de respostas às alterações ambientais em períodos curtos, resultando em informações relevantes para a interpretação de efeitos acumulativos (Johnson et al., 2012). Além disso, as comunidades de macroinvertebrados são formadas por diversas espécies, as quais apresentam uma ampla faixa de tolerância à poluição. A estrutura da comunidade muda frequentemente em resposta às alterações ambientais (Sonoda et al., 2009a; Moura e Silva et al., 2010; Sonoda et al., 2011, 2018a, 2018b), geralmente em formas previsíveis, as quais permitem o desenvolvimento de um biocritério para avaliar as influências antropogênicas (Rosenberg; Resh, 2010). Por exemplo, em córregos e rios poluídos por matéria orgânica ou metais,

a riqueza e a diversidade de macroinvertebrados são fortemente reduzidas. Em geral, as abundâncias do gênero *Chironomus* (Chironomidae □ Diptera) e oligoquetos da subfamília Tubificinae (Annelidae) aumentam sob o decréscimo de grupos mais sensíveis, tais como as ordens Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera (Xu et al., 2014).

Biomonitoramento com uso de macroinvertebrados aquáticos

Entre as principais métricas avaliadas em estudos de biodiversidade, destacam-se os índices de diversidade (p. ex., Shannon, Margalef e Simpson) e os índices bióticos, que combinam as abundâncias relativas (Sonoda, 2010b) sob a perspectiva de grupos taxonômicos sensíveis ou tolerantes em índices ou escores, as quais diferem de acordo com o tipo de ambiente e influência antrópica (Sonoda et al., 2009b). Entre os índices bióticos mais conhecidos, destacam-se: *Biological Monitoring Working Party* (BMWP), *Index of Biological Integrity* (IBI) e índice de Hilsenhoff. Abordagens multimétricas, que visam integrar um conjunto de variáveis, as quais representam diversos atributos estruturais e funcionais de um ecossistema, também são empregadas em inferências ecológicas. Já as multivariadas foram inicialmente introduzidas para avaliar o *status* biológico. Essa abordagem emprega análise estatística para prever padrões específicos de fauna, em que são esperadas as ausências em locais impactados comparada com aquelas em locais de referência.

Abordagens funcionais, como as análises de grupos alimentares, são componentes-chave para o Conceito de Rio Contínuo (River Continuum Concept - RCC) (Van note et al., 1980). Os grupos alimentares têm sido mais comumente utilizados para as análises comparativas de abundâncias absolutas, abundâncias relativas, razões entre dois grupos ou índices compostos que incluem diferentes níveis tróficos. A seleção de abordagem apropriada para análise de comunidades de macroinvertebrados aquáticos dependerá da questão a ser analisada e dos recursos disponíveis.

Resolução taxonômica

Os trabalhos de biomonitoramento utilizando macroinvertebrados aquáticos têm utilizado, em sua maioria, as categorias taxonômicas família ou classe. Essa ausência de refinamento taxonômico em nível de espécie é um limitante na utilização de macroinvertebrados nos trabalhos de biomonitoramento, uma vez que em uma mesma família ou classe podem existir gêneros ou espécies que respondem de maneira diferente às variações ambientais, o que pode influenciar os resultados de tais estudos. Um dos fatores que contribui para esse “gargalo” taxonômico é a dificuldade de se encontrarem especialistas disponíveis para os diferentes grupos taxonômicos (Landeiro et al., 2012). Outro fator que dificulta o refinamento taxonômico em categorias mais

específicas é o baixo número de espécies com estágios imaturos associados. Na ordem Trichoptera por exemplo, das pouco mais de 15.000 espécies descritas no mundo, somente 2% apresentam os estágios imaturos conhecidos (Holzenthal et al., 2007).

Diversos estudos têm explorado abordagens multivariadas a fim de corroborar as respostas de diferentes níveis de classificação taxonômica de macroinvertebrados aquáticos. Em geral, as conclusões são que a classificação em nível de família apresenta uma boa resposta aos impactos, no entanto, tal resultado só é obtido quando as comunidades são analisadas em grandes escalas espaciais (p. ex., bacias hidrográficas e biomas) e em consideração à dimensão das alterações sob os ambientes aquáticos (p. ex., uso da terra, desmatamento) (Buss; Vitorino, 2010). O uso de níveis taxonômicos de menor resolução poderia levar à perda de informações e a generalizações dos aspectos ecológicos, impedindo, assim, que se analise a extensão de mudanças comunitárias mais sutis (Orlofske; Baird, 2013).

DNA Barcoding

A obtenção de dados taxonômicos detalhados é um desafio decorrente, entre outros fatores, de recursos taxonômicos limitados, espécies crípticas, tamanho pequeno, espécimes danificados e polimorfismo, que podem dificultar ou impossibilitar a identificação ao nível da espécie. O método conhecido por em código de barras de DNA (DNA barcoding) vem sendo visto como uma alternativa à taxonomia morfológica, podendo ser utilizado rotineiramente no biomonitoramento (Hebert et al., 2003, 2004; Stoeckle; Hebert, 2008; Borisenko et al., 2009; Janzen et al., 2009). O código de barras é um método de identificação de táxons com base na avaliação de uma região do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI) de 658 pares de bases (bp) (Hebert et al., 2003) e comparação com as sequências de uma biblioteca referência, como os sistemas Barcode of Life Data (Ratnasingham; Hebert, 2007) e NCBI (Altschul et al., 1990). Assim como qualquer técnica relativamente nova, o código de barras de DNA apresenta potenciais vantagens e desvantagens. As vantagens incluem o potencial para obter identificações taxonômicas em menos tempo e o potencial para aumento da sensibilidade da métrica associado à resolução taxonômica melhorada (Waite et al., 2004, Chessman et al., 2007). Desvantagens potenciais incluem a necessidade de desenvolver e manter a capacidade de realizar extração de DNA e sequenciamento genético, a dependência da existência de bibliotecas de referência robustas e a capacidade bioinformática de gerenciamento de dados.

Como exemplo, Zhou et al. (2010) empregaram código de barras DNA, o que resultou em um aumento de cinco vezes no número de táxons de Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera (EPT), sendo que as melhorias foram mais marcantes para espécies raras, as quais podem ser indicadoras de habitat específico ou condições de quali-

dade da água. Pilgrim et al. (2011) detectaram até três vezes mais larvas de táxons de EPT, que foram previamente documentadas na região de Maryland (Estados Unidos). Sweeney et al. (2011) verificaram que, ao calcular a média de todas as ordens de insetos aquáticos, apenas 51% dos espécimes que foram identificados em nível de espécie pelo código de barras puderam ser identificado por taxonomistas especialistas, em decorrência de dificuldades como condição de preservação do espécime, tamanho, nível de maturidade ou falta de chaves taxonômicas.

BIOMONITORAMENTO EM BACIAS HIDROGRÁFICAS (COMUNIDADE DE INSETOS AQUÁTICOS: AVALIAÇÃO DE IMPACTOS AGRÍCOLAS E DE USO DA TERRA)

Em teoria, quanto maior for a diversidade de micro-habitats em um trecho de rio, maior será a biodiversidade aquática. Assim, alterações antrópicas, como a erosão das margens e o assoreamento, tendem a homogeneizar o leito dos rios, levando à perda ou diminuição da riqueza taxonômica (Silveira, 2004). Agrotóxicos que entram nos rios, principalmente naqueles sem mata ciliar, também podem causar impactos significativos, alterando a estrutura da comunidade bentônica. O projeto Bacia dos rios Camanducaia e Jaguari (BACAJA), com área de estudos entre Minas Gerais e São Paulo, buscou avaliar o impacto de atividades agrícolas sobre a qualidade da água em rios de cabeceira. Os municípios estudados foram: Monte Verde (MG), Extrema (MG) e Munhoz (SP). Apesar de a qualidade físico-química da água ter se mostrado boa em todos os pontos (oxigênio dissolvido maior que 6 mg/L), a fauna macrobentônica apresentou redução da riqueza de táxons nos locais mais impactados (47 táxons em Monte Verde, local mais preservado, contra 35 no local mais impactado, Toledo). Além disso, o número de táxons considerados sensíveis a impactos (Ordens Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera, EPT) foi maior no local mais preservado (15,9% em Monte Verde; 9,3% em Extrema; e 7,6% em Munhoz). De maneira análoga, em outro projeto com participação da Embrapa Meio Ambiente, financiado pela Fapesp, observou-se maior participação da família Calamoceratidae (ordem Trichoptera) em locais com mata ciliar preservada do que em locais sem mata ciliar (Moura; Silva et al., 2010). Essa família é fragmentadora, e as larvas desse inseto aquático utilizam as folhas que caem nos córregos como recurso de alimento e para construção de seus abrigos.

Tais pesquisas evidenciam a aplicabilidade do uso dos macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores de qualidade de água e da saúde ambiental em bacias hidrográficas (Silveira, 2004; Sonoda 2010a, 2010c; Monteles et al., 2021). Seu uso tem várias vantagens, por exemplo, o aspecto relativamente sésil dos animais, o que permite que sirva de testemunha de impactos por um tempo relativamente longo. Junto

com as medidas físico-químicas de qualidade de água, fornecem um diagnóstico mais preciso da situação ambiental do corpo d'água.

Biomonitoramento na aquicultura: viveiros escavados

No Brasil, a aquicultura iniciou-se em meados da década de 1970 com a produção de alevinos para o peixamento da tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*), vindo a se firmar como atividade empresarial após dez anos, com o surgimento de empreendimentos pioneiros (Figueiredo Júnior; Valente Júnior, 2008). A tilápia-do-nylo, assim como diversas espécies de ciclídeos, tem apresentado um aumento contínuo na produção mundial, representando 1,6 milhões de toneladas. Apesar de ser uma espécie exótica, a tilápia-do-nylo se adaptou muito bem às condições ambientais do país, sendo atualmente produzida em diversos estados brasileiros, dos quais se destacam o Ceará e o Paraná. Segundo levantamento de 2004, esses estados apresentaram uma produção de 18.000 e 12.000 toneladas/ano, respectivamente, representando quase 45% da produção no Brasil (Figueiredo Júnior; Valente Júnior, 2008).

Todavia, é importante ressaltar que a atividade aquícola pode acarretar alterações na qualidade da água dos reservatórios e impactar, inclusive, a própria produção pesqueira. O processo de eutrofização é um exemplo no qual ocorre a redução do oxigênio dissolvido na água (Simões et al., 2008; Mallasen et al., 2012; Rosini et al., 2019), influenciando a sanidade do peixe, a qualidade do produto e a eficiência do sistema produtivo. Assim, são importantes o aperfeiçoamento do manejo e a gestão ambiental nesse setor, a fim de assegurar uma ampliação sustentável da aquicultura no país.

Em sistemas de produção de peixes, poucos estudos utilizam a fauna bentônica como bioindicadora da qualidade da água; na maioria das vezes, os estudos referem-se aos impactos a jusante das propriedades da aquicultura (Stephens; Farris, 2004; Ansah et al., 2013). Não existem protocolos ou índices baseados em organismos bentônicos desenvolvidos especialmente para viveiros de peixes no Brasil. Também existem poucos estudos baseados na colonização de macroinvertebrados em viveiros de peixes (Řezníčková et al., 2016). Nesse contexto, a Embrapa Meio Ambiente tem realizado estudos exploratórios em áreas de cultivo localizadas em viveiros escavados no interior paulista (municípios de Mogi Mirim e Itapira) e em grandes reservatórios, como os de Ilha Solteira (SP/MS) e Chavantes (SP/PR), nos quais se encontram as criações por meio do uso de tanques-rede.

No estudo em viveiros escavados, quatro produtores de tilápia foram acompanhados por três meses quanto à avaliação quinzenal da qualidade físico-química da água e quanto às comunidades macrobentônicas colonizadoras de substrato artificial. Os coletores utilizados continham brita, argila expandida e bucha vegetal, envoltos em sacos de fruta de náilon de 5 kg (Figura 12.1).



Foto: Mariana Silveira G. M. Silva

Figura 12.1. Produtor de tilápia com coletor com substrato artificial para uso do biomonitoramento.

A cada 15 dias, os coletores eram retirados e trocados por novos coletores em três áreas dos viveiros: entrada da água, meio do viveiro e saída da água. Os principais resultados indicaram uma dominância muito alta de Chironomidae (acima de 85% em todos os coletores). Porém, alguns táxons considerados mais sensíveis, como a família Polycentropodidae (Ordem Trichoptera), estavam presentes em pisciculturas com águas de melhor qualidade e com presença de mata ciliar no ambiente de entorno (pisciculturas B e D) (Figura 12.2)

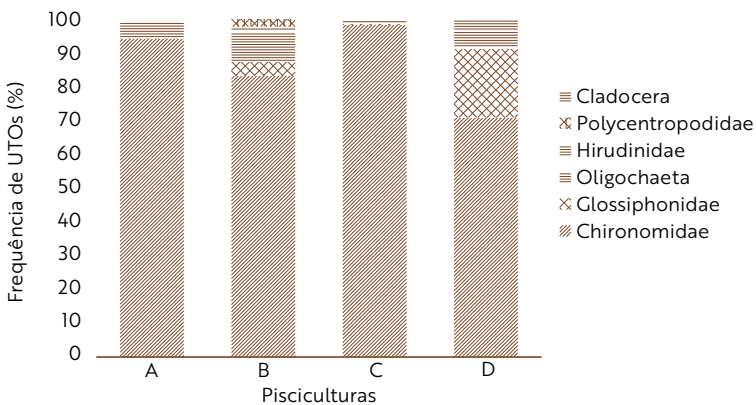


Figura 12.2. Frequência de UTOs de macroinvertebrados bentônicos em fazendas com produção de tilápia-do-nilo em viveiros escavados no interior paulista.

Apesar da eficácia dos coletores de substrato artificial no monitoramento desse sistema de produção, é necessário aumentar a área de estudo e incluir pisciculturas com maior amplitude de qualidade de água para que a ferramenta do biomonitoramento seja avaliada com segurança na aquicultura de viveiros escavados.

O desenvolvimento de ferramentas de monitoramento efetivas depende de encontrar métricas que sejam capazes de detectar os impactos ambientais mais importantes (Ávila et al., 2018), embora a maioria das pesquisas ainda seja voltada a estudar os impactos sobre ambientes naturais. Entretanto, na prática da aquicultura, tanto em tanques escavados quanto em tanques-rede, além do objetivo de estudar o impacto da produção aquícola sobre o ambiente natural, o produtor e a sociedade querem também conhecer os impactos da qualidade da água e de todo o ambiente aquícola sobre a atividade produtiva. E, muitas das vezes, o ambiente já não é natural, ou seja, os tanques escavados, por exemplo, são ambientes artificialmente criados pelo produtor para sua atividade produtiva.

É preciso, então, desenvolver ferramentas adequadas tanto na execução de pesquisas como, depois, para uso prático na avaliação da qualidade da água nos ambientes de produção aquícola. Nesse sentido, do ponto de vista quantitativo, o desenvolvimento de métricas e de índices baseados em bioindicadores tem sido uma preocupação da pesquisa na Embrapa Meio Ambiente. Como fruto desses esforços, já foram alcançados alguns resultados, como no estudo de tamanho de amostras (Luiz et al., 2018), o uso de métricas para análise de dados (Silva et al., 2016; 2018), a aplicação e avaliação de um índice qualitativo (BMWP) já consagrado em aplicações biológicas (Dias et al., 2018) e o desenvolvimento inicial de um índice de qualidade de água para piscicultura (IQAp) com base em dados coletados a campo (Silva et al., 2018).

O BIOMONITORAMENTO NA AQUICULTURA: TANQUES-REDE

Nos reservatórios de Ilha Solteira (SP/MS) e Chavantes (SP/PR), foram avaliadas seis áreas com distintas infraestruturas de produção de tilápia, tamanho do empreendimento e manejo empregado. As metodologias seguiram de acordo com as características pertinentes aos diferentes sistemas, envolvendo, respectivamente, e coletas de sedimento de fundo com pegadores do tipo “dragas” e em áreas de produção (abaixo dos tanque-rede), além de locais considerados referência, ou seja, fora da área de influência das pisciculturas (Figura 12.3).



Fotos: Mariana S. G. M. Silva

Figura 12.3. (A) Coleta de sedimento no reservatório de Chavantes, utilizando a draga de Ekman-Birge. (B) – Tanques-rede dispostos no reservatório de Chavantes. (C) Pontos de coleta no reservatório de Ilha Solteira.

Os resultados obtidos em reservatórios indicaram que o cultivo de tilápias promove uma alteração na composição e na estrutura da comunidade de macroinvertebrados bentônicos nas áreas de produção, e o tamanho da propriedade não foi o fator determinante para tal alteração.

Considerando as limitações de resolução taxonômica abordada anteriormente (uso de níveis mais gerais, p. ex., famílias de macroinvertebrados), abordagens de análise de impacto da piscicultura em áreas de reservatórios que incluam uma amostragem de maiores dimensões espaciais, incluindo bacias hidrográficas de diferentes reservatórios, e também na produção de tanques-rede (p. ex., grandes produtores) poderiam apresentar resultados mais indicativos da influência do cultivo da tilápia-do-nilo nos rios brasileiros. Acrescentando as abordagens de análises múltiplas e funcionais, a agregação de informação da paisagem não menos importantes, como a composição do uso da terra e os tipos de vegetação nativa, poderiam somar informações para a gestão dos parques aquícolas. Isso é justificado pelo fato de as variáveis da paisagem, em especial as composições dos diferentes usos da terra nas bacias hidrográficas, terem desempenhado um importante papel na conservação dos recursos hídricos dos parques aquícolas. Assim, com o desenvolvimento de pesquisas interdisciplinares voltadas ao contexto de ecologia aquática aplicada, o uso de comunidades de macroinvertebrados indicadores poderá contribuir com maior acurácia na sustentabilidade da piscicultura nos reservatórios do país.

UTILIZAÇÃO DE MICROCRUSTÁCEOS NA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE LODOS COM POTENCIAL USO AGRÍCOLA

Os microcrustáceos são componentes importantes das cadeias alimentares no ecossistema aquático. É relevante, portanto, determinar a sensibilidade desses organismos a contaminantes ambientais e, paralelamente, selecionar espécies sensíveis como organismos-teste para auxiliar no estabelecimento de níveis permissíveis nos corpos de água (Karpowicz et al., 2020).

O lodo proveniente de estações de tratamento de águas residuárias pode fornecer diversos nutrientes essenciais para plantas, especialmente o nitrogênio. Portanto, uma das principais alternativas para a disposição final desses resíduos é sua utilização na agricultura como fertilizante (Lobo et al., 2013).

Metais e agentes tóxicos de natureza orgânica, como fenóis, benzenos, antracenos, alquilbenzenos lineares sulfonados e outros, podem constituir fontes de contaminação dos lodos, dependendo da natureza (Paraíba; Saito, 2005; Babel; Dacera, 2006). Assim, as comunidades aquáticas podem ser diretamente impactadas pela contaminação de recursos hídricos a partir de práticas agrícolas que utilizem lodos como fertilizante (Shefali et al., 2021).

Nesse cenário, realizou-se estudo em que se utilizou lodo proveniente de duas estações de tratamento de esgoto: estação de Franca (SP), que recebe esgotos estritamente domésticos, e estação de Barueri (SP), que, além de esgotos domésticos, recebe esgotos industriais (Jonsson; Maia, 2007). O estudo teve como objetivo avaliar o efeito adverso, em curto (72 horas) e longo prazo (14 dias), do lodo dessas duas estações de tratamento sobre o microcrustáceo *Daphnia similis*. A metodologia para avaliação da toxicidade em longo prazo de exposição está descrita abaixo.

Foram utilizados organismos jovens, com idade inferior a 24 horas, do microcrustáceo *Daphnia similis* cultivados em água reconstituída, preparada segundo o método de Hosokawa et al. (1991) e enriquecida com micronutrientes (Elenedt; Bias, 1990).

As culturas foram mantidas sob temperatura de 20 °C + 2 °C, luminosidade de aproximadamente 1.000 lux e em água com as seguintes características físico-químicas: pH = 7,8; dureza total = 111 mg L⁻¹ CaCO₃ e condutividade = 0,38 mS cm⁻¹.

Em recipientes de vidro medindo cerca de 14,5 cm de altura e 7,5 cm de diâmetro, foram adicionadas 1 ou 5 g de lodo (peso úmido) e 500 mL de água reconstituída. Efetuou-se adição vagarosamente, de modo a evitar ao máximo a suspensão do material-teste na coluna de água. As concentrações de 2 e 10 g L⁻¹ resultantes foram preparadas em réplicas de oito recipientes. Recipientes como controle continham água de diluição isenta de material-teste. Cada recipiente recebeu 12 organismos que foram expostos às condições de temperatura e luminosidade descritas anteriormente. Os recipientes foram aerados pela introdução de mangueira com pedra porosa acoplada em minicompressor.

O estudo teve duração de 14 dias, sendo a renovação do conteúdo dos recipientes realizada três vezes por semana. Para cada renovação, registrou-se o número de organismos que apresentavam mobilidade em cada recipiente e calculou-se a porcentagem de imobilidade.

Com o objetivo de verificar a toxicidade dos compostos orgânicos presentes no lodo com maior toxicidade (Barueri), foram realizados testes de toxicidade com curto prazo de exposição com o extrato orgânico e com o resíduo da extração, cuja metodologia está descrita a seguir.

Pesaram-se 12 g de lodo (peso úmido), o qual foi extraído com duas porções de 20 mL de acetona, sob agitação durante cinco minutos. A fase orgânica foi transferida para um balão de fundo redondo e totalmente evaporada a 35 °C em um rotaevaporador. O extrato seco resultante foi, então, ressuspense em 0,3 mL de acetona. O resíduo remanescente da extração foi separado.

Avaliaram-se cinco tratamentos em um volume total de 500 mL de meio, descritos a seguir: controle (T_1) – água reconstituída; controle + acetona (T_2) – água reconstituída + 50 µL de acetona; extrato orgânico (T_3) – água reconstituída + 50 µL de extrato orgânico; resíduo (T_4) – água reconstituída + 2 g do resíduo da extração; e lodo (T_5) – água reconstituída + 2 g de lodo (peso úmido).

Doze organismos-teste foram colocados em cada recipiente. O experimento foi realizado em réplicas de no mínimo cinco recipientes para cada tratamento.

Os organismos foram expostos aos diferentes tratamentos durante 72 horas à temperatura de 20 °C \pm 2 °C e luminosidade de aproximadamente 1000 lux. Após esse período, avaliou-se a taxa de imobilidade dos organismos por recipiente.

A Figura 12.4 apresenta os resultados de toxicidade dos lodos de Franca e Barueri para o organismo-teste, em que a percentagem de imobilidade se manteve entre 3,1% e 21,8% durante todo o ensaio. No fim do período de exposição, houve redução quase total (de 2% a 8%) da população de organismos móveis para todos os tratamentos com os dois lodos.

Os dados sugerem que o lodo de Franca (Figura 12.4A) apresentou menor toxicidade em menor período de exposição, comparativamente ao lodo de Barueri. No terceiro dia de exposição, a imobilidade dos organismos expostos ao lodo de Franca foi menor que 20%, ao passo que os tratamentos com o lodo de Barueri (Figura 12.4B) afetaram aproximadamente 80% dos organismos para o mesmo período. Essa observação poderia estar associada a maiores valores de concentração de alguns metais no lodo de Barueri, que recebe esgotos industriais e domésticos). Foram determinadas concentrações de Ni, Cu, Cd, Pb e Zn de 33,9; 153; 2,6; 72,6 e 744 mg kg⁻¹, respectivamente, no lodo de Franca, ao passo que no de Barueri as concentrações desses mesmos metais foram superiores (289,3; 738; 8,8; 160,5 e 1.765 mg kg⁻¹ respectivamente).

Apesar da ausência de toxicidade apresentada pelo lodo de Franca nos primeiros dias de exposição, observou-se aumento gradual do efeito em função do tempo, para ambas as concentrações testadas. Assim, observaram-se 91,7% e 96,9% de imobilidade no fim do período de exposição para os tratamentos com 2 e 10 g L⁻¹ de lodo, respectivamente. Altos percentuais de imobilidade também foram observados nos tratamentos com o lodo de Barueri. Entretanto, esses efeitos se manifestam em um período de exposição inferior comparativamente aos do lodo de Franca.

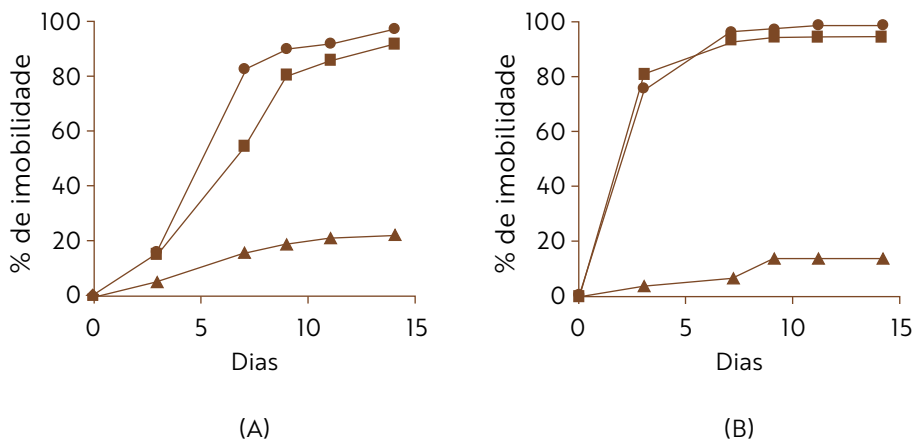


Figura 12.4. Toxicidade a longo prazo do lodo de Franca (A) e Barueri (B) para *D. similis*. Controle (▲); 2 g L⁻¹ (■); 10 g L⁻¹ (●). Cada ponto corresponde à média de observações em oito recipientes.

Nos estudos de curto prazo de exposição (Tabela 12.1), os dados demonstram que a presença de componentes orgânicos solúveis em acetona deve ser, em grande parte, responsável pela toxicidade do material-teste. As porcentagens de imobilidade no tratamento com extrato orgânico e no controle adicionado de acetona foram 76,67% e 6,67%, respectivamente. A alta toxicidade do resíduo remanescente da extração sugere a presença de agentes tóxicos que podem ser de natureza orgânica (não extraídos pela acetona) ou inorgânica. A porcentagem de imóveis foi significativamente maior no tratamento T4 (resíduo) quando comparado ao T5 (lodo), indicando menor toxicidade deste último em relação ao primeiro. Provavelmente, a retirada de material orgânico pelo solvente extrator do lodo tenha contribuído para tornar biodisponíveis compostos tóxicos remanescentes no resíduo.

Tabela 12.1. Imobilidade de *D. similis* nos diferentes tratamentos e resultados do teste de Wald (Wald, 1943)

Tratamento	N ^a	Imobilidade (%)	Erro Padrão	Valores p ^b				
				T1	T2	T3	T4	T5
Controle (T1)	60	5,00	2,81	-	0,6967	<0,001	<0,001	<0,001
Controle + acetona (T2)	60	6,67	3,22	-	-	<0,001	<0,001	<0,001
Extrato orgânico (T3)	60	76,67	5,46	-	-	-	<0,001	0,6029
Resíduo (T4)	60	100,0	0,00	-	-	-	-	<0,001
Lodo (T5)	96	80,21	4,07	-	-	-	-	-

^a Número total inicial de indivíduos em cinco recipientes nos tratamentos 1-4 e oito recipientes no tratamento 5 (T5).

^b Probabilidade de erro tipo I associada ao teste qui-quadrado de Wald para contrastes entre pares de tratamentos.

De acordo com os dados apresentados, concluiu-se que, em decorrência da aplicação de lodo de esgoto proveniente das estações de tratamento de Franca e Barueri, existe algum risco de ocorrência de efeitos adversos para a biota aquática. O risco estaria relacionado à aplicação do lodo em regiões agrícolas próximo a compartimentos aquáticos, sendo que os efeitos se manifestam, em curto ou longo prazo, em organismos zooplancônicos e, conseqüentemente, em outros organismos da cadeia alimentar. Esse fenômeno estaria associado ao transporte do lodo para os referidos compartimentos, assim como de seus constituintes orgânicos ou inorgânicos com potencial tóxico. Concluiu-se, ainda, que os efeitos tóxicos do lodo de Barueri não devem ser atribuídos somente à presença de metais já constatados neste material, mas, também, à presença de compostos orgânicos extraídos pela acetona e que podem ter propriedades cumulativas.

PEIXES COMO BIOINDICADORES

De modo geral, bioindicadores são organismos vivos ou parte de um organismo ou uma comunidade de organismos de natureza diversa (vegetais ou animais) que proporcionam informações sobre a qualidade do ambiente e os efeitos de contaminação por vários poluentes (Adams, 2002; Chovanec et al., 2003). Nesse contexto, os peixes desempenham papel fundamental como bioindicadores de contaminação ambiental e na gestão dos recursos hídricos, proporcionando uma visão integrada do estado do ambiente aquático (Noss, 1990; Plessl et al., 2017).

Pela importância dos peixes como fonte de proteína animal para alimentação humana, a possibilidade de contaminação alimentar já se destaca como um dos mais importantes bioindicadores. Além disso, segundo Chovanec et al. (2003), os peixes são amplamente utilizados para descrever as características naturais dos sistemas aquáticos e, também, para avaliar as alterações do habitat e, portanto, apresenta algumas vantagens, tais como:

- Apresenta vasta tradição de pesquisas ecológicas, fisiológicas e ecotoxicológicas que geraram conhecimento avançado sobre várias espécies de peixes;
- Muitas variáveis ambientais abióticas em diferentes espaço-temporais estão ligadas às complexas exigências de habitat de determinadas espécies e a suas fases ontogenéticas;
- Haja vista o tamanho do peixe e de seus órgãos, muitos procedimentos analíticos podem ser avaliados, tais como abordagens hematológicas, histopatológicas e de biocumulação;
- Em função da longevidade dos peixes, certos efeitos indicativos, como os processos de acumulação pode ser observados;

- Como consumidores primários e secundários a diferentes níveis, os peixes refletem as condições tróficas dos sistemas aquáticos;
- A pesca extrativista e a pesca esportiva têm uma longa história, na qual os peixes desempenham um papel importante como indicadores da qualidade da água etc.

Além disso, são possíveis a adaptação e a manutenção em condições laboratoriais dos peixes capturados em ambientes naturais, além da facilidade de aquisição de algumas espécies produzidas na aquicultura comercial ou ornamental, que potencializa o uso do peixe como modelo bioindicador em vários estudos.

Em função da importância dos estudos de toxicidade de diversos compostos químicos, tais como medicamentos veterinários e agrotóxicos e o consequente impacto ambiental, conduziram-se alguns experimentos pela equipe da Embrapa Meio Ambiente com foco nas fases iniciais de peixes como bioindicadores e modelo biológico.

A intensificação da aquicultura proporcionou aumento na utilização de antibióticos, cujas principais preocupações para a saúde pública estão relacionadas ao desenvolvimento e à propagação de bactérias resistentes aos antibióticos e genes de resistência, além da ocorrência de resíduos de antibióticos em produtos de aquicultura (Organização Mundial da Saúde, 2006). Assim, os estudos ecotoxicológicos, a análise de risco e as recomendações sobre o uso responsável de antibióticos são essenciais para melhorar a biossegurança da aquicultura, diminuindo o impacto ambiental e problemas relacionados à saúde pública.

Mattioli et al. (2020) buscaram determinar a concentração letal (CL_{50-96h}), a concentração efetiva (CE_{50-96h}), o risco ecotoxicológico e o desenvolvimento de larvas de tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus* submetidas à exposição ao florfenicol (FF) e concluíram que as concentrações de FF avaliadas apresentaram efeitos tóxicos agudos para as larvas de tilápia-do-nilo, influenciando nas taxas de sobrevivência. Além disso, a exposição de FF em períodos curtos (96 horas) pode proporcionar diminuição significativa no peso e no tamanho das larvas. Contudo, de acordo com a avaliação de risco, o FF pode ser classificado como de baixa toxicidade para as larvas de tilápia e de baixo risco para o ambiente, justificando sua utilização na aquicultura.

Por outro lado, Takeshita et al. (2019; 2020) avaliaram a concentração letal (CL_{50-96h}) de oxitetraciclina (OTC) para as larvas de tilápia-do-nilo, o efeito das dosagens subletais na mortalidade das larvas de tilápia em condições pós-estresse e o coeficiente de risco ambiental. Os autores concluíram que os efeitos tóxicos da OTC influenciaram o desenvolvimento das larvas de tilápia. A exposição ao ar é um fator estressante e, em conjunto com a exposição a doses subletais de OTC, pode incrementar seus efeitos tóxicos. Além disso, com base no coeficiente de risco, a OTC apresenta elevado risco para as larvas de tilápia quando exposta à concentração terapêutica.

As regiões produtoras de grãos geralmente estimulam a implementação de atividades pecuárias e aquícolas em áreas circunvizinhas, em função da facilidade de logística e transporte desses alimentos que diminuem os custos da produção animal. Considerando a aplicação da atrazina nas grandes culturas de grãos, é presumível que o peixe da aquicultura e do ambiente natural possam ser expostos à atrazina originária da agricultura intensiva. Assim, destaca-se o estudo de Chiste et al. (2021), que buscaram determinar concentração letal (CL_{50-96h}), avaliação de risco, desenvolvimento e mortalidade de larvas de tilápia-do-nylo submetidas a atrazina em condições de pós-estresse (exposição ao ar). Como principais conclusões do estudo, evidenciou-se que o aumento das concentrações de atrazina utilizadas no teste de concentração letal diminui o desenvolvimento das larvas de tilápia-do-nylo. Os peixes submetidos a estresse (exposição ao ar) e expostos a doses subletais de atrazina apresentaram mortalidade significativa, indicando que estresse potencializa o efeito tóxico da atrazina para as larvas de tilápia-do-nylo. Por outro lado, com base na avaliação do risco, a atrazina pode ser classificada como herbicida com baixa toxicidade para as larvas de tilápia e baixo risco toxicológico.

Nos estágios iniciais de desenvolvimento e, principalmente após a eclosão, os peixes apresentam alta sensibilidade às variações ambientais, que são características importantes como bioindicadores ambientais. As larvas de tilápia-do-nylo apresentam características interessantes, pois são de fácil aquisição e baixo custo, adaptam-se às condições laboratoriais, o que facilita sua adaptação e manutenção, apresentam certa rusticidade, principalmente quando comparada a outras espécies nativas, e alimentam-se de dietas artificiais. Além disso, dado o tamanho reduzido, permitem o uso de estrutura laboratorial compacta e simples.

O GÊNERO *CHIRONOMUS* (CHIRONOMIDAE: DIPTERA) EM TESTES ECOTOXICOLÓGICOS

As águas superficiais e subterrâneas, segundo a United States Environmental Protection Agency (Usepa – Estados Unidos, 1989), têm sido amplamente deterioradas por diversas situações, como adição de produtos químicos, contaminação biológica, despejos industriais e domésticos ou carreamento superficial dos solos urbanos e agrícolas (Dornfeld, 2006; Cetesb, 2008), o que, conseqüentemente, ocasiona o desequilíbrio dos ecossistemas, principalmente os aquáticos. Esses ecossistemas apresentam uma série de mecanismos físicos, químicos e biológicos para a assimilação de substâncias tóxicas que previnem danos à biota. No entanto, quando estas chegam a níveis acima da capacidade assimilativa do corpo receptor, podem afetar a sobrevivência, o crescimento, a reprodução ou o comportamento dos organismos ali presentes.

Essas alterações fisiológicas em organismos são alvo de pesquisa na ecotoxicologia, a qual se destina à observação de respostas biológicas como consequência dos efeitos dos contaminantes sobre os seres vivos e ecossistemas (Newmann; Unger, 2003), pois, quando misturadas em meio aquoso, as substâncias químicas podem apresentar características e efeitos diferentes sobre os organismos, e uma mesma substância química pode ter efeitos diversos em organismos diferentes (Jager et al., 2007). Assim, a ecotoxicologia alerta para o risco de substâncias químicas, sugerindo a aplicação de medidas preventivas antes que ocorram graves danos aos ecossistemas naturais.

Nos ecossistemas aquáticos, a atuação do sedimento como depositório e eventual fonte de compostos químicos naturais aumentou o interesse no desenvolvimento de metodologias, como ensaios padronizados com organismos associados ao sedimento (Adams; Rowland, 2003). Uma série de organismos (como anfípodes, larvas de insetos, poliquetas, oligoquetas, cladóceros) foram utilizados em ensaios padronizados para avaliação ecotoxicológica de contaminantes associados a sedimentos (Estados Unidos, 2000), auxiliando na avaliação ambiental e em análises químicas que apenas identificam e quantificam as substâncias presentes no ambiente. Outras espécies, como as da família Chironomidae (Insecta, Diptera), também têm sido utilizadas como organismos-teste em ensaios ecotoxicológicos com sedimentos, pois são boas indicadoras da qualidade ambiental e estão presentes abundantemente na fauna bentônica, em ambientes aquáticos continentais e marinhos (Warwick, 1990). No Brasil, a espécie nativa *Chironomus sancticaroli* vem sendo cultivada em laboratório e utilizada em ensaios ecotoxicológicos com sedimentos. Nesses ensaios, são observados efeitos na sobrevivência, no crescimento, na emergência, na reprodução e na deformidade das peças bucais, como reflexo da presença de substâncias químicas potencialmente tóxicas ou de compostos bioacumulados.

Os efeitos biológicos observados durante ou após os ensaios são caracterizados como agudos ou crônicos. O efeito agudo manifesta-se após curto período de exposição, de maneira rápida e severa, causando a letalidade ou a imobilidade dos organismos expostos, geralmente, após o período de 24 a 96 horas. Contrariamente ao efeito agudo, o crônico é observado após um período longo de exposição ou por um longo período do ciclo de vida do organismo, geralmente, 10% ou mais (Adams; Rowland, 2003), podendo afetar uma ou mais funções biológicas, como a reprodução, o metabolismo, o crescimento, o desenvolvimento dos ovos, mutações, deformidades morfológicas e mesmo a morte dos organismos após a exposição por longos períodos (Cooney, 1995).

Organismos-teste, como os quironomídeos, têm sido utilizados em ensaios agudos e crônicos para a observação de efeitos no ciclo de vida e sobrevivência da geração F1 (Giesy; Hoke, 1989) na sobrevivência dos organismos expostos, no crescimento, na fecundidade e fertilidade, no desenvolvimento de deformidade do mento e de peças bucais, na bioacumulação de compostos orgânicos e inorgânicos, em estudos com

biomarcadores, com nanopartículas, entre outros. Existem protocolos internacionais para a realização de ensaios ecotoxicológicos com amostras de sedimento integral ou fortificado utilizando larvas de *Chironomus tentans*, *Chironomus riparius* e *Chironomus* sp., segundo a Tabela 12.2.

Tabela 12.2. Protocolos de ensaios ecotoxicológicos utilizando o gênero *Chironomus*

Instituição	Protocolo	Descrição	Ano
Usepa	EPA 600/R-99/064	Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates	2000
ASTM	E 1706-20	Standard Test Method for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants with Freshwater Invertebrates	2020
Environment Canada	EPS1/RM/32	Biological Test Method: Test for Survival and Growth in Sediment Using Larvae of Freshwater Midges (<i>Chironomus tentans</i> or <i>Chironomus riparius</i>)	1997
OECD	235	<i>Chironomus</i> sp., Acute Immobilisation Test	2011
	233	Sediment-Water Chironomid Life-Cycle Toxicity Test Using Spiked Water or Spiked Sediment	2010
	219	Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water	2004
	218	Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment	2004

O gênero *Chironomus* representa uma porção significativa da biomassa bêntica, desempenhando um importante papel na cadeia alimentar e na ciclagem de resíduos encontrados no sedimento pelo processo de bioturbação, além de ser facilmente cultivado em laboratório (Giesy; Hoke, 1989; Estados Unidos, 2000). Todo o ciclo larval de quironomídeos ocorre em ambiente aquático e em contato direto com o sedimento, podendo permanecer enterrado a apenas poucos centímetros. O ciclo de vida desses organismos pode ser dividido em quatro fases: ovo, estágio larval (constituído por quatro instares), pupa e adulto. Com relação à alimentação desse gênero, observaram-se diferentes comportamentos alimentares, desde a filtração de partículas menores presentes na coluna d'água à predação direta de pequenos organismos (Armitage et al., 1995). Os quironomídeos apresentam, ainda, ampla distribuição geográfica e resistência às condições físicas e químicas extremas, como variações de pH, temperatura, oxigênio dissolvido, velocidade de correntes, salinidade e profundidade.

De acordo com Zagatto e Bertolotti (2006), alterações das variáveis biológicas em condições de cultivo, da habilidade do técnico na realização dos ensaios, das condições abióticas e da sensibilidade do lote dos organismos podem influenciar os resultados observados nos bioensaios. Ainda de acordo com os mesmos autores, sugere-se monitoramento da taxa de reprodução, observação da presença de formas resistentes e uso

de substâncias de referência. Além disso, é possível incluir fecundidade, fertilidade, taxa de eclosão, deformidades morfológicas, entre outras. Além da identificação e monitoramento das variáveis que possam refletir na saúde dos organismos em condições de cultivo, torna-se necessário o estabelecimento de critérios de aceitabilidade para tais condições, garantindo a utilização de organismos saudáveis para o início de novas culturas e para a realização de ensaios ecotoxicológicos. Diferentemente dos efeitos observados nos organismos submetidos ao controle em ensaios ecotoxicológicos, cujos critérios de aceitabilidade já estão bem estabelecidos em normas nacionais e protocolos internacionais, as variáveis biológicas identificadas em organismos cultivados são apenas descritas e não quantificadas, principalmente para o gênero *Chironomus*.

A ESPÉCIE *CHIRONOMUS SANCTICAROLI*

A espécie *Chironomus sancticaroli*, pertencente à Família Chironomidae, tem grande relevância ecológica, por ser uma espécie nativa encontrada no estado de São Paulo. Descrita por Strixino e Strixino em 1980, foi considerada por Speis e Reiss (1996) sinônimo júnior de *Chironomus xanthus* Rempel 1939 (Correia, 2004). O comportamento reprodutivo dessa espécie foi descrito por Strixino (1980) e, assim como os demais quironomídeos, essa espécie apresenta quatro fases de desenvolvimento em seu ciclo de vida: ovo, estágio larval (constituído por quatro instares), pupa e adulto, conforme apresentado na Figura 12.5.

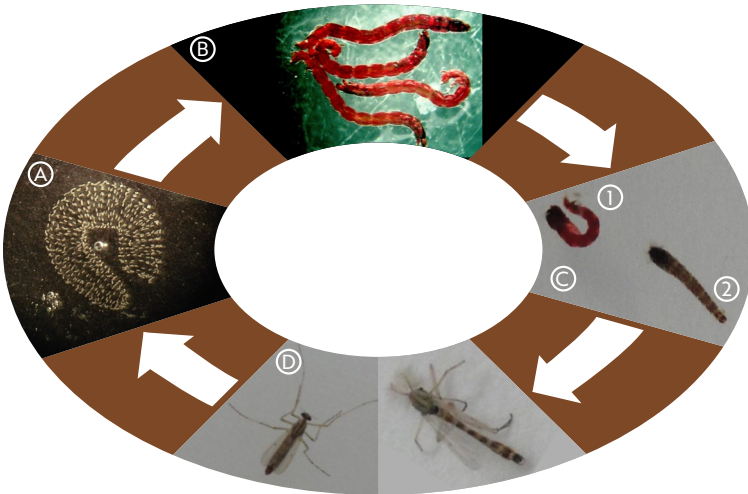


Figura 12.5. Ciclo de vida do gênero *Chironomus* sp. (A) Ovos. (B) Larvas. (C) Pupa (1 – recente empupamento e 2 – pupa madura). (D) Adultos (fêmea à esquerda e macho à direita).

O período de desenvolvimento de todo o ciclo de vida varia em função da temperatura e da espécie, sendo de 21 dias a 23 °C para *C. dilutus* (American Society for Testing Material, 2005); de 28 a 30 dias para temperatura entre 15 e 19,5 °C; e de 15 a 17 dias em temperaturas compreendidas entre 21 e 24 °C, para o desenvolvimento de *C. sancticaroli* (Strixino; Strixino, 1985). Estudos iniciais sobre a biologia da espécie *C. sancticaroli* foram conduzidos por Strixino (1973) e Strixino e Strixino (1985) para verificação da fecundidade, além da descrição inicial de metodologias de cultivo em laboratório e ciclo de vida da espécie. Nesses estudos, determinaram-se percentuais de sobrevivência das larvas, fecundidade, fertilidade e taxa de eclosão, observando influências da temperatura, qualidade e quantidade de alimento fornecido aos organismos nas variáveis analisadas. Já Fonseca (1997) estabeleceu as condições de cultivo para *C. sancticaroli*, as quais são referenciadas em diversos estudos no Brasil.

AÇÕES DE TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA: CAPACITAÇÃO DE AGRICULTORES, SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA E ACORDO DE COOPERAÇÃO COM MINISTÉRIO PÚBLICO FEDERAL

Origem das ações de transferência sobre a temática dos insetos aquáticos - experiências brasileiras e seus resultados

No Brasil, ações de divulgação da ciência são fortemente estimuladas pelo Ministério de Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicação (MCTIC), por meio da Semana Nacional de Ciência e Tecnologia (SNCT), que conta com edições anuais desde 2004, ano de sua implantação. Há melhoria na compreensão sobre ciência e tecnologia por parte dos estudantes participantes (Sousa et al., 2019), justificando o estímulo para que mais profissionais também se dediquem a essas atividades, ampliando seu leque de atuação para além de pesquisa e ensino.

Atividades de transferência de tecnologia/conhecimento na área do biomonitoramento aquático utilizando insetos aquáticos datam do fim do século XX ao início do século XXI. Alguns países criaram campanhas nacionais para envolver a população no cuidado do meio ambiente, conferindo treinamento teórico e prático aos participantes (Taccogna; Munro, 1995; Gullickson; Liukkonen, 2002; River Health Programme, 2007; Global Water Watch, 2014).

No Brasil, há diversos relatos de capacitação de agricultores em temas diretamente relacionados à produção de bens de consumo agrícola (Vieltes et al., 2012; Bertolo et al., 2016; Silva et al., 2019), porém, poucos são os exemplos brasileiros de capacitação

voltada à sustentabilidade ambiental (Santos; Barros 2013; Riedner et al., 2018) e, mais especificamente, ao biomonitoramento aquático.

Neste último caso, cita-se a iniciativa pioneira da Itaipu Binacional em parceria com a Fiocruz, o Programa Cultivando Água Boa, que envolveu, principalmente, estudantes de ensino básico de municípios do entorno do reservatório de Itaipu (PR) (<https://www.itaipu.gov.br/meioambiente/cultivando-agua-boa>).

Em seguida, outras iniciativas para capacitar a população em qualidade da água surgiram em outras regiões do país, ressaltando-se aquela realizada no Nordeste, por equipe da Embrapa em parceria com universidades, a qual resultou em várias ações (Figueirêdo et al., 2008; Girão; Ribeiro, 2009; Siste et al., 2011).

Na Embrapa Meio Ambiente, foram desenvolvidas três experiências relacionadas ao monitoramento participativo/capacitação da população, relatadas a seguir. Ressalta-se que a primeira delas, no Norte de Minas Gerais, foi uma atividade inicialmente desenvolvida na Embrapa Cerrados, porém, com a transferência da pesquisadora Kathia Sonoda para a Embrapa Meio Ambiente, foi concluída nesta última.

Alto Rio Pardo (MG)

A proposta de capacitação de agricultores familiares e técnicos agrícolas do norte de Minas Gerais foi uma demanda do projeto Ações de uso e manejo da biodiversidade de sistemas agrícolas e extrativistas visando a segurança alimentar e geração de renda de agricultores familiares do Território do Alto Rio Pardo. Projeto Rio Pardo Fase II, inicialmente coordenado por pesquisadores da Embrapa Cerrados. Mais recentemente, parte da equipe desse projeto foi incorporada ao projeto BemDiverso (www.bemdiverso.org.br), sob responsabilidade da Embrapa Hortaliças.

A comunidade Água Boa 2 ocupa a microbacia do rio homônimo, estando situada no município de Rio Pardo de Minas (MG). Em 2005, contava com 96 famílias em uma área de 5,533,80 ha (Correia, 2005). Essa microbacia está localizada entre as coordenadas 15°32'11,8"S e 42°27'37,3"W, em regime hidroclimático predominantemente semiárido (média anual de precipitação de 890 mm/ano) (Machado et al., 2008).

Inicialmente, a microbacia foi ocupada às margens dos córregos, e a fonte de renda das famílias, desde o princípio, baseia-se em subsistência a partir da coleta de fibras e frutos, que são vendidos na feira municipal ou processados na cooperativa da própria comunidade (Correia et al., 2008; Vilela et al., 2009).

A seleção dos locais de coleta foi realizada de maneira participativa entre agricultores e pesquisadores da Embrapa para geração de dados científicos. Em estudo preliminar (não publicado), observou-se que, em relação aos táxons indicadores, representantes das ordens Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera, reconhecidas como indicadoras de boa qualidade ambiental (Vuataz et al., 2013; Monteles et al., 2021),

estiveram discretamente presentes no atual estudo. Este fato pode ter sido originado por vários motivos: 1) desaparecimento de indivíduos devido ao impacto decorrente do desmatamento e da retilinização do canal dos córregos (prática comum entre os agricultores locais); 2) resiliência afetada; 3) extinção das famílias em outros locais, influenciando a capacidade de dispersão e a consequente recolonização dos córregos alterados (Galic et al., 2013); e 4) escassez de habitats compatíveis com os requerimentos para sobrevivência dessas famílias, entre outros fatores.

De posse desse conhecimento prévio, que serviu como embasamento para a capacitação dos agricultores, os pesquisadores despenderam um fim de semana na região, proporcionando palestras e treinamento em monitoramento biológico das águas. Essa interação foi muito proveitosa, pois permitiu a troca de conhecimento e de experiências, com os agricultores expondo seus costumes de vida e cuidados com a água e solo.

Ao final do treinamento, os participantes constataram que as condições ambientais dos córregos não se apresentavam pristinas, e essa informação foi retransmitida ao restante da comunidade (que não participou da capacitação) no fim da tarde de domingo. Os ouvintes ficaram surpresos ao saber que os córregos não estavam em boas condições, e novas formas de manejo foram adotadas, sem a supressão total da vegetação ripária, com recuperação desta onde possível.

Insetos aquáticos na Semana Nacional de Ciência e Tecnologia 2018

Com base no tema da SNCT de 2018 – “O papel da mulher na ciência” –, a coordenadora do projeto viajou por 40 municípios de sete estados brasileiros, incluindo o Distrito Federal, com o objetivo de transmitir aos estudantes as alterações proporcionadas pelo estudo na vida das pessoas. Intitulada “A ciência dos insetos aquáticos”, a palestra foi apresentada 86 vezes, alcançando um público formado por crianças, jovens e adultos e totalizando mais de 6 mil ouvintes. Essas ações foram associadas ao programa Embrapa e Escola de todas as unidades parceiras (Cerrados, Milho e Sorgo, Tabuleiros Costeiros, Soja), cujo apoio foi fundamental para o sucesso do projeto.

Além desse apoio, o projeto contou com valiosas parcerias firmadas com a Diretoria de Ensino Regional de Mogi Mirim (SP) e com diversas Secretarias Municipais de Meio Ambiente e de Educação.

As produções de dois livros infanto-juvenis [disponíveis no site Contando Ciência na Web: Mistério no mundo aquático submerso (Sonoda; Fonseca, 2019), e Quem mexeu no meu córrego? (Sonoda et al., 2019)] e de um baralho didático sobre insetos aquáticos foram produtos deste projeto, os quais foram depositados nas escolas como prêmio à capacidade de os alunos trabalharem em grupo ao responder a perguntas sobre o conteúdo aprendido após as palestras. Uma publicação detalhada referente a esse projeto pode ser encontrada em Sonoda et al. (2021).

Acordo com Ministério Público Federal

O Ministério Público Federal (MPF) de São Paulo tomou conhecimento do projeto de divulgação da ciência supramencionado e contactou a coordenadora deste. Por meio do projeto Conexão Água, firmou-se um acordo de cooperação técnica entre 2019 e 2020, em que a Embrapa Meio Ambiente atuou como parceira técnico-científica. Entre as atividades desenvolvidas, destacam-se: 1) fornecimento de embasamento técnico-científico para elaboração da campanha; 2) embasamento técnico-científico para elaboração de um aplicativo para smartphone sobre percepção ambiental por meio de insetos aquáticos (aplicativo Monitorando a Cidade); e 3) palestra para 680 alunos em escola-modelo previamente selecionada pelo MPF, nos moldes executados no projeto da SNCT citado previamente.

Essa experiência foi uma oportunidade ímpar para conhecer mais a fundo as diversas facetas de atuação do MPF e permitir a interação entre esses dois órgãos do governo. Para mais informações sobre a campanha, acesse: <https://conexaoagua.mpf.mp.br/biomonitorando/>.

Desafios encontrados e meios de resolvê-los

Trabalhar com público não especializado, com cultura, formações pessoais, profissionais, educacionais e interesses diferentes torna-se, muitas vezes, um grande desafio. Integrar visões de mundo, expectativas quanto às atividades propostas e envolvimento pessoal com a iniciativa, constitui um emaranhado de desafios que requerem capacidade de gerenciamento de pessoas/equipe, conhecimento emocional de si e dos comportamentos humanos. O objetivo de alcançar a meta proposta iguala os interesses e permite a superação dos problemas.

Em cada uma das experiências apresentadas, os desafios foram contornados graças à vontade de atuar em prol do bem comum: o respeito ao meio ambiente e a manutenção da qualidade de vida em Alto Rio Pardo; a divulgação de horizontes profissionais diferenciados por meio da Semana Nacional de Ciência e Tecnologia; a integração do saber e da ação pela parceria com o Ministério Público Federal.

Assim, fins de semana não foram poupados e tornaram-se oportunidades de troca de saberes, aprendizados e atividades com o público-alvo; unidades da Embrapa foram envolvidas de maneira integrada, permitindo a execução de palestras a mais de 6.000 estudantes de ensino básico e médio de todas as faixas etárias, inclusive adultos de sete estados brasileiros; adoção de aplicativos para smartphone e drones permitiram que centenas de jovens realizassem avaliações ambientais do entorno de suas moradias.

Foram apresentadas três experiências que ilustraram diferentes formas de aplicações do conhecimento sobre insetos aquáticos como bioindicadores no cotidiano da população leiga.

Apesar do expressivo papel da SNCT nas ações de transferência de conhecimento, pouco se conhece sobre os impactos sociais nas vidas dos estudantes atendidos, estimando-se que somente 4,9% das atividades receberam acompanhamento a posteriori (Sousa, 2015).

Entretanto, baseando-nos em outros relatos de capacitação, pode-se inferir que há uma ampla gama de benefícios conferidos aos participantes e à população, principalmente em relação à melhoria da saúde, das condições do meio ambiente e da agricultura familiar (Duarte et al., 2010; Sousa et al., 2010).

TENDÊNCIAS E DESAFIOS

Mudanças climáticas

O recém-publicado relatório do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC) afirma que estamos diante de mudanças drásticas nunca antes vistas, sendo que algumas são consideradas irreversíveis. O aumento na temperatura global já é de 1,5 °C, segundo o IPCC (Allen et al., 2019), e os estudos preveem que esse limite será ultrapassado até 2040. Com esse cenário, diversos estudos científicos têm procurado demonstrar os impactos do aquecimento global sobre a fauna e a flora.

Em um estudo sobre os efeitos do degelo no noroeste do Canadá, Chin et al. (2016) concluíram que os impactos estavam fortemente associados a declínios significativos na abundância na comunidade de macroinvertebrados bentônicos. Além disso, as diferenças nos índices de composição contribuíram para o contraste acentuado entre locais não perturbados e altamente perturbados. Houve, também, forte relação negativa entre a abundância de invertebrados e sólidos totais dissolvidos, indicando que o aumento nos sedimentos foi o principal fator relacionado à mudança biótica.

Estudos com Mesocosmos

Os estudos ecotoxicológicos realizados em laboratório auxiliam na observação dos efeitos adversos aos organismos expostos com relação à presença de contaminantes na amostra analisada. Embora sejam realizados em condições controladas que garantem a confiabilidade dos resultados obtidos, esse cenário não reflete os possíveis riscos existentes para a biota de determinado ambiente e a relevância ecológica dos efeitos observados em laboratório. Para isso, ensaios de mesocosmos e até micros-

mos ao ar livre ou confinados foram desenvolvidos para responder a uma hipótese específica, por exemplo, avaliar os efeitos de substâncias químicas em condições de exposição ambiental mais realista, ou seja, a influência de fatores bióticos, abióticos e suas interações na resposta aos efeitos observados nos organismos.

Esses estudos podem ser realizados com tanques artificiais, lagoas ou englobando partes de ecossistemas existentes, ou seja, são construídos de modo a simular parte de um ecossistema aquático natural, contendo matrizes ambientais e boa diversidade de organismos, grupos funcionais e habitats. Assim, são observados efeitos na comunidade e no ecossistema, potenciais efeitos indiretos e potencial de recuperação de *end-points* sensíveis (Organisation for Economic Co-Operation and Development, 2006). Mesocosmos construídos para avaliar o efeito de secamento do leito de rios na comunidade bentônica foram utilizados em Vadher et al. (2017), uma vez que a subsuperfície de sedimentos é um local de refúgio na época seca para esses organismos. Nesse caso, o mesocosmo permitiu a observação de migrações verticais dos animais, o que não é possível no ambiente natural. Microcosmos também são utilizados para a avaliação toxicológica de sedimentos contaminados, tais como o inseticida lufenuron (Brock et al., 2016). Nesta última pesquisa, um dos objetivos foi a validação de ensaios de laboratório com uma espécie em estudos com populações e comunidade macrobentônica.

Metabarcoding

Os recentes avanços na área de genômica e tecnologia de sequenciamento de DNA de alto desempenho (next generation sequencing – NGS) favoreceram o desenvolvimento de abordagens holísticas para acesso e avaliação da composição de organismos de todo um ecossistema, organismos estes que não dependem de isolamento, cultivo e identificação morfológica. O sequenciamento de DNA ambiental (environmental DNA – eDNA) por NGS provê uma plataforma que permite acessar simultaneamente um espectro maior da biodiversidade, sem requerer amostragens complexas ou dispendiosas, estrutura nem pessoal qualificado para efetuar identificação morfológica.

O DNA de amostra ambiental pode ser obtido a partir de água, sedimento de rios e mares, solo, ar e efluentes ou, ainda, de ecossistemas como intestino ou pele e rizosfera ou filoplano, por exemplo, em animais e vegetais, respectivamente, e tem sido extensivamente empregado para acessar a dinâmica espaço-temporal de comunidades de organismos e, assim, gerar as bases para avaliar o grau de conservação ou o estágio de recuperação de determinado ambiente (Lee et al., 2011; Bourlat et al., 2013; Drummond et al., 2015; Ininbergs et al., 2015; Tan et al., 2015; Woo et al., 2015). Em outras palavras, fortalecer os alicerces para um efetivo biomonitoramento.

Essa abordagem gera, simultaneamente, milhões de leituras de DNA provenientes dos organismos presentes na amostra e pode ser empregada para acessar a diver-

sidade biológica em diferentes ambientes. NGS a partir de eDNA obtido de solos foi empregado para avaliar o impacto do uso da terra e de propriedades físico-químicas na diversidade microbiana (Roesch et al., 2007; Lauber et al., 2009) e, também, o grau de conservação e impacto de diversos estressores na composição das comunidades de microrganismos e macroinvertebrados em corpos de água doce e dos mares (Kisand et al., 2012; Bourlat et al., 2013; Costa et al., 2015; Xie et al., 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em pesquisas realizadas pela Embrapa Meio Ambiente, os bioindicadores para avaliação da qualidade ambiental têm sido aplicados para identificação de impactos, principalmente para aqueles que afetam os ecossistemas de água doce. As abordagens que envolvem a manipulação das espécies em laboratório mostram-se muito eficientes, especialmente para os organismos que podem ser cultivados em condições de controle. Isso se justificaria pelos aspectos biológicos mais generalistas, os quais se adaptam a diversos tipos de habitats. Tais condições possibilitam obter resultados mais específicos, relacionando diretamente os agentes causadores dos impactos à história da vida das espécies, como alterações moleculares, morfológicas e ciclo de vida. Com relação às abordagens comunitárias, as respostas possibilitam algumas generalizações a respeito do efeito das alterações ambientais. Ressalta-se que a abordagem comunitária com utilização de bioindicadores enfrenta diversos desafios, especialmente para as limitações relacionadas às dificuldades impostas pelas restrições de identificações taxonômicas específicas e de registros genéticos. Tais dificuldades impõem aos estudos ecológicos dos macroinvertebrados aquáticos algumas restrições para a conclusão de resultados mais refinados. No entanto, ainda assim, mostram-se aplicáveis as análises de atividades antrópicas e decisões de gestão de preservação e recuperação dos processos ecológicos dos ecossistemas aquáticos. A respeito da aplicabilidade no campo educacional, os projetos aplicados pela Embrapa Meio Ambiente têm mostrado o uso de bioindicadores como importantes elementos da prática de sensibilização da comunidade em programas de educação ambiental, bem como daqueles com aplicação das boas práticas de gestão dos recursos hídricos. Assim, ressalta-se que as contínuas melhorias e atualizações de pesquisas ambientais têm proporcionado o aprimoramento e a especialização técnica, além de promover a relevância da atuação da Embrapa nos esforços para as boas práticas e conservação dos recursos hídricos.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, S. M. **Biological indicators of aquatic ecosystem stress**. Bethesda: American Fisheries Society, 2002. 644 p.
- ADAMS, W. J.; ROWLAND, C. D. Aquatic toxicology test methods. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JUNIOR, A.; CAIRNS JUNIOR, J. (ed.). **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton: CRC, 2003. p. 19-43.
- ALLABY, M. **The concise Oxford dictionary of Zoology**. Oxford: Oxford University, 1992. 442 p.
- ALLEN, M.; BABIKER, M.; CHEN, Y.; CONINCK, H. de; CONNORS, S.; DIEMEN, R. v.; DUBE, O. P.; EBI, H. L.; ENGELBRECHT, F.; FERRAT, M.; FORD, F.; FORSTER, P.; FUSS, S.; BOLAÑOS, T. G.; JORDAN, H.; HOEGH-GULDBERG, O.; HOURCADE, J.-C.; HUPPMANN, D.; JACOB, D.; JIANG, J.; JOHANSEN, T. G.; KAINUMA, M.; KLEIJNE, K. de; KRIEGLER, E.; LEY, D.; LIVERMAN, D.; MAHOWALD, N.; MASSON-DELMOTTE, V.; MATTHEWS, J. B. R.; MILLAR, R.; MINTENBECK, K.; MORELLI, A.; MOUFOUMA-OKIA, W.; MUNDACA, L.; NICOLAI, M.; OKEREKE, C.; PATHAK, M.; PAYNE, A.; PIDCOCK, R.; PIRANI, A.; POLOCZANSKA, E.; PÖRTNER, H.; REVI, A.; RIAHI, K.; ROBERTS, D. C.; ROGELJ, J.; ROY, J.; SENEVIRATNE, S. I.; SHUKLA, P. R.; SKEA, J.; SLADE, R.; SHINDELL, D.; SINGH, C.; SOLECKI, W.; STEG, L.; TAYLOR, M.; TSCHAKERT, P.; WAISMAN, H.; WARREN, R.; ZHAI, P.; ZICKFELD, K. Summary for Policymakers. In: MASSON-DELMOTTE, V., P.; ZHAI, H.-O.; PÖRTNER, D. R.; SKEA, J.; SHUKLA, P. R.; PIRANI, A.; MOUFOUMA-OKIA, W.; PÉAN, C.; PIDCOCK, R.; CONNORS, S.; MATTHEWS, J. B. R.; CHEN, Y.; ZHOU, X.; GOMIS, M.I.; LONNOY, E.; MAYCOCK, T.; TIGNOR, M.; WATERFIELD, T. (ed.). **Aquecimento global de 1,5°C: Relatório especial do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC)...** Brasília, DF: MCTIC, 2019. 24 p. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2019/07/SPM-Portuguese-version.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2021.
- ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. L. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990. DOI : [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL. **Standard test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. West Conshohocken: ASTM, 2005. 118 p. (E1706-05).
- ANSAH, Y. B.; FRIMPONG, E. A.; AMISAH, S. Characterization of potential aquaculture pond effluents, and physico-chemical and microbial assessment of effluent-receiving waters in central Ghana. **African Journal of Aquatic Science**, v. 38, n. 2, p. 185-192, 2013. DOI: <https://doi.org/10.2989/16085914.2013.767182>.
- ARMITAGE, P. D.; CRANSTON, P. S.; PINDER, L. C. V. (ed.). **The Chironomidae: biology and ecology of non-biting midges**. 7.ed. London: Chapman & Hall, 1995. 572 p.
- ÁVILA, M. P.; CARVALHO, R. N.; CASATTI, L.; SIMIÃO-FERREIRA, J.; MORAIS, L. F. de; TERESA, F. B. Metrics derived from fish assemblages as indicators of environmental degradation in Cerrado streams. **Zoologia**, v. 35, e12895, 2018. DOI : <https://doi.org/10.3897/zoologia.35.e12895>.
- BABEL, S.; DACERA, D. D. M. Heavy metal removal from contaminated sludge for land application: A review. **Waste Management**, v. 26, n. 9, p. 988-1004, 2006.
- BERTOLO, A. P.; LANÇANOVA, D.; MUZZOLON, E.; TRENTO, A.; BAINY, E. M.; PASSOS, C. T. Experiência do uso das boas práticas de fabricação para melhoria das condições higiênico-sanitárias da

- feira do agricultor de Laranjeiras do Sul-PR. **Revista Brasileira de Extensão Universitária**, v. 7, n. 1, p. 51-57, 2016. DOI: <https://doi.org/10.36661/2358-0399.2016v7i1.3101>.
- BORISENKO, A. V.; SONES, J. E.; HEBERT, P. D. N. The front-end logistics of DNA barcoding: challenges and prospects. **Molecular Ecology Resources**, v. 9, p. 27-34, 2009. Supplement 1.
- BOURLAT, S. J.; BORJA, A.; GILBERT, J.; TAYLOR, M. I.; DAVIES, N.; WEISBERG, S. B.; GRIFFITH, J. F.; LETTIERI, T.; FIELD, D.; BENZIE, J.; GLÖCKNER, F. O.; RODRÍGUEZ-EZPELETA, N.; FAITH, D. P.; BEAN, T. P.; OBST, M. Genomics in marine monitoring: new opportunities for assessing marine health status. **Marine Pollution Bulletin** v. 74, n. 1, p. 19-31, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.05.042>.
- BROCK, T. C. M.; BAS, D. A.; BELGERS, J. D. M.; BIBBE, L.; BOERWINKEL, M.-C.; CRUM, S. J. H.; DIEPENS, N. J.; KRAAK, M. H. S.; VONK, J. A.; ROESSINK, I. Effects of sediment spiked lufenuron on benthic macroinvertebrates in outdoor microcosms and single-species toxicity tests. **Aquatic Toxicology**, v. 177, p. 464-475, 2016.
- BROWN, K. S. Diversity, disturbance, and sustainable use of Neotropical forests: insects as indicators for conservation monitoring. **Journal of Insect Conservation**, v. 1, p. 25-42, 1997.
- BUSS, D. F.; VITORINO, A. S. Rapid bioassessment protocols using benthic macroinvertebrates in Brazil: evaluation of taxonomic sufficiency. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 29, n. 2, p. 562-571, 2010.
- CETESB. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo 2007**. São Paulo, 2008. 531 p.
- CHESSMAN, B.; WILLIAMS, S.; BESLEY, C. Bioassessment of streams with macroinvertebrates: effect of sampled habitat and taxonomic resolution. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 26, n. 3, p. 546-565, 2007.
- CHIN, K. S.; LENTO, J.; CULP, J. M.; LACELLE, D.; KOKELJ, S. V. Permafrost thaw and intense thermokarst activity decreases abundance of stream benthic macroinvertebrates. **Global Change Biology**, v. 22, n. 8, p. 2715-2728, 2016. DOI : <https://doi.org/10.1111/gcb.13225>.
- CHISTE, B. M.; TAKESHITA, N. A.; MATTIOLI, C. C.; JONSSON, C. M.; BARIZON, R. M.; HISANO, H. Risk assessment and acute toxicological effects of atrazine on Nile tilapia larvae after stress. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 56, n. 1, p. 23-29, 2021. DOI : <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1831863>.
- CHOVANEC, A.; HOFER, R.; SCHIEMER, F. Fish as bioindicators. In: MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. (ed.). **Bioindicators & biomonitoring principles: concepts and applications**. Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 639-676.
- COONEY, J. D. Freshwater tests. In: RAND, G. M. (ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology**. 2.nd. Boca Raton: Taylor & Francis, 1995. p. 71-98.
- CORREIA, J. R. **Pedologia e conhecimento local: proposta metodológica de interlocução entre saberes construídos por pedólogos e agricultores em área de cerrado em Rio Pardo de Minas, MG**. 2005. 234 f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, Rio de Janeiro.

CORREIA, L. C. S. **Contribuição para o conhecimento do gênero *Chironomus* Meigen, 1803 na região Neotropical**. 2004. 148 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. CORREIA, J. R.; FRANZ, C. A. B.; VILELA, M. F.; LIMA, H. C.; SANO, S. M.; MEDEIROS, M. B.; CARRARA, A. A.; BUSTAMANTE, P. G.; MACHADO, C. T. T.; CAVECHIA, L. A.; FERNANDES, S. G.; LIMA, V. V. F. Planejamento participativo de projeto de pesquisa em comunidades de agricultores familiares no Norte de Minas. In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2., 2008, Brasília, DF. **Anais...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. 1 CD-ROM.

COSTA, P. S.; REIS, M. P.; ÁVILA, M. P.; LEITE, L. R.; DE ARAÚJO, F. M. G.; SALIM, A. C. M.; OLIVEIRA, G.; BARBOSA, F.; CHARTONE-SOUZA, E.; NASCIMENTO, A. M. A. Metagenome of a microbial community inhabiting a metal-rich tropical stream sediment. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, e0119465, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119465>.

COURTNEY, G. W.; MERRITT, R. W. Larvae of aquatic Diptera. In: MERRITT, R. W.; CUMMINS, K. W.; BERG, M. B. (ed.). **An introduction to the aquatic insects of North America**. Iowa: Kendall Hunt, 2008. p. 687-722.

DIAS, D. V.; SILVA, M. S. G. M. e; LOSEKANN, M. E.; LUIZ, A. J. B.; ISHIKAWA, M. M. Parasitofauna dos peixes e sua relação com a qualidade do ambiente em viveiros de tilápias. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2018, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico, 2018. n. 18402.

DIDHAM, R. K. Altered leaf-litter decomposition rates in tropical forest fragments. **Oecologia**, v. 116, n. 3, p. 397-406, 1998.

DORNFELD, C. B. **Utilização de *Chironomus* sp (Diptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. 2006. 239 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

DRUMMOND, A. J.; NEWCOMB, R. D.; BUCKLEY, T. R.; XIE, D.; DOPHEIDE, A.; POTTER, B.; HELED, J.; ROSS, H.; TOOMAN, L. K.; GROSSER, S.; PARK, D.; DEMETRAS, N. J.; STEVENS, M. I.; RUSSELL, J. C.; ANDERSON, S. H.; CARTER, A. L.; NELSON, N. J. Evaluating a multigene environmental DNA approach for biodiversity assessment. **GigaScience**, v. 4, article 46, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0086-1>.

DUARTE, A. S.; GIRÃO, E. G.; SOUSA, F. D. M.; SILVA, F. N.; ANTUNES, H. R. Monitoramento participativo da qualidade da água e diagnóstico ambiental participativo: metodologias para a gestão integrada dos recursos naturais no Semiárido. In: Encontro de Iniciação Científica da Embrapa Agroindústria Tropical, 8., 2010, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2010.

ELENDT, B. P.; BIAS, W. R. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing. Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. Magna*. **Water Research**, v. 24, n. 9, p. 1152-1167, 1990.

ENVIRONMENT CANADA. **Biological test method: test for survival and growth in sediment using the larvae of freshwater midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*)**. Ontario, 1997. (EPS 1/RM/32).

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Is your drinking water safe?** Washington, D.C., 1989. 25 p. (EPA – 570/9-89-005).

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. 2nd. ed. Washington, D.C., 2000. 192 p. (EPA – 600-99/064).

ERIKSEN, T. E.; BRITAIN, J. E.; SØLI, G.; JACOBSEN, D.; GOETHALS, P.; FRIBERG, N. A global perspective on the application of riverine macroinvertebrates as biological indicators in Africa, South-Central America, Mexico and Southern Asia. *Ecological Indicators*, v. 126, article 107609, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107609>.

FIGUEIRÊDO, M. C. B.; VIEIRA, V. P. P. B.; MOTA, S.; ROSA, M. F.; ARAÚJO, L. F. P.; GIRÃO, E.; DUNCAN, B. L. Monitoramento comunitário da qualidade da água: uma ferramenta para a gestão participativa dos recursos hídricos no semi-árido. *REGA*, v. 5, n. 1, p. 51-60, 2008.

FIGUEIREDO JUNIOR, C. A.; VALENTE JUNIOR, A. S. Cultivos de tilápia no Brasil: origens e cenário atual. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco. *Anais...* Rio Branco: SOBER, 2008. p. 1-8.

FONSECA, A. L. *Avaliação da qualidade da água na bacia do Rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com invertebrados*. 1997. 271 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

GALIC, N.; HENGEVELD, G. M.; BRINK, P. J. van den; SCHMOLKE, A.; THORBEC, P.; BRUNS, E.; BAVECO, H. M. Persistence of aquatic insects across managed landscapes: effects of landscape permeability on re-colonization and population recovery. *PlosOne*, v. 8, n. 1, article e54584, 2013. DOI : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054584>.

GIESY, J. P.; HOKE, R. A. Freshwater sediment toxicity bioassessment rationale for species selection and test design. *Journal of Great Lakes Research*, v.15, n. 4, p. 539-569, 1989.

GIRÃO, E. G.; RIBEIRO, H. A. Vigilantes da água: monitoramento participativo da qualidade da água na Bacia do Rio Jaguaribe – CE. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CONTROLE DE EROSIÃO, 8, 2009, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Associação Brasileira de Geologia e Engenharia Ambiental, 2009.

GLOBAL WATER WATCH. *CBWS Training in Chiapas, México: Community-Based Watershed Stewardship (CBWS) workshop with Certifications in Water Monitoring concluded September 7, 2013 in Montecristo, Chiapas, Mexico*. Auburn: University of Auburn, 2014. Disponível em : <https://wp.auburn.edu/gww/?cat=10>. Acesso em: 23 jul. 2021.

GULLICKSON, M. L.; LIUKKONEN, B. W. (ed.). *Guide to volunteer stream monitoring*. St. Paul: University of Minnesota, 2002. 108 p.

HAUER, F. R.; RESH, V. H. Macroinvertebrates. HAUER, F. R., LAMBERTI, G. A. (ed.). *Methods in stream ecology*. 3rd. ed. Boston: Academic Press, 2017. p. 297-319.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society London, Series B: Biological Sciences*, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003. DOI : <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.

HEBERT, P. D. N.; STOECKLE, M. Y.; ZEMLAK, T. S.; FRANCIS, C. M. Identification of birds through DNA barcodes. *Plos Biology*, v. 2, n. 10, p. 1657-1663, 2004.

HILL, J. K.; HAMMER, K. C.; LACE, L. A.; BANHAM, W. M. T. Effects of selective logging on tropical forest butterflies on Buru, Indonesia. *Journal of Applied Ecology*, v. 32, n. 4, p. 754-760, 1995.

HOLZENTHAL, R. W.; BLAHNIK, R. J.; PRATHER, A. L.; KJER, K. M. Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), caddisflies. *Zootaxa*, v. 1668, p. 639-698, 2007.

HOSOKAWA, M.; ENDO, G.; KURODA, K.; HORIGUCHI, S. Influence of sulfate, Ca and Mg on the acute toxicity of potassium dichromate to *Daphnia similis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 46, n. 3, p. 461-465, 1991.

ININBERGS, K.; BERGMAN, B.; LARSSON, J.; EKMAN, M. Microbial metagenomics in the Baltic Sea: Recent advancements and prospects for environmental monitoring. *Ambio*, v. 44, n. 3, p. 439-450, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13280-015-0663-7>.

JAGER, T.; POSTHUMA, L.; ZWART, D.; MEENT, D. Novel view on predicting acute toxicity: decomposing toxicity data in species vulnerability and chemical potency. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 67, n. 3, p. 311-32, 2007.

JANZEN, D. H.; HALLWACHS, W.; BLANDIN, P.; BURNS, J. M.; CADIOU, J. M.; CHACON, I.; DAPKEY, T.; DEANS, A. R.; EPSTEIN, M. E.; ESPINOZA, B.; FRANCLEMONT, J. G.; HABER, W. A.; HAJIBABAEI, M.; HALL, J. P. W.; HEBERT, P. D. N.; GAULD, I. D.; HARVEY, D. J.; HAUSMANN, A.; KITCHING, I. J.; LAFONTAINE, D.; LANDRY, J. F.; LEMAIRE, C.; MILLER, J. Y.; MILLER, J. S.; MILLER, L.; MILLER, S. E.; MONTERO, J.; MUNROE, E.; GREEN, S. R.; RATNASINGHAM, S.; RAWLINS, J. E.; ROBBINS, R. K.; RODRIGUEZ, J. J.; ROUGERIE, R.; SHARKEY, M. J.; SMITH, M. A.; SOLIS, M. A.; SULLIVAN, J. B.; THIAUCOURT, P.; WAHL, D. B.; WELLER, S. J.; WHITFIELD, J. B.; WILLMOTT, K. R.; WOOD, D. M.; WOODLEY, N. E.; WILSON, J. J. Integration of DNA barcoding into an ongoing inventory of complex tropical biodiversity. *Molecular Ecology Resources*, v. 9, p. 1-26, 2009. Supplement s1. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02628.x>.

JOHNSON, R. C.; CARREIRO, M. M.; JIN, H. S.; JACK, J. D. Within-year temporal variation and life-cycle seasonality affect stream macroinvertebrate community structure and biotic metrics. *Ecological Indicators*, v. 13, n. 1, p. 206-214, 2012.

JONSSON, C. M.; MAIA, A. H. N. Avaliação da toxicidade do lodo de esgoto de duas estações de tratamento para o invertebrado aquático *Daphnia similis*. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 17, p. 1-8, 2007.

KARPOWICZ, M.; SŁUGOCKI, L.; KOZŁOWSKA, J.; OCHOCKA, A.; LÓPEZ, C. Body size of *Daphnia cucullata* as an indicator of the ecological status of temperate lakes. *Ecological Indicators*, v. 117, article 106585, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106585>.

KISAND, V.; VALENTE, A.; LAHM, A.; TANET, G.; LETTIERI, T. Phylogenetic and functional metagenomic profiling for assessing microbial biodiversity in environmental monitoring. *PLoS ONE*, v. 7, n. 8, e43630, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043630>.

KOLKWITZ, R.; MARSSON, M. Ökologie der tierischen Saprobien. Beiträge zur Lehre von der biologischen Gewässerbeurteilung. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, v. 2, n. 1-2, p. 126-152, 1909.

LAMBERT, O.; PIROUX, M.; PUYO, S.; THORIN, C.; LARHANTEC, M.; DELBAC, F.; POULIQUEN, H. Bees, honey and pollen as sentinels for lead environmental contamination. *Environmental Pollution*, v. 170, p. 254-259, 2012.

- LANDEIRO, V. L.; LUIS BINI, M.; COSTA, F. R. C.; FRANKLIN, E.; NOGUEIRA, A.; SOUZA, J. L. P.; MORAES, J.; MAGNUSSON, W. E. How far can we go in simplifying biomonitoring assessments? An integrated analysis of taxonomic surrogacy, taxonomic sufficiency and numerical resolution in a megadiverse region. *Ecological Indicators*, v. 23, p. 366-373, 2012.
- LAUBER, C. L.; HAMADY, M.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and environmental microbiology*, v. 75, n. 15, p. 5111-5120, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00335-09>.
- LEE, C. K.; BARBIER, B. A.; BOTTOS, E. M.; MCDONALD, I. R.; CARY, S. C. The inter-valley soil comparative survey: the ecology of Dry Valley edaphic microbial communities. *ISME Journal*, v. 6, n. 5, p. 1046-1057, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.170>.
- LOBO, T. F.; GRASSI FILHO, H.; BULLI, L. T.; KUMMERI, A. C. B. Efeito do lodo de esgoto e do nitrogênio nos fatores produtivos do girassol. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 17, n. 5, p. 504-509, 2013.
- LUIZ, A. J. B.; SILVA, M. S. G. M. e.; LOSEKANN, M. E. Influência do número de coletores na caracterização de macroinvertebrados bentônicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AQUICULTURA E BIOLOGIA AQUÁTICA, 8., 2018, Natal. **Um olhar para a inovação: resumos**. Londrina: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2018.
- MACHADO, C. T. de T.; FERNANDES, S. G.; VILELA, M. de F.; CORREIA, J. R.; FERNANDES, L. A. Caracterização dos sistemas de produção em propriedades de pequenos agricultores da Comunidade Água Boa 2, em Rio Pardo de Minas, MG. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. 59 p. (Embrapa Cerrados. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 229).
- MALLASEN, M.; CARMO, C. F.; TUCCI, A.; BARROS, H. P.; ROJAS, N. E. T.; FONSECA, F. S.; YAMASHITA, E. Y. Water quality in Cage system fish farm in Ilha Solteira reservoir, SP. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 38, n. 1, p. 15-30, 2012.
- MATTIOLI, C. C.; CHISTE, B. M.; TAKESHITA, N. A.; JONSSON, C. M.; FERRACINI V. L.; HISANO, H. Acute toxicity and risk assessment of florfenicol for Nile tilapia larvae. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 105, n. 5, p. 721-727, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00128-020-03013-6>.
- MAZZONI-VIVEIROS, S. C.; TRUFEM, S. F. B. Efeitos da poluição aérea e edáfica no sistema radicular de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) em área de mata Atlântica: associações micorrízicas e morfologia. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 27, p. 337-348, 2004.
- MCGEOCH, M. A. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biology Review*, v. 73, p. 181-201, 1998.
- MELO, L. A. da S.; SILVA, J. R. da. **Método de isca para avaliação populacional de cupins subterrâneos como indicadores de impacto ambiental**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. 2 p. (Embrapa Meio Ambiente. Comunicado Técnico, 48).
- MONTELES, J. S.; GERHARD, P.; FERREIRA, A.; SONODA, K. C. Agriculture impacts benthic insects on multiple scales in the Eastern Amazon. *Biological Conservation*, v. 255, article 108998, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.108998>.

MOOG, O.; SCHMUTZ, S.; SCHWARZINGER, I. Biomonitoring and bioassessment. In: SCHMUTZ, S.; SENDZIMIR, J. (ed.). *Riverine ecosystem management*. Cham: Springer, 2018. p. 371-390. (Aquatic Ecology Series, v. 8).

MOURA E SILVA, M. S. G. e; QUEIROZ, J. F. de; CESNIK, R.; FERRAZ, J. M. G.; MORAES, J. F. Assessment of Oriçanga and Itupeva rivers water quality at the Pardo-Mogi watershed (São Paulo State, Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 22, n. 3, p. 335-343, 2010. DOI: <https://doi.org/10.4322/actalb.02203010>.

NEWMANN, M. C.; UNGER, M. A. *Fundamentals of ecotoxicology*. 2nd. Boca Raton: CRC Pres, 2003. 458 p.

NOSS, R. F. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*, v. 4, n. 4, p. 355-364, 1990.

NYESTE, K.; DOBROCSI, P.; CZEGLÉDI, I.; CZÉDLI, H.; HARANGI, S.; BARANYAI, E.; SIMON, E.; NAGY, S. A.; ANTAL, L. Age and diet-specific trace element accumulation patterns in different tissues of chub (*Squalius cephalus*): Juveniles are useful bioindicators of recent pollution. *Ecological Indicators*, v. 101, p. 1-10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.01.001>.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. *Guidance document on simulated freshwater lentic field tests (outdoor microcosms and mesocosms)*. Paris, 2006. 34 p. (OECD Series on Testing and Assessment, 53). Disponível em: [https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2006\)17&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2006)17&doclanguage=en). Acesso em: 22 mar. 2022.

OERTEL, N.; SALÁNKI, J. Biomonitoring and bioindicators in aquatic ecosystems. In: AMBASHT, R. S.; AMBASHT, N. K. (ed.). *Modern trends in applied aquatic ecology*. New York: Kluwer Academic: Plenum, 2003. p. 219-246.

OLIVEIRA, M. A.; GOMES, C. F. F.; PIRES, E. M.; MARINHO, C. G. S.; DELLA LUCIA, T. M. C. Bioindicadores ambientais: insetos como um instrumento desta avaliação. *Revista Ceres*, v. 61, p. 800-807, 2014. Suplemento.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. *Antimicrobial use in aquaculture and antimicrobial resistance: report of a joint FAO/OIE/WHO expert consultation on antimicrobial use in aquaculture and antimicrobial resistance*. Seoul, 2006. 107 p.

ORLOFSKE, J. M.; BAIRD, D. J. The tiny mayfly in the room: implications of size-dependent invertebrate taxonomic identification for biomonitoring data properties. *Aquatic Ecology*, v. 47, n. 4, p. 481-494, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10452-013-9460-1>.

PARAIBA, L. C.; SAITO, M. L. Distribuição ambiental de poluentes encontrados em lodos de esgoto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 40, n. 9, p. 853-860, 2005.

PILGRIM, E. M.; JACKSON, S. A.; SWENSON, S.; TURCSANYI, I.; FRIEDMAN, E.; WEIGT, L.; BAGLEY, M. Incorporation of DNA barcoding into a large-scale biomonitoring program: opportunities and pitfalls. *Journal of the North American Benthological Society*, v. 30, n. 1, p. 217-231, 2011. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/full/10.1899/10-012.1>. Acesso em: 17 mar. 2022.

PLESSL, C.; OTACHI, E. O.; KÖRNER, W.; AVENANT-OLDEWAGE, A.; JIRSA, F. Fish as bioindicators for trace element pollution from two contrasting lakes in the Eastern Rift Valley, Kenya: spatial and

temporal aspects. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 24, p. 19767-19776, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9518-z>.

PRADO, S. S. Cupins subterrâneos: perigo bem debaixo dos seus pés. **Revista Campo & Negócios - Florestas**, n. 17, p. 36-37, 2015.

PRICE, P. W. **Insect ecology**. 2nd. ed. New York: J. Wiley, 1984. 607 p.

RATNASINGHAM, S; HEBERT, P. D. N. BOLD: the barcode of life data system. **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 3, p. 355-364, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1890991/pdf/men0007-0355.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2022.

ŘEZNÍČKOVÁ, P.; PETROVAJOVÁ, V.; NERUDOVÁ, J.; HADAŠOVÁ, L.; KOPP, R. The colonization of newly built fishponds by the macroinvertebrate assemblages. **Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis**, v. 64, n. 1, p. 141-149, 2016. DOI: <https://doi.org/10.11118/actaun201664010141>.

RIEDNER, L.; BERTOLINI, G.; RIBEIRO, I.; BRANDALISE, L. Avaliação da dimensão ambiental da sustentabilidade da agricultura familiar no Oeste do Estado do Paraná. **Revista Metropolitana de Sustentabilidade**, v. 8, n. 1, p. 52-71, 2018.

RIVER HEALTH PROGRAMME. **State of rivers report: rivers of the Gouritz water management area**. Pretoria: Department of Water Affairs and Forestry, 2007. 56 p.

ROESCH, L. F.; FULTHORPE, R. R.; RIVA, A.; CASELLA, G.; HADWIN, A. K.; KENT, A. D.; DAROUB, S. H.; CAMARGO, F. A. O.; FARMERIE, W. G.; TRIPLETT, E. W. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. **ISME Journal**, v. 1, n. 4, p. 283-290, 2007. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.53>.

ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. (ed.). **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman & Hall, 1993. 488 p.

ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. Recent trends in life-history research on benthic macroinvertebrates. **Freshwater Science**, v. 29, n. 1, p. 207-219, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1899/08-082.1>.

ROSINI, E. F.; TUCCI, A.; CARMO, C. F.; BARROS, H. P. Water quality in Ponte Pensa Aquaculture Park, Solteira Island Reservoir, SP, Brazil, where fish are cultivated under great-volume cage system. **Revista Ambiente e Água**, v. 14, n. 4, p. 1-14, 2019. DOI: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2382>.

SAJJAD, H. Terrestrial insects as bioindicators of environmental pollution: a review. **UW Journal of Science and Technology**, v. 4, p. 21-25, 2020.

SANTOS, J.; BARROS, G. Uso racional da água: ações interdisciplinares em escola rural do semiárido brasileiro. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, n. 1, p. 263-271, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1075>.

SAXENA, A.; TIWARI, A.; KAUSHIK, R.; IQBAL, H. M. N.; PARRA-SALDÍVAR, R. Diatoms recovery from wastewater: Overview from an ecological and economic perspective. **Journal of Water Process Engineering**, v. 39, article 101705, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101705>.

SHEFALI; KUMAR, R.; SANKHLA, M. S.; KUMAR, R.; SONONE, S. S. Impact of pesticide toxicity in aquatic environment. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 10131-10140, 2021.

SIDDIG, A. A.; ELLISON, A. M.; OCHS, A.; VILLAR-LEEMAN, C.; LAU, M. K. How do ecologists select and use indicator species to monitor ecological change? *Ecological Indicators*, v. 60, p. 223-230, 2016.

SILVA, B. A.; LIMA, J. M. D.; FERNANDES, B. D.; BRITTO, L. H. R. Capacitação na criação animal em assentamentos no sertão da Paraíba. *Revista em Extensão*, v. 17, n. 2, p. 182-197, 2019. DOI: <https://doi.org/10.14393/REE-v17n22018-relo7>.

SILVA, M. S. G. M. e; GRACIANO, T. S.; LOSEKANN, M. E.; LUIZ, A. J. B. Assessment of benthic macroinvertebrates at Nile tilapia production using artificial substrate samplers. *Brazilian Journal of Biology*, v. 76, n. 3, p. 735-742, 2016.

SILVA, M. S. G. M. E; LOSEKANN, M. E.; LUIZ, A. J. B.; ISHIKAWA, M. M.; HISANO, H. Proposição de índices de qualidade de água para piscicultura baseado em macroinvertebrados bentônicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AQUICULTURA E BIOLOGIA AQUÁTICA, 8., 2018, Natal. *Um olhar para a inovação: resumos*. Londrina: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2018.

SILVEIRA, M. P. *Aplicação do biomonitoramento para avaliação da qualidade da água em rios*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 68 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos 36).

SIMÕES, F. S.; MOREIRA, A. B.; BISINOTI, M. C.; GIMENEZ, S. M. N.; YABE, M. J. S. Water quality index as a simple indicator of aquaculture effects on aquatic bodies. *Ecological Indicators*, v. 8, n. 5, p. 476-484, 2008.

SINGH, A.; SINGH, J. Recent approaches used in environmental monitoring methods. In: SINGH, J.; VYAS, A.; WANG, S.; PRASAD, R. (ed.). *Microbial biotechnology: basic research and applications*. Singapore: Springer, 2020. p. 355-368.

SISTE, C. E.; GIRAO, E. G.; DUNCAN, B. L. *Manual para formação e capacitação de grupos comunitários em metodologias participativas de monitoramento da qualidade da água - módulo III: avaliação físico-química*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 48 p. il. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 135).

SONODA, K. C. *Comunidades de insetos aquáticos em dois trechos do Córrego Sarandi, Distrito Federal*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010a. 19 p. (Embrapa Cerrados. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 280).

SONODA, K. C. Estrutura da comunidade de insetos do Córrego Nova Vida, ecótono entre Floresta Amazônica e Cerrado. *Revista de Ciências Ambientais*, v. 4, n. 1, p. 37-46, 2010b.

SONODA, K. C. *Variação temporal da fauna de insetos aquáticos do Córrego Sarandi, DF*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010c. 23 p. (Embrapa Cerrados. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 291).

SONODA, K. C.; FONSECA, R. B. *Mistério no mundo aquático submerso*. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 32 p.

SONODA, K. C.; FONSECA, R. B.; SZERMAN, A. L. *Quem mexeu no meu córrego?* Brasília, DF: Embrapa, 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/contando-ciencia/quem-mexeu-no-corrego-pagi>. Acesso em: 17 mar. 2022.

SONODA, K. C.; FONSECA, R. B.; ZANESCO, R. F.; SZERMAN, A. L. *Integração de unidades da Embrapa por meio da Semana Nacional de Ciência e Tecnologia e o programa Embrapa & Escola: uma experiência no Distrito Federal*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2021. 48 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 371).

SONODA, K. C.; MATTHAEI, C. R.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Contrasting land uses affect Chironomidae communities in two Brazilian rivers. **Fundamentals and Applied Limnology – Archiv für Hydrobiologie**, v. 174, n. 2, p. 173-184, 2009a. DOI: <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2009/0174-0173>.

SONODA, K. C.; MONTELES, J. S.; FERREIRA, A.; GERHARD, P. **Chironomidae da Amazonia Oriental: resposta da funcionalidade alimentar aos diferentes usos/cobertura do solo**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2018a. (Embrapa Meio Ambiente. Comunicado Técnico, 57).

SONODA, K. C.; MONTELES, J. S.; FERREIRA, A.; GERHARD, P. Chironomidae from Eastern Amazon: understanding the differences of land-use on functional feeding groups. **Journal of Limnology**, v. 77, p. 196-202, 2018b. Supplement 1. Doi: <http://dx.doi.org/10.4081/jlimnol.2018.1799>.

SONODA, K. C.; ORTEGA, E.; VETTORAZZI, C. A.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Chironomidae assemblage from four Brazilian watersheds under different anthropogenic pressure. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CHIRONOMIDAE, 17., 2009, Tianjin, China. **Program and abstracts...** Tianjin: Nakai University, 2009b. 1 CD-ROM.

SONODA, K. C.; VETTORAZZI, C. A.; ORTEGA, E. M. M. Relationship among landuse and composition of aquatic insects of four basins of São Paulo State. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 6, n. 3, p. 187-200, 2011. DOI: <https://doi.org/10.4013/nbc.2011.63.06>.

SOUSA, F. C. F. **Análise crítica da contribuição da Semana Nacional de Ciência e Tecnologia para a popularização do conhecimento científico**. 2015. 98 f. Dissertação (Mestrado em Educação para a Ciência) – Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Bauru.

SOUSA, F. D. M. de; MORENO, B. dos S.; GIRAO, E. G.; SILVA, F. N. dos S. Programa Vigilantes da Água: gestão ambiental participativo: caso da comunidade Muquém-Ibicuitinga/CE. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS HÍDRICOS DO NORDESTE, 10., 2010, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Associação Brasileira de Recursos Hídricos, 2010.

SOUSA, R. C.; ARANHA, C. P.; SILVA, A. F. G.; ROCHA, J. R. #CiênciaÚtil: Semana Nacional de Ciência e Tecnologia em escolas de campo. **Revista Brasileira de Educação do Campo**, v. 4, e6110, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.20873/uftrbec.v4e6110>.

SPEIS, M.; REISS, F. Catalog and bibliography of neotropical and mexican Chironomidae (Insecta, Diptera). **Spixiana**, v. 22, p. 61-119, 1996.

SPITZER, K.; JAROS, J.; HAVELKA, J.; LEPS, J. Effect of small-scale disturbance on butterfly communities of an Indochinese montane rainforest. **Biological Conservation**, v. 80, p. 9-15, 1997.

STEPHENS, W. W.; FARRIS, J. L. Instream community assessment of aquaculture effluents. **Aquaculture**, v. 231, n. 1-4, p. 149-162, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.08.007>.

STOECKLE, M. Y.; HEBERT, P. D. N. Barcode of life. **Scientific American**, v. 299, n. 4, p. 82-88, 2008.

STRIXINO, S. T. **Estudos sobre a fecundidade de Chironomus sancarlensis sp. n. (Diptera: Chironomidae)**. 1980. 157 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo.

STRIXINO, S. T. A largura da cabeça na determinação das fases larvais de Chironomidae na Represa do Lobo, São Paulo. 1973. 149 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

STRIXINO, G.; STRIXINO, S. T. A temperatura e o desenvolvimento larval de *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 3, n. 4, p. 177-180, 1985.

STRIXINO, S. T.; STRIXINO, G. Nova espécie do gênero *Chironomus* Meigen do sul do Brasil (Diptera: Chironomidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 25, n. 4, p. 333-340, 1980.

SUMUDUMALI, R. G. I.; JAYAWARDANA, J. M. C. K. A review of biological monitoring of aquatic ecosystems approaches: with special reference to macroinvertebrates and pesticide pollution. *Environmental Management*, v. 67, n. 2, p. 263-276, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00267-020-01423-0>.

SWEENEY B. W.; BATTLE J. M.; JACKSON J. K.; DAPKEY T. Can DNA barcodes of stream macroinvertebrates improve descriptions of community structure and water quality? *Journal of the North American Benthological Society*, v. 30, p. 195-216, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1899/10-016.1>.

TACCOGNA, G; MUNRO, K. (ed.). *The streamkeepers handbook: a practical guide to stream and wetland Ccare*. Vancouver: Salmonid Enhancement Program, Department of Fisheries and Oceans, 1995. 340 p.

TAKESHITA, N. A.; CHISTE, B. M.; JONSSON, C. M.; MATTIOLI, C. C.; HISANO, H. Avaliação da toxicidade aguda de oxitetraciclina em pós-larvas de tilápia-do-nylo. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., 2019, Campinas. *Anais...* Campinas: Instituto Agrônômico, 2019.

TAKESHITA, N. A.; CHISTE, B. M.; JONSSON, C. M.; MATTIOLI, C. C.; HISANO, H. Avaliação de doses subletais e do risco ambiental da oxitetraciclina em larvas de tilápia-do-nylo submetidas à manejo de estresse. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2020, Campinas. *Anais...* Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2020.

TAN, B.; NG, C.; NSHIMYIMANA, J. P.; LOH, L. L.; GIN, K. Y.; THOMPSON, J. R. Next-generation sequencing (NGS) for assessment of microbial water quality: current progress, challenges, and future opportunities. *Frontiers in Microbiology*, v. 6, article 1027, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01027>.

TIBCHERANI, M.; NACAGAVA, V. A. F.; ARANDA, R.; MELLO, R. L. Review of ants (Hymenoptera: Formicidae) as bioindicators in the Brazilian Savanna. *Sociobiology*, v. 65, n. 2, p. 112-129, 2018.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. *Estudo dos insetos*. 7. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2011. 816 p. VADHER, A. N.; LEIGH, C.; MILLETT, J.; STUBBINGTON, R.; WOOD, P. J. Vertical movements through subsurface stream sediments by benthic macroinvertebrates during experimental drying are influenced by sediment characteristics and species traits. *Freshwater Biology*, v. 62, n. 10, p. 1730-1740, 2017.

VANNOTE, R. L.; MINSHALL, G. W.; CUMMINS, K. W.; SEDELL, J. R.; CUSHING, C. E. The River continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 37, p. 130-137, 1980.

VIELTES, R. L.; DAIUTO, E. R.; CAMPOS, A. J. Políticas públicas para a capacitação familiar com produtos hortícolas orgânicos. *Revista Ciência em Extensão*, v. 8, n. 3, p. 289-293, 2012.

VILELA, M. de F.; CORREIA, J. R.; SANO, S. M.; SEVILHA, A. C.; MACHADO, C. T. de T.; FERNANDES, S. G.; CARRARA, A. A.; FRANZ, C. A. B. **Mapeamento e análise da dinâmica de uso e da cobertura do solo em comunidades tradicionais do Alto Rio Pardo, Minas Gerais**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. 31 p. (Embrapa Cerrados. Boletim de Pesquisa, 236).

VUATAZ, L.; SARTORI, M.; GATTOLLIAT, J. L.; MONAGHAN, M. T. Endemism and diversification in freshwater insects of Madagascar revealed by coalescent and phylogenetic analysis of museum and field collections. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 66, n. 3, p. 979-991, 2013.

WAITE, I. R.; HERLIHY, A. T.; LARSEN, D. P.; URQUHART, N. S.; KLEMM, D. J. The effects of macroinvertebrate taxonomic resolution in large landscape bioassessments: an example from the Mid-Atlantic Highlands. U.S.A. **Freshwater Biology**, v. 49, n. 4, p. 474-489, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2004.01197.X>.

WALD, A. Test of statistical hypotheses concerning general parameters when the number of observations is large. **Transactions of the American Mathematical Society**, v. 54, n. 3, p. 462-482, 1943.

WARWICK, W. F. **The use of morphological deformities in Chironomid larvae for biological effects monitoring**. Canada: Minister of Supply and Services, 1990. 34 p.

WOO, A. C.; BRAR, M. S.; CHAN, Y.; LAU, M. C.; LEUNG, F. C.; SCOTT, J. A.; VRIJMOED, L. L. P.; ZAWAR-REZAF, P.; POINTING, S. B. Temporal variation in airborne microbial populations and microbially-derived allergens in a tropical urban landscape. **Atmospheric Environment**, v. 74, p. 291-300, 2013. DOI <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.03.047>.

XIE, Y.; HONG, S.; KIM, S.; ZHANG, X.; YANG, J.; GIESY, J. P.; WANG, T.; LU, Y.; YU, H.; KHIM, J. S. Ecogenomic responses of benthic communities under multiple stressors along the marine and adjacent riverine areas of northern Bohai Sea, China. **Chemosphere**, v. 172, p. 166-174, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.121>.

XU, M.; WANG, Z.; DUAN, X.; PAN, B. Effects of pollution on macroinvertebrates and water quality bio-assessment. **Hydrobiologia**, v. 729, p. 247-259, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1504-y>.

ZAGATTO, P.; BERTOLLETTI, E. (ed.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 2006. 464 p.

ZHOU, X.; JACOBUS, L. M.; DEWALT, R. E.; ADAMOWICZ, S. J.; HEBERT, P. D. N. Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera fauna of Churchill (Manitoba, Canada): insights into biodiversity patterns from DNA barcoding. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 29, n. 3, p. 814-837, 2010.