



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS COM ÊNFASE EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS

MÉRCIA DOS SANTOS SILVA

**USO DO MOLUSCO *Biomphalaria glabrata* EM ESTUDOS DE TOXICIDADE,
MUTAGENICIDADE E GENOTOXICIDADE – UMA REVISÃO**

Recife

2022

MÉRCIA DOS SANTOS SILVA

**USO DO MOLUSCO *Biomphalaria glabrata* EM ESTUDOS DE TOXICIDADE,
MUTAGENICIDADE E GENOTOXICIDADE – UMA REVISÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Orientador (a): Dra. Maíra de Vasconcelos Lima Sampaio

Coorientador (a): Profa. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo

Recife

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Mércia dos Santos.

uso do molusco *Biomphalaria glabrata* em estudos de toxidade,
mutagenicidade e genotoxicidade - uma revisão / Mércia dos Santos Silva. -
Recife, 2022.

45 : il., tab.

Orientador(a): Maíra de Vasconcelos Lima Sampaio

Cooorientador(a): Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas /Ciências
Ambientais - Bacharelado, 2022.

1. *Biomphalaria glabrata*. 2. Toxicidade. 3. Mutagenicidade. 4.
Genotoxicidade. 5. Bioindicador. I. Sampaio, Maíra de Vasconcelos Lima.
(Orientação). II. Albuquerque Melo, Ana Maria Mendonça de . (Coorientação). III.
Título.

570 CDD (22.ed.)

MÉRCIA DOS SANTOS SILVA

**USO DO MOLUSCO *BIOMPHALARIA GLABRATA* EM ESTUDOS DE
TOXICIDADE, MUTAGENICIDADE E GENOTOXICIDADE – UMA REVISÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso de
Graduação apresentado ao Bacharelado
em Ciências Biológicas com ênfase em
Ciências Ambientais da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel.

Aprovada em: ____/____/____

COMISSÃO EXAMINADORA

Dra. Maíra de Vasconcelos Lima Sampaio / Universidade Federal de Pernambuco
(Orientadora)

Dr. Dewson Rocha Pereira / Universidade Federal de Pernambuco
(Titular)

Dra. Hianna Arely Milca Fagundes da Silva / Universidade Federal de Pernambuco
(Titular)

Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo / Universidade Federal de Pernambuco
(Suplente)

Recife

2022

Dedico aos meus pais, minha irmã, minha avó (in memoriam), ao meu esposo e amigos pelo apoio na realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me concedeu forças para chegar até aqui, guiando-me pelo melhor caminho.

A minha família, minha mãe Márcia, meu pai Guibson e minha irmã Graziela e minha avó Julia (In memoriam), que sempre fizeram tudo por mim, estiveram ao meu lado nos momentos difíceis e felizes da minha vida, por serem meu maior orgulho e inspiração, mostrando serem exemplos de honestidade, amor e amizade, amo vocês.

Ao meu esposo Cleandson e sua família, minha sogra Marlene, meu sogro Celio e minha cunhada Marcela, que me apoiaram nessa jornada.

As minhas primas Lindinalva, Marinalva (In memoriam) e Rosinalva, que sempre me apoiaram e torceram por mim.

A minha orientadora Maíra Vasconcelos e coorientadora Prof.^a Dr.^a Ana Melo, pela confiança, ensinamentos e suporte no pouco tempo que houve para realização desse trabalho. Um agradecimento especial a minha orientadora Maíra Vasconcelos, pela paciência, tempo e dedicação, agradeço a Deus por me conceder a oportunidade de lhe conhecer. A todos do laboratório de Radiobiologia, Hianna, Ingrid, Katarine, Williams, Vinícius, Luiz, Dewson e Douglas que sempre estiveram dispostos a me ajudar. Um agradecimento especial para a Prof.^a Dr.^a Thaís Emanuelle, que sempre apoiou e torceu por mim, que Deus continue abençoando e iluminando seus caminhos, você se tornou um exemplo de pessoa para minha vida.

Os meus amigos, Maylanne, Gabriel, Sterfany, Djean, Lidiane, Sandra e Camila que sempre torceram por mim. Aos amigos de graduação, Mayara Paula, Barbara Moreno, Letícia Pereira, Siomara Elis, Marcela Ninive, Diego Dourado, Elton Emílio, Esteffany Silva, Geane Ferreira, Patricia Reis e Paulo Henrique, obrigado por toda ajuda que me deram, que Deus continue iluminando o caminho de vocês.

Agradeço a todos que fizeram parte desta caminhada, que me apoiaram direta ou indiretamente, torceram e ficaram felizes com minhas conquistas.

RESUMO

Com o aumento populacional e atividades antropogênicas, surgiram a necessidade de monitorar os impactos causados por esse crescimento, principalmente o impacto ambiental em áreas dulcícolas. Para isso, é indicado a monitoração através da utilização de bioindicadores que possuam características essenciais como: sensibilidade a poluentes, reprodução rápida e contínua ao longo do ano. O molusco, *Biomphalaria glabrata*, vem sendo bastante utilizados nesses estudos, mostrando ser um ótimo modelo experimental, trazendo uma boa resposta aos testes de toxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade. Este trabalho, teve por objetivo analisar segundo dados publicados na literatura, a utilização do *B. glabrata* em estudos na ecotoxicologia contribuindo para desenvolvimentos de novas pesquisas científicas e corroborando com a padronização desse animal na área de biomonitor. Trata-se de um trabalho de revisão, onde a seleção dos artigos ocorreu por pesquisas na base de dados google acadêmico, scielo, Science/direct e repositório digital da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), com leitura dos títulos e resumos para seleção dos artigos e teses. Diante dessas pesquisas, o *B. glabrata* mostrou-se sensível a ação de agentes químicos e físicos, desde sua fase embrionária quanto na adulta, confirmando seu grande potencial como bioindicador da poluição ambiental.

Palavras-chave: *Biomphalaria glabrata*, toxicidade, mutagenicidade, genotoxicidade, bioindicador.

ABSTRACT

With the increase in population and anthropogenic activities, the need to monitor the impacts caused by this growth, especially the environmental impact in freshwater areas, arose. For this, monitoring is indicated through the use of bio-indicators that have essential characteristics such as: sensitivity to pollutants, rapid and continuous reproduction throughout the year. The mollusk, *Biomphalaria glabrata*, has been widely used in these studies, proving to be a great experimental model, bringing a good response to toxicity, mutagenicity and genotoxicity tests. This study aimed to analyze, according to data published in the literature, the use of *B. glabrata* in studies in ecotoxicology, contributing to the development of new scientific research and corroborating the standardization of this animal in the area of biomonitoring. This is a review work, where the selection of articles took place through searches in the Google Academic database, Scielo, ScienceDirect and digital repository of the Federal University of Pernambuco (UFPE), with reading of titles and abstracts for selection of articles and theses. In view of these studies, *B. glabrata* proved to be sensitive to the action of chemical and physical agents, from its embryonic and adult stages, confirming its great potential as a bioindicator of environmental pollution.

Keywords: *Biomphalaria glabrata*, toxicity, mutagenicity, genotoxicity, bioindicator.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Moluscos adultos da espécie <i>Biomphalaria glabrata</i> .	12
Figura 2 -	Esquema de um animal do gênero <i>Biomphalaria</i> retirado da concha, com a indicação de seus órgãos internos.	13
Figura 3 -	Sistema genital dissecado do molusco <i>Biomphalaria glabrata</i> em 35x.	15
Figura 4 -	Esquema do sistema genital do <i>Biomphalaria glabrata</i> .	15
Figura 5 -	Embriões do <i>Biomphalaria glabrata</i> .	17
Figura 6 -	Imagens do cometa	25
Figura 7 -	Fluxograma da seleção de artigos e inclusão neste estudo	28
Quadro 1 -	Testes de radiação	30
Quadro 2 -	Testes com herbicidas	31
Quadro 3-	Testes com lodos/poluição ambiental	32
Quadro 4 -	Teste com elementos químicos	33
Quadro 5 -	Testes com extratos de plantas	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	BIOLOGIA DO <i>Biomphalaria glabrata</i>	12
2.1.1	Embriologia do <i>B. glabrata</i>	16
2.2	AGENTES QUÍMICOS E FÍSICOS	18
2.2.1	Toxicidade agentes químicos	18
2.2.1.1	Extratos	18
2.2.1.2	Herbicidas	19
2.2.1.3	Lodos	20
2.2.2	Toxicidade agentes físicos	21
2.2.2.1	Radiação	21
2.3	BIOENSAIOS PARA ESTUDOS DE ECOTOXICIDADE	23
2.3.1	Toxicidade aguda/Letalidade	23
2.3.2	Ensaio de genotoxicidade (Teste do micronúcleo)	24
2.3.3	Ensaio cometa	24
2.3.4	Ensaio viabilidade celular	25
2.3.5	Bioacumulação	26
3	PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	28
4	ANÁLISE DOS RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

O impacto ambiental é uma das grandes preocupações mundiais da atualidade, pois ele pode causar diferentes efeitos ao meio ambiente. Dentre os principais danos ambientais causados principalmente pelo homem, pode-se citar diminuição dos mananciais, extinção de espécies, inundações, erosões, poluição, mudanças climáticas, destruição da camada de ozônio, chuva ácida, agravamento do efeito estufa e destruição de habitat (ANDRADE JUNIOR et al., 2013).

Desta forma surge a necessidade de monitorar e controlar a contaminação dos ambientes por meio de avaliações de parâmetros físico-químicos e biológicos, principalmente dos ambientes aquáticos dulcícolas, recipiente final de vários poluentes (ANDRADE JUNIOR, et al., 2013). A poluição desse ecossistema traz serias consequências para a preservação da biodiversidade, pois algumas substâncias podem danificar/prejudicar o material genético dos organismos, podendo levar a extinção das espécies que ali habitam (TALLARICO et al., 2004; OLIVEIRA, 2017).

Com o intuito de analisar os impactos desses poluentes no meio ambiente, é indicado o uso do biomonitoramento ambiental, por meio de bioindicadores como algas, plantas, protozoários, insetos, moluscos, crustáceos, peixes, anfíbios, mamíferos marinhos e ave, onde possam ser mensurados os efeitos que estes agentes causam nestes organismos vivos e consequentemente o impacto aos ecossistemas estudados. Para ser uma bioindicador, a espécie precisa possuir característica, como: baixo custo de manutenção, facilidade para quantificar e demonstrar resposta à concentração ou dose do contaminante presente no local. Espera-se que os espécimes também possam apresentar sensibilidade ao contaminante (MICHALAK; CHOJNACKA, 2014; NIKINMAA, 2014; ZHOU et al., 2008).

Estudos vem demonstrando que o molusco *Biomphalaria glabrata*, por possuir características essenciais para um bom bioindicador como sensibilidade a poluentes, reprodução rápida e contínua ao longo do ano e ampla distribuição geográfica, tem se apresentado como ótimo modelo experimental, ou seja um excelente bioindicador da presença de agentes físicos e químicos danosos ao ambiente aquático (LIMA et al., 2019a; SANTOS et al., 2018; SILVA et al., 2013).

Alguns testes foram adotados para avaliar os possíveis danos causados aos moluscos *B. glabrata* quando exposto a poluição. De acordo com Lima (2014), os testes de genotoxicidade, tais como o estudo das anomalias cromossômicas e o ensaio do micronúcleo, são aplicados como biomarcadores e vêm se mostrando como boa alternativa para análise da ação dos agentes físicos e químicos sobre moluscos. Estudos indicam também a importância da realização de testes de toxicidade em organismos vivos. Os testes de toxicidade podem ser classificados de acordo com o tempo de exposição em agudo ou crônico e o modo do efeito pode ser observado por meio da análise de morte, crescimento ou reprodução e a resposta do efeito (letal ou sub-letal)(OLIVEIRA, 2017).

Portanto, este trabalho tem como objetivo geral analisar a utilização do molusco *Biomphalaria glabrata* em estudos de toxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade, por meio de uma revisão bibliográfica sistemática.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O *Biomphalaria glabrata* é uma espécie que além de ter uma importância sanitária, tem uma extrema importância ambiental, pois é um organismo sensível as alterações ambientais físicas (TALLARICO et al., 2004, SILVA et al., 2008) ou de natureza química (LIMA et al., 2019b; SILVA et al., 2008), e tem se mostrado um ótimo modelo experimental como bioindicador ambiental para agentes químicos e físicos, apresentando uma embriologia bem conhecida, detectam mutações genéticas, são de fácil manutenção e possuem uma boa repetibilidade experimental (OLIVEIRA, 2017).

2.1 BIOLOGIA DO *Biomphalaria glabrata*

Os moluscos *Biomphalaria glabrata*, podem ser definidos taxonomicamente como: pertencentes ao reino Animallia, filo Mollusca, classe Gastropoda, subclasse Pulmonata, ordem Basommatophora, família Planorbidae e gênero *Biomphalaria* (REY, 2008).

Sendo *Biomphalaria glabrata* (Figura 1), é o maior molusco da família Planorbidae, apresentando até 40mm de diâmetro e 11mm de largura, possuindo uma concha que contem de seis a sete giros em espiral plana sem opérculo, com periferia arredondada, com o lado direito mais escavado que o esquerdo (NEVES, 2005; REY, 2001).

Figura 1 - Moluscos adultos da espécie *Biomphalaria glabrata*.

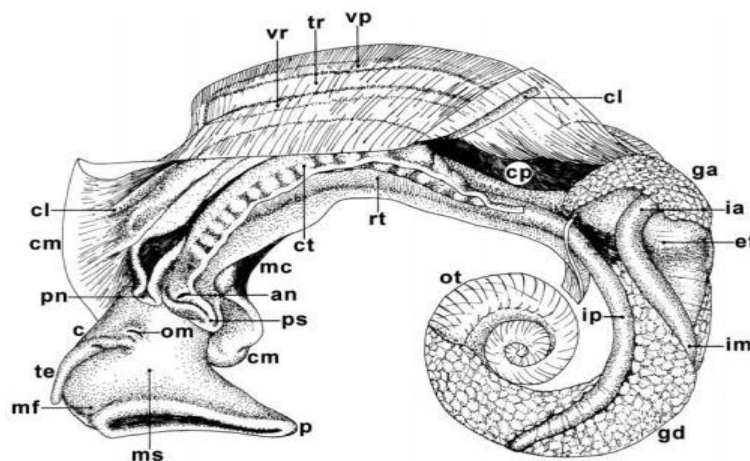


Fonte: Sampaio (2021).

O gastrópode *Biomphalaria* possui uma concha que consiste em um variado número de camadas orgânicas e calcárias, onde a camada mais externa da concha, o perióstraco, é composta apenas por material orgânico, e seu tom amarronzado, conhecido como conchiolina, é devido ao material protéico associado à quinonas. A camada interna é composta por cristais de carbonato de cálcio (BARNES; RUPPERT, 1996), e para a síntese das conchas os sais de cálcio são obtidos dos alimentos, que ficam depositados no hepatopâncreas sob a forma de fosfato. Quando necessário, o fosfato sofre a ação das fosfatases, que é quando os depósitos são mobilizados e transportados através da hemolinfa do animal até o manto, e são transformados em carbonatos (REY, 2008). A concha envolve as vísceras, além de proteger e abrigar o corpo do molusco (Figura 2) (AMARAL; THIENGO; PIERI, 2008).

O sistema digestivo (Figura 2) é composto em boca, cavidade bucal, esôfago, estômago, intestino, reto e ânus. A boca encontra-se na parte anterior na cabeça, abrindo para dentro da cavidade bucal (BARNES; RUPPERT, 1996). Apresenta espessamentos cuticulares denominados de mandíbula e rádula, fita alongada e revestida de numerosos dentes quitinosos, cujos dentículos, em forma de ganchos, estão voltados para o interior da cavidade bucal (CANTINHA, 2008; REY, 2008). A rádula é um órgão (uma língua raspadora), que faz com que os alimentos sejam ralados e cortados e os resíduos da digestão expelidos pelo intestino.

Figura 2 - Esquema de um animal do gênero *Biomphalaria* retirado da concha, com a indicação de seus órgãos internos.



Fonte: Carvalho et al. (2014).

Massa cefalopodal (ms), cavidade pulmonar (cp), mufla (mf), tentáculo (te), colo (c), abertura genital masculina (om), colar ou borda do manto (cm), pseudobrânquia (ps), pneumóstoma (pn), abertura anal (an), músculo columelar (mc), crista lateral (cl), crista retal (ct), veia renal (vr), veia pulmonar (vp), tubo renal (tr), reto (rt), glândula do albúmen (ga), intestino anterior (ia), intestino médio (im), intestino posterior (ip), estômago (et), glândula digestiva (gd), pé (p), ovoteste (ot).

A respiração é feita pelo saco pulmonar (principal órgão respiratório, se abrindo na cavidade paleal, abaixo do manto, através de uma prega denominada pneumóstoma) e pseudobrânquias, pregas tegumentares rica em vasos (CANTINHA, 2008; NEVES, 2022; REY, 2008; CIMERMAM; CIMERMAM, 2001).

O rim tem formato alongado, com inúmeros septos e granulações internas, que vai da cavidade pericárdica até a borda do manto. A crista renal é composta de uma prega mucosa, saliente e pigmentada (NEVES, 2022; REY, 2008; BARNES; RUPPERT, 1996).

O sistema nervoso central é constituído por vários pares de gânglios, alguns estão associados a um anel nervoso esofágico e dois cordões nervosos longitudinais, seus órgãos sensoriais incluem olhos, tentáculos (receptores de contato), um par de otocistos (órgão do equilíbrio e orientação locomotora), osfrádios (órgão quimiossensorial e quimiorreceptores), modificados ou não, denominados de rinóforos (REY, 2008; CIMERMAM; CIMERMAM, 2001; BARNES; RUPPERT, 1996).

O sistema circulatório é composto por coração com duas cavidades (aurícula e ventrículo). A hemolinfa (sangue) contém elementos ameboides (hemócitos), plasma rico em água, cloreto de sódio, bicarbonato e hemoglobina contendo ferro dissolvido, permitindo a utilização do oxigênio à baixa tensão (PESSÔA; MARTINS, 2011; REY, 2008; GUERRERO et al., 1997). Por ter um sistema circulatório aberto, os hemócitos podem se mover livremente nos tecidos (tanto para fora quanto para dentro), sendo eles, as principais células de defesa do caramujo (KNAAP; LOKER, 1990).

Esses moluscos são hermafroditas, com gônada única em forma de cacho, denominadas ovoteste, onde óvulos e espermatozóides são formados lado a lado, no entanto, não são produzidos ao mesmo tempo. O ovoteste possui

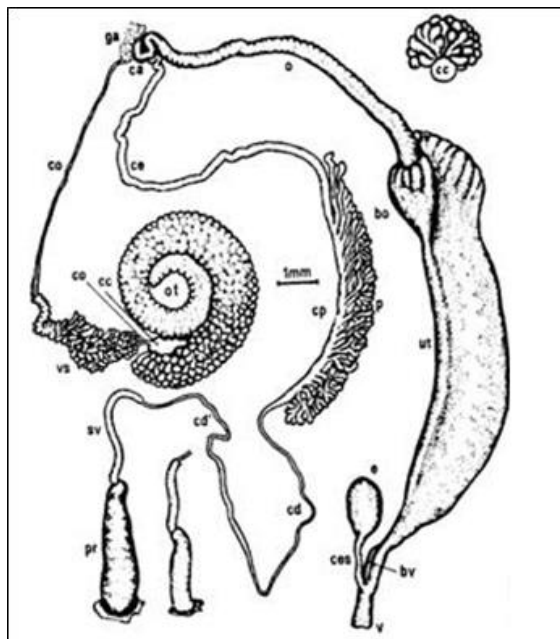
diversos folículos, sendo cada um, uma unidade de produção de gametas femininos e masculinos (Figura 3 e 4) (CANTINHA, 2008; CIMERMAM; CIMERMAM, 2001).

Figura 3 - Sistema genital dissecado do molusco *Biomphalaria glabrata* em aumento de 35x.



Fonte: Cantinha (2008).

Figura 4 - Esquema do sistema genital do *Biomphalaria glabrata*.



Fonte: Rey (1991).

Bolsa da glândula nidimental (bo), bolsa vaginal (bv), conexão entre os canais ovispermático e da glândula albuminosa, o oviduto e o espermiduto (ca-), canal coletor do ovotestis (cc), canal deferente (cd), espermiduto(ce), canal da espermateca(ces), canal ovispermático ou canal

hermafrodita (co), canal prostático (cp), espermateca (e), glândula do albúmen(ga), oviduto (o), ovotestis (ot), próstata, com divertículos prostáticos (p), prepúcio (pr), útero ou glândula nidimental (ut), vagina (v), saco vérgico ou bolsa do pênis(vs).

Estudos vem sendo realizados em *B. glabrata* com o objetivo de analisar os efeitos de elementos químicos, através de testes de mortalidade (ou taxa de sobrevivência dos moluscos diante da substância testada), danos ao DNA, além do acompanhamento do desenvolvimento no período embrionário; (SILVA et al., 2013; LIMA et al., 2019b; SIQUEIRA et al., 2021).

2.1.1 Embriologia do *B. glabrata*

De acordo com Camey; Verdonk (1969), Kawano; Okazaki; Ré (1992), Kawano; Nakano; Watanabe, (2008) os estádios de desenvolvimentos embrionário do *Biomphalaria*: blástula, gástrula, trocófora e véliger.

As desovas do *Biomphalaria* no meio ambiente podem chegar a mais de 100 ovos, chegando a medir em torno de 100µm de diâmetro. Suas desovas geralmente são feitas próximo a superfície ou lamina d'água. Após a oviposição, começa as múltiplas clivagens celulares até atingir o estágio de blástula, que ocorre de 0 a 15 horas após a primeira clivagem (Figura 5A).

Entre a 24^a a 39^a h após a primeira clivagem do ovo, acontece o segundo estágio embrionário, denominado gástrula (Figura 5B). Neste caramujo o tipo de gastrulação ocorre por invaginação. Inicialmente o embrião sofre uma mudança na sua morfologia, da forma arredondada para achatada no sentido do pólo animal para o pólo vegetativo. Conforme as células vão se invaginando, a cavidade ira aumentando formando inicialmente uma abertura esférica que vai se fechando gradualmente. No final da gastrulação haverá o aparecimento da boca.

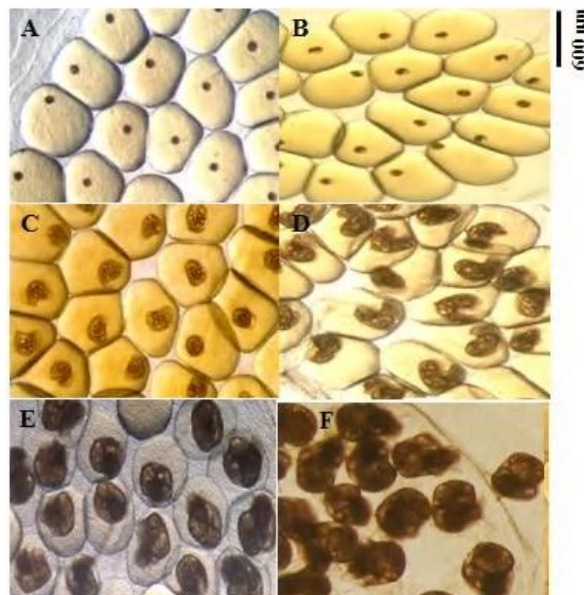
O terceiro estágio embrionário, trocófora (Figura 5C), ocorre entre a 48^a a 87^a h após a primeira clivagem, caracterizado pela formação das regiões pré-trocal (encontra-se a futura região cefálica com a presença da placa apical, futura região dos olhos e tentáculos e da vesícula cerebral) e pós-trocal (encontra-se a boca, situada abaixo da placa apical e na região oposta encontra-se a glândula da concha).

Após a primeira clivagem entre 96^a a 111^a h ocorre o quarto estágio embrionário, estágio véliger (Figura 5D). Caracterizado pela alta movimentação embrionária dentro do ovo e a formação quase completa de um caramujo jovem.

Nas 120^a h da primeira clivagem, tem o quinto e último estágio, denominado hipo stage, caracterizado pela formação completa do embrião, apresentando formação da concha que cobre parte do corpo e do pé, evidenciando o início da assimetria pelo desvio da concha para o lado direito, também neste último estágio onde são evidenciados os tentáculos e os olhos em suas extremidades na região das placas cefálicas (Figura 5E).

Por fim, a partir das 168^a após a primeira clivagem, nas condições favoráveis de temperaturas (25 °C), os embriões podem eclodir das desovas, denominados caramujos jovens (Figura 5F).

Figura 5- Embriões da *Biomphalaria glabrata* em diferentes estágios evolutivos. (A) blástula, (B) gástrula, (C) trocófora, (D) véliger, (E) hippo stage e (F) caramujos jovens.



Fonte: Araújo et al. (2018a).

2.2 AGENTES QUÍMICOS E FÍSICOS

Com o processo de modernização, como o aceleração industrial, surgiram também as consequências de poluição e degradação ambiental. Os seres vivos, estão sujeitos a vários riscos decorrentes da exposição de diferentes fatores, tais como: biológicos, químicos e físicos. Em relação aos fatores químicos, são inúmeros agentes com potenciais tóxicos presentes no ar, água e alimentos, o que torna importante determinar um bom bioindicador para avaliar o meio ambiente. (AMORIM, 2003).

Para saber os impactos antropogênicos e analisar as consequências de acumulação de elementos químicos no organismos dos B.glabrata, são feitos testes de ecotoxicidade, que mostram os efeitos colaterais de uma substância tóxica aos níveis de alteração nos processos metabólicos, modificações na morfologia celular e comportamento dos organismos expostos (SANTOS, 2021; SAMPAIO, 2021; HABIB et al., 2016; ZHOU et al., 2019).

2.2.1 Toxicidade agentes químicos

2.2.1.1 Extratos

Moluscicida são pesticidas utilizados no controle de moluscos, como lesmas e caracóis que atingem principalmente as lavouras prejudicando o seu rendimento. Existem moluscos de importância médico sanitário que também precisam ser controlado, como é o caso do *Biomphalaria*. Algumas espécies do gênero são vetores do trematódeo *Schistosoma mansoni*, que é o agente etológico da esquistossomose. Essas moluscicidas geralmente incluem metaldeído, metiocarbe, sulfato de alumínio e niclosamida, porém devem ser usadas com cautela para não causar danos a outros seres que não são alvo de sua aplicação (SILVA et al., 2008). A eficácia no uso do moluscicida vai depender de vários fatores, desde o comportamento do caramujo até as características dos componentes utilizados. Deve apresentar alta efetividade, não interferência nas populações vegetais e animais do ambiente, baixo custo, praticidade e

facilidade de aplicação (GIORDANI; NEVES; ANDREOLI, 2005; PESSÔA; MARTINS, 1988).

Por ter uma extensa distribuição geográfica e altos índices de infecção, muitas pesquisas estão sendo feitas com a utilização do caramujo *Biomphalaria glabrata* tanto na sua fase adulta quanto na embrionária, para verificar o efeito dos extratos que não sejam tóxicos para o meio ambiente, pois no Brasil o moluscicida utilizado é o niclosamida (recomendado OMS), um moluscicida sintético que causa danos ao meio ambiente (KING; BERTSCH 2015; SILVA et al., 2008; BARBOSA; GOMES, 2008).

Com a necessidade de encontrar moluscicidas eficientes e ecologicamente aceitáveis, se iniciou a busca em plantas de substâncias bioativas que pudessem ser utilizadas, mantendo as características do produto (AMARAL; THIENGO; PIERI, 2008; VASCONCELLOS et al., 2006), e alguns estudos demonstram a atividade moluscicida de extratos de plantas e de seus metabólitos secundários (ZHANG et al., 2012; DAWIDAR et al., 2012; SALAMA; TAHER; EL-BAHY, 2012). Compostos de origem liquênica também já foram avaliados quanto ação moluscicida sobre *B. glabrata* (ARAUJO, 2020). Por exemplo, SILVA et al (2019), que estudaram os efeitos toxicológicos de *Ramalina aspera* (líquen) em *Biomphalaria glabrata*, MARTINS et al (2014; 2017), avaliou o Sal de potássio de ácido úsnico: uma alternativa para o controle de *B. glabrata* (Say, 1818) e O ácido barbático mostrando uma nova possibilidade de controle de *B. glabrata* e do *Schistosoma mansoni*, respectivamente.

2.2.1.2 Herbicidas

Os herbicidas são utilizados para eliminar ou impedir o crescimento de ervas daninhas, que se tratam de plantas que atrapalham o desenvolvimento de plantas principais das palntações. A classe dos herbicidas possui um grande destaque os praguicidas mais utilizados no mundo, suas substâncias são classificadas conforme o modo de uso, a atividade exercida, pelo mecanismo de ação sobre a planta e a seletividade, podendo ou não ser seletivos (quando destroem todas as plantas) (TANG et al., 2021; DOS SANTOS; RIBEIRO, 2019;

SILVA; COSTA, 2012; CONSTANTIN, 2011; JARDIM; ANDRADE; QUEIROZ, 2009).

Em uma plantação de cana-de-açúcar, por exemplo, as plantas daninhas devem ser controladas por um longo período, e os herbicidas necessários para esse controle são os que não possuem uma ação residual prolongada (CARVALHO; CAVAZZANA; JÚNIOR, 2005; VELINI; NEGRISOLI, 2000). Estudos mostram que em 2020, os herbicidas apresentavam 48% do total de agrotóxicos aplicados no Brasil, devido as extensas áreas de plantação, isso requer uma atenção, pois, de um modo geral, os herbicidas possuem um grande risco de alcançar os lençóis freáticos, aumentando a probabilidade de contaminação em tempos de chuvas (SINDIVEG, 2020; ARMAS et al., 2007; SPADOTTO et al., 2004; SPADOTTO, 2002).

2.2.1.3 Lodos

Com o aumento da população, aumenta-se as atividades humanas, com isso grandes volumes de águas residuais são gerados, e que precisam passar por tratamentos antes de serem despejados em águas superficiais, onde esse tratamento passa por alguns processos que são: físico (flotação e sedimentação), químico (floculação) e biológico (tratamento microbiano), onde parte da matéria orgânica é absorvida e convertida, fazendo parte da biomassa microbiana, o lodo (RAHEEM et al., 2018; ANDREOLI et al., 2006).

O lodo é uma mistura de substâncias químicas, subprodutos sólidos do tratamento de esgoto, em que sua composição é variável, podem ser tóxicos, como: zinco, mercúrio, cromo, cádmio entre outros.

Assim como compostos orgânicos como: alquilfenóis, hidrocarbonetos aromáticos, bifenilos policlorados e muitos outros, pois dependem de várias circunstâncias, desde as características das águas até os agentes coagulantes utilizados (ZAKER et al., 2019; BARAKAT et al., 2017; SYED-HASSAN et al., 2017; ANDREOLI et al., 2006).

Com o aumento da população, aumenta-se as atividades humanas, com isso grandes volumes de águas residuais são gerados, e que precisam passar por tratamentos antes de serem despejados em águas superficiais, onde esse tratamento passa por alguns processos que são: físico (flotação e sedimentação), químico (floculação) e biológico (tratamento microbiano), onde parte da matéria orgânica é absorvida e convertida, fazendo parte da biomassa microbiana, o lodo (RAHEEM et al., 2018; ANDREOLI et al., 2006).

O lodo também pode ser encontrado em processos naturais de sedimentação de materiais constituídos de matéria orgânica, areia e argila, na profundidade de um corpo de água (mares, rios, lagos ou pântanos), onde são formados por aproximadamente 1-5% de materiais sólidos, 60% de compostos orgânicos não tóxicos, poluentes orgânicos, patógenos e componentes inorgânicos (TEZEL; TANDUKAR; PAVLOSTATHIS, 2011; WANG; RUDOLPH; ZHU, 2008).

Por ser rico em nutrientes orgânicos o lodo pode ser um portador de vários tipos de contaminantes, principalmente elementos químicos potencialmente tóxicos. Por toda sua riqueza nutricional o lodo vem sendo bastante utilizado no setor agrícola, fazendo necessário o estudo da sua toxicidade para conferir os níveis de segurança para sua utilização (BLOEM et al., 2017; SIQUEIRA 2019). De acordo com Siqueira (2019), para avaliar o potencial tóxico do lodo, a utilização de biomonitores e marcadores biológicos podem ser uma boa possibilidade.

2.2.2 Toxicidade agentes físicos

2.2.2.1 Radiação

Radiação é um tipo de energia, emitida por uma fonte que se propaga da matéria ou do espaço na forma de partículas (radiação corpuscular) ou ondas eletromagnéticas (radiação eletromagnética). Dependendo de sua energia e forma de interação, a radiação pode ser classificada em ionizante (radiação gama e os raios-X), quando possui energia suficiente para arrancar elétrons do

átomo, produzindo pares de elétrons, e não ionizante que pode causar excitação dos átomos, quebrando moléculas e ligações químicas. São exemplos de radiação não ionizante os raios ultravioletas, infravermelhos, as ondas de radiofrequência, o *laser*, as microondas (OKUNO; YOSHIMURA, 2010; BITELLI, 2006; CNEN, 2005; SEGRETO; SEGRETO, 2000).

Os efeitos da radiação em nível celular são decorrentes de mudanças ocorridas durante a duplicação ou erro no reparo de danos do DNA, causando instabilidade cromossômica transmissível. Os efeitos podem ocorrer de forma direta ou indireta, direta quando as radiações ionizantes interagem diretamente com componentes celulares como DNA, proteínas e lipídios, provocando alterações estruturais, ou indireta quando existe uma interação da radiação com moléculas de água, produzindo radicais livres e estes por sua vez atingem as moléculas alvos. Os radicais livres que são produzidos pela radiólise da molécula da água, podem ser primários: $\bullet\text{OH}$, $\bullet\text{H}$ e e^- , e secundário: H_2O_2 . Estes radicais por serem eletronicamente instáveis, podem exercer duas funções sobre as biomoléculas: funcionando como agentes oxidantes (receptores de elétrons), e funcionando como agentes redutores (doadores de elétrons). O DNA expõe-se basicamente a dois tipos de danos: mutações gênicas e quebras, acarretando falhas na divisão celular podendo levar a morte celular ou a efeitos variados mesmo depois de vários ciclos mitóticos (BITELLI, 2006).

De acordo com Okuno e Yoshimura (2010), os efeitos biológicos da radiação são comumente classificados em relação a dependência da dose, tempo de aparecimento e tipos de efeitos.

Para o estudo dos efeitos biológicos das radiações ionizantes e de agentes químicos, os animais ideais devem conter como características um curto ciclo de vida, fácil manutenção em laboratório, baixo custo de manutenção, resposta rápida e precisa e boa reprodutibilidade. Por reunir todas estas características, o *B. glabrata* vem se tornando alvo de estudo para sua utilização como um excelente bioindicador, não apenas da ação de agentes químicos, mas também de agentes físicos presentes no meio ambiente (CANTINHA, 2008).

2.3 BIOENSAIOS PARA ESTUDOS DE ECOTOXICIDADE

2.3.1 Toxicidade aguda/Letalidade

Toxicidade é a capacidade de uma substância química de produzir efeitos nocivos em um organismo, podendo incluir desde alterações genéticas, imobilidade, deformidades e até letalidade. Os testes de toxicidade podem ser classificados de acordo com o tempo de exposição (agudo ou crônico) e o modo do efeito pode ser observado por meio da análise de crescimento, reprodução, mortalidade e a resposta do efeito (letal ou sub-letal) (KAPANEN; ITAVAARA, 2001).

Os ensaios de toxicidade aguda analisam a capacidade de uma determinada substância causar efeitos danosos (em geral morte ou imobilidade) aos organismos-teste após um curto período de exposição ao produto de estudo (normalmente inferior a 96 horas), frequentemente os resultados são expressos em termos de CL₅₀ (Concentração Letal para 50% dos organismos expostos) ou CE₅₀ (Concentração Efetiva para 50% dos organismos expostos) (GERALDINO et al., 2004).

Sendo o efeito agudo definido como, uma resposta rápida e severa dos organismos a um estímulo que pode se manifestar num determinado período causando quase sempre a letalidade, podendo ocorrer também a imobilidade (CETESB, 1990). Entretanto, como os efeitos não se restringem à morte (toxicidade aguda), outras consequências menos adversas e/ou menos perceptíveis podem passar despercebidas se não forem realizados outros ensaios como, por exemplo, o teste de toxicidade crônica, que abrange parte ou um ciclo completo de vida do organismo, avaliando as substâncias químicas decorrentes de uma exposição duradora, em que os *B. glabrata* para serem analisados, precisam estar vivos após a exposição (GERALDINO et al., 2004; RAND; WELLS; MCCARTY, 1995).

2.3.2 Ensaio de genotoxicidade (Teste do micronúcleo)

Os micronúcleos (MN) são corpúsculos similares em estrutura ao núcleo, constituído de uma pequena massa nuclear delimitada por membrana e separada do núcleo principal, podendo ser formados devido agentes físicos, químicos ou biológicos como consequência de danos genéticos, que são capazes de interferir no processo de ligação do cromossomo às fibras do fuso ou que possam induzir a perda de material genético, como cromossomos inteiros ou fragmentos de cromossomos e por isso ocorre a formação de micronúcleos (SILVA, 2010; VILLELA et al., 2006a; HEDDLE et al, 1991; SCHMIDT, 1975).

Por se mostrarem um ótimo biomarcador da ação de agentes genotóxicos ou mutagênicos, o micronúcleo vem sendo bastante utilizado em estudos ecotoxicológicos em *B. glabrata* (SILVA, 2010; VILLELA, 2006b; ARIAS, et al., 2007)

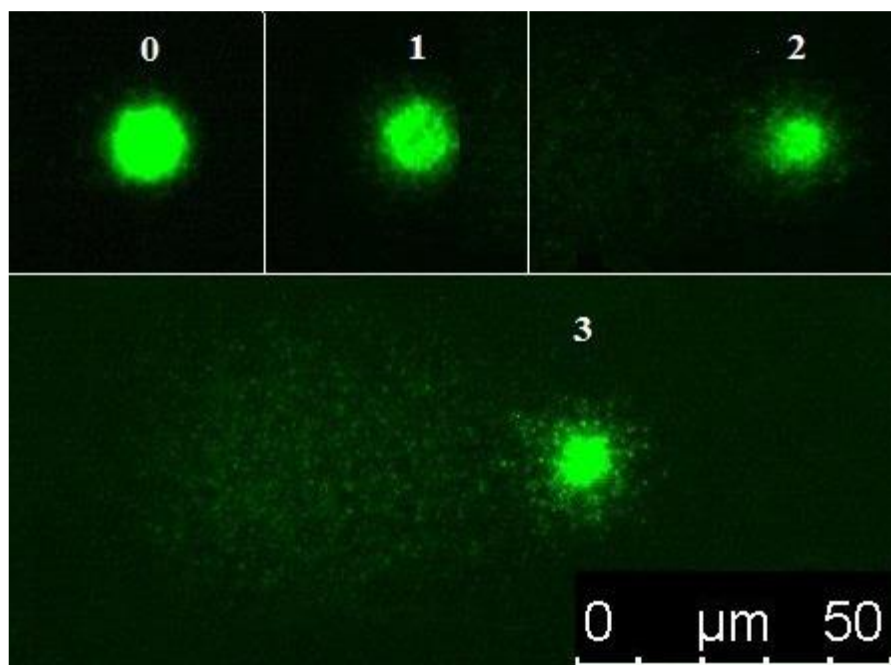
O teste do MN é um ensaio tecnicamente simples, uma triagem rápida e de baixo custo, adequada para avaliar a exposição de caramujos e peixes marinhos e de água doce a contaminantes sendo um importante indicador precoce de danos com consequências irreversíveis, além de ser bastante utilizado, junto ao ensaio do cometa e da análise de aberrações cromossômicas (FREIRE et al., 2008; CÓLUS; MARTINEZ, 2002).

2.3.3 Ensaio cometa

O ensaio cometa em *Biomphalaria glabrata* tem como objetivo detectar danos no DNA, pois a hemolinfa deste animal contem hemócitos que estarão em contato direto com os contaminantes, onde as células são submetidas a uma eletroforese em condições alcalinas ($\text{pH} \geq 13$), que acarretara em elevados níveis de quebras da molécula de cadeias simples e dupla. Quando o DNA danificado se separa do DNA intacto, observa-se através da microscopia de fluorescência estruturas que se assemelham com cometas, que são quantificados de acordo com o grau de dano ao DNA. Por possuir características

como: baixo custo, metodologia rápida, simples, sensível e flexível em avaliações de genotoxicidade, o ensaio cometa vem se tornando uma ferramenta importante para o biomonitoramento ambiental (MORAIS, 2020; COLLINS et al., 2017; SAKHVIDI et al., 2016; LIMA, 2014; LEE; STEINERT, 2003; SINGH et al., 1988).

Figura 6- imagens de cometas, a partir de hemócitos expostos ao mms de *biomphalaria glabrata*, corados com sybr safe. categoria zero (0) representa a ausência de dano genético, e as categoria de 1-3 indicam dano ao dna de forma crescente.



Fonte: Pereira et al. (2019).

2.3.4 Ensaio viabilidade celular

A citotoxicidade, a mutagenicidade e a genotoxicidade englobam o estudo de substâncias que podem causar alterações no processo de divisão celular, consequentemente que causam mutações cromossômicas pelos seus efeitos tóxicos, permitindo avaliar alterações, como apoptose, binucleações celulares, grânulos celulares e micronúcleo (OLIVEIRA, 2017).

As primeiras informações fornecidas sobre a segurança em utilizar compostos químicos, são feitas através dos testes de toxicidade celular, onde a

exposição a estes agentes tóxicos pode causar vários efeitos em diferentes níveis de organização biológica, desde a estruturas celulares até populações e comunidades (OLIVEIRA, 2017; MARTINI, 2013).

A técnica para analisar a viabilidade celular, consiste na coloração das células com um corante azul de Trypan, permitindo mostrar se as células estão intactas (células viáveis), que são as que não absorvem o corante e as células não intactas (células inviáveis), que absorvem o corante por terem sua membrana danificada. Importante destacar, que este método não permite a diferenciação entre as células apoptóticas e necróticas. Estudos apontam, que a utilização dessa técnica é de fato capaz de identificar a viabilidade de células hemocitárias do moluscos *B. glabrata* (MORAIS, 2020; SAMPAIO, 2021).

2.3.5 Bioacumulação

Diversos estudos vêm sendo realizados, procurando compreender as consequências de elementos químicos em órgãos e sistemas de animais, dentro do ambiente em que se encontram através da bioacumulação. A acumulação no organismo não depende só da disponibilidade do elemento químico no ambiente, mas também em acúmulos no substrato (GEREMIA, 2015; PINHEIRO et al., 2013; BRYAN; DARRACOTT, 1979; RAINBOW, 1995).

Bioacumulação é o processo que resulta em frações de massa de elementos químicos mais elevadas de substâncias químicas nos tecidos vivos (SIJM; HERMENS, 2000). Com isso, espécies como crustáceos e moluscos são destaques em estudos de biomonitoração ambiental (FERREIRA et al., 2013; MARENGONI et al., 2013; UNGHERESE et al., 2010; MATTHEWS-CASCON; LOTUFO, 2006; UGOLINI et al., 2004; OEHLMANN; SCHULTE-OEHLMANN, 2003). O molusco *B. glabrata* vem sendo bastante utilizado em estudos para análise de bioacumulação de elementos químicos. O processo consiste na separação do tecido mole (o corpo do animal) da concha, após a separação os animais são congelados a -4 °C, e posteriormente liofilizadas até peso da massa tornar constante. Com o auxílio de almofariz de vidro as amostras fragmentadas

e homogeneizadas e em seguida analisadas em Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Grafite (GFAAS) (SIQUEIRA, 2019; SAMPAIO, 2021).

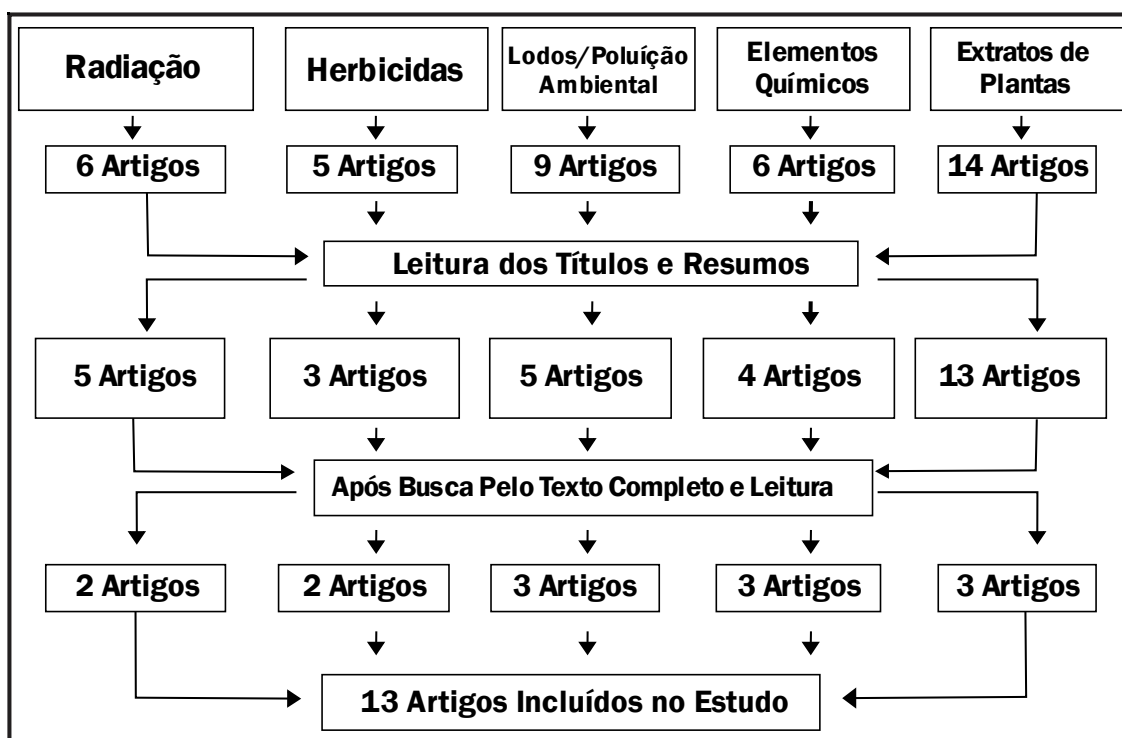
Diante disso, o *B. glabrata* tem as características necessárias (sensibilidade a poluentes, reprodução rápida e contínua ao longo do ano) de um bom indicador ambiental (SANTOS et al., 2018; LIMA et al., 2019b).

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O estudo trata-se de uma revisão de literatura, com a finalidade de reunir e sintetizar os resultados da temática proposta de modo organizado, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento do tema abordado.

Para o desenvolvimento, foi adotada a seguinte metodologia, dividida em quatro etapas (figura 5):

Figura 7- Fluxograma da seleção de artigos e inclusão neste estudo.



Fonte: Autor (2022).

1º - elaboração do tema, e definição dos descritores;

2º - Busca e extração dos dados;

3º - avaliação dos estudos encontrados;

4º - análise e síntese dos resultados;

Os trabalhos selecionados, entre os meses de julho e agosto/2022, por meio de busca eletrônica com a utilização das bases de dados google acadêmico, scielo, sciencedirect e repositório digital da UFPE. Foram considerados como critérios de inclusão trabalhos de autores brasileiros, trabalhos feitos na UFPE entre os anos de 2010 a 2022.

Ao final da revisão de literatura, foram selecionados os artigos através das seguintes etapas:

1º - Busca por “títulos”;

2º - seleção daqueles que apresentaram “o uso do molusco *Biomphalaria glabrata* em estudos de toxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade” no título;

3º - leitura do texto completo dos resumos dos documentos.

Deste modo foram determinados os estudos que compreendem a demonstração da literatura estudada, mantendo a autenticidade das ideias, conceitos e definições dos autores.

4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Durante o levantamento de dados foram encontrados 19 estudos sobre o uso do caramujo *Biomphalaria glabrata*.

Na tabela, são apresentados a síntese dos resultados dos trabalhos.

Quadro 1: Testes de radiação.

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	ESPÉCIES
ARAÚJO FILHO, 2013	Análise da radiosensibilidade de hemócitos de <i>Biomphalaria glabrata</i> por meio do teste do micronúcleo.	Avaliar a frequência de micronúcleos em hemócitos de <i>B. glabrata</i> expostos a altas dose de radiação gama de ^{60}Co , visando contribuir para uma padronização do ensaio como indicador de contaminação radioativa em ambientes aquáticos.	<i>B. glabrata</i> (adultos)
SILVA et al., 2013	Avaliação da radiosensibilidade de hemócitos de <i>Biomphalaria glabrata</i> expostos à radiação gama.	Detectar os efeitos genotóxicos da radiação gama de ^{60}Co em hemócitos de <i>B. glabrata</i> , por meio do teste do micronúcleo, bem como estabelecer este ensaio como um novo biomarcador ambiental.	<i>B. glabrata</i> (adultos)

Nos diversos estudos encontrados, foi avaliado uso do molusco *Biomphalaria glabrata* em estudos de toxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade. Tanto Silva et al. (2013) quanto Araújo Filho (2013), tinham por objetivo contribuir para a padronização do ensaio do micronúcleo nos hemócitos do molusco adulto.

Silva (2013), através do seu trabalho conseguiu o início da padronização da técnica do MN em *B. glabrata* como bioindicador ambiental da ação de agentes químicos e físicos. Para alcançar seu objetivo, os autores expuseram os moluscos a doses de 25, 35, 45 e 55 Gy de radiação gama ^{60}Co , e ao analisar a hemolinfa, observaram que os animais irradiados com 35 Gy apresentaram um número menor de hemócitos, enquanto os irradiados com 55 Gy apresentaram uma quantidade maior de hemócitos, sendo esta também a dose mais radiotóxica, apresentando alterações nucleares e a existência de apoptose.

O estudo de Araújo Filho (2013), acrescenta que o molusco exposto a dose de 60 Gy apresenta um número ainda maior de células morfologicamente alteradas que os animais expostos a 55 Gy (radiação gama ^{60}Co). Ambos os

estudos mostraram que quando comparado com o grupo controle negativo todos os animais expostos a doses radioativas tiveram uma maior frequência de MN, mesmo sem apresentar uma dose resposta. Os moluscos adultos de *B. glabrata* mostraram-se sensíveis aos efeitos da radiação gama de ^{60}Co , possibilitando assim, a utilização deste animal como indicador da radiação ambiental.

Quadro 2: Testes com herbicidas.

AUTOR/ANO	TITULO	OBJETIVOS	ESPECIES
LIMA et al., 2019a	Cytotoxic and genotoxic effect of oxyfluorfen on hemocytes of <i>Biomphalaria glabrata</i> .	Detectar alterações mutagênicas em hemócitos de <i>B. glabrata</i> exposto ao oxifluorfen.	<i>B. glabrata</i> (adultos)
LIMA, 2014	Análise morfológica e detecção de micronúcleo em hemócitos de <i>Biomphalaria glabrata</i> exposto ao oxifluorfen (Goal BR®).	Avaliar a ação do herbicida oxifluorfen sobre o molusco <i>B. glabrata</i> através do ensaio do micronúcleo, assim como, contribuir para uma futura padronização do teste como um biomarcador de poluição em ambientes aquáticos.	<i>B. glabrata</i> (adultos)

Lima (2014) e Lima et al. (2019a), fizeram estudos para avaliar a ação de herbicidas, especificamente o oxifluorfen sobre o molusco adulto *B. glabrata*. Ambos observaram que o animal é sensível aos efeitos do herbicida, pois ao serem submetidos a exposição do oxifluorfen nas concentrações de 0,125; 0,25 e 0,5 ppm, durante 48h, 10 e 15 dias, apresentaram alterações morfológicas e também no número de hemócitos, onde na concentração de 0,5 ppm apresentou o maior número de hemócitos com apoptose, binucleação e MN. Além disso, a exposição aguda (48h) se apresentou dose-dependente, ao contrário da exposição crônica (10 e 15 dias), os autores sugerem que esse fato está relacionado a habilidade que as células da hemolinfa dos moluscos possuem em se regenerar, amenizando os danos sofridos.

Ainda de acordo com Lima (2014) as doses utilizadas no experimento estão classificadas como não tóxicas ao meio ambiente de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), mas os estudos

comprovaram que o molusco *B. glabrata* apresentou um aumento significativo da frequência de MN quando expostos a tais doses.

Quadro 3: Testes com lodos/poluição ambiental.

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	ESPECIES
SIQUEIRA et al. 2021	Toxicity and genotoxicity of domestic sewage sludge in the freshwater snail <i>Biomphalaria glabrata</i> (Say, 1818).	Investigar a genotoxicidade e efeitos citotóxicos causados por elementos químicos presentes em lodo doméstico através da análise de biomarcadores no molusco <i>B. glabrata</i> .	<i>B. glabrata</i> (embriões e adultos).
SIQUEIRA et al., 2020	Study of genotoxic and cytotoxic effects after acute and chronic exposures to industrial sewage sludge on <i>Biomphalaria glabrata</i> hemocytes.	Utilizar o molusco <i>B. glabrata</i> analisar biomarcadores e parâmetros de biomonitoramento de lodo de esgoto industrial.	<i>B. glabrata</i> (embriões e adultos).
OLIVEIRA, 2017	Análise ecotoxicológica e mutagênica da região têxtil de toritama utilizando <i>Aliivibrio fischeri</i> , <i>Biomphalaria glabrata</i> e <i>Daphnia magna</i> .	Analisar a qualidade das águas do rio Capibaribe na cidade de Toritama por meio de ensaios com <i>A. fischeri</i> , <i>D. magna</i> e <i>B. glabrata</i> e examinar qual dos organismos poderia ser utilizado como o bioindicador mais adequado.	- <i>A. fischeri</i> ; - <i>B. glabrata</i> (embriões e adultos); - <i>D. magna</i> .

Com objetivo avaliar os efeitos genotóxicos e citotóxicos da poluição por lodo de esgoto industrial para determinar mudanças na composição do ambiente aquático por meio de parâmetros de biomarcação e biomonitoramento em *B. glabrata*, Siqueira et al. (2020), mostraram que o molusco pode ser utilizado em testes de biomonitoramento em ecossistemas de água doce. Os autores observaram as alterações que as substâncias genotóxicas que contém no lodo podem causar no animal, como: anormalidades como micronúcleos, células binucleadas e apoptose, além de grande número de nucleóides. Siqueira et al. (2021), realizaram um trabalho com lodo doméstico, cujo objetivo foi investigar a genotoxicidade e efeitos citotóxicos causados por elementos químicos presentes em lodo doméstico através da análise de biomarcadores no molusco *B. glabrata*.

E demonstrou os efeitos deletérios que o lodo doméstico pode causar nas células dos hemócitos (micronúcleo, binucleação e fragmentação de DNA e apoptose).

Siqueira et al. (2020; 2021) mostraram que tanto o lodo de esgoto doméstico quanto o industrial (concentração de 50, 100, 150 e 500 mg/L de lodo, respectivamente) causaram efeitos genotóxicos e citotóxicos nas células dos moluscos de ambiente dulcícola. Eles observaram que a concentração de 500 mg/L apresentou diferença significativa quando em comparação ao controle negativo (água decolorada) dos danos nucleares na exposição aguda, em ambos os lodos, possivelmente relacionados à presença de elementos químicos na composição do lodo de esgoto. Entre esses elementos estão os metais pesados, que causam alto estresse oxidativo à estrutura do DNA, induzindo assim a quebra estrutural das moléculas e, assim, causando um efeito genotóxico. Em ambos estudos a exposição dos embriões não mostrou diferença significativa em relação ao grupo controle, em todos os intervalos de exposição que foram de 24h, 48h e 8d.

O estudo realizado por Oliveira (2017), com o objetivo de avaliar o nível de toxicidade aguda dos efluentes do Rio Capibaribe (Toritama/Pernambuco-Brasil), uma região bastante conhecida por pertencer ao ramo industrial têxtil, sobre os bioindicadores *Daphnia magna*, *Aliivibrio fischeri* e também os moluscos *B. glabrata*. Neste estudo observou que dentre as três espécies o *B. glabrata* foi quem melhor respondeu positivamente a sensibilidade frente a agentes tóxicos, mostrando que são bem sensíveis. Confirmando mais uma vez seu potencial para biomonitoramento ambiental.

Quadro 4: Teste com elementos químicos.

AUTOR/ANO	TITULO	OBJETIVOS	ESPECIES
SAMPAIO, 2021	Uso do molusco <i>Biomphalaria glabrata</i> na monitoração das águas do Rio Capibaribe.	Analisar os efeitos ecotoxicológicos das águas superficiais e dos sedimentos em suspensão e de fundo da bacia hidrográfica do rio Capibaribe, utilizando como organismo-modelo a espécie de invertebrados: <i>Biomphalaria glabrata</i>	- <i>B. glabrata</i> (embriões e adultos).
MORAIS, 2020.	Uso de <i>Biomphalaria glabrata</i> na monitoração passiva de águas de poços artesianos com influência de Materiais	Validar o uso de <i>Biomphalaria glabrata</i> como bioindicador em águas de poços influenciadas por NORM dos municípios de Abreu e Lima (PE) e São José do Sabugi (PB).	- <i>B. glabrata</i> (embriões e adultos).

	Radioativos de Ocorrência Natural (NORM).		
LIMA et al., 2019b	Studies on toxicity of suspensions of CdTe Quantum Dots to <i>Biomphalaria glabrata</i> Mollusks.	Avaliar a toxicidade de suspensões de pontos quânticos de telureto de cádmio (CdTe) sobre moluscos <i>B. glabrata</i> .	- <i>B. glabrata</i> (embriões e adultos).

Buscando avaliar os efeitos ecotoxicológicos das águas superficiais do rio Capibaribe (Pernambuco/Brasil) sobre o *B. glabrata*, Sampaio (2021), dividindo em dois períodos (seco e chuvoso) e em quatro amostras testes em pontos diferentes (P1=Recife, P2=Salgadinho, P3=Toritama e P4=Santa Cruz do Capibaribe), observou que a condutividade elétrica da água do rio, principalmente no período seco, é indicativo de impacto ambiental (entre 0,13 a 6,5 mS/cm). Além disso, ao observar o DNA dos animais notou-se que o P3 apresentou o maior índice de danos no DNA dos hemócitos, principalmente no período chuvoso. E que P4 mostrou o maior índice de toxicidade no período chuvoso, tanto em embriões quanto em moluscos adultos ocasionando 100% de mortalidade desses animais, em contrapartida, os moluscos adultos expostos nos P1 e P2, tiveram 100% de sobrevivência.

Esses dados corroboram com o fato de que a presença dos elementos químicos analisados nos sedimentos de suspensão e de fundo do rio em ambos períodos, mostraram níveis elevados de cobre (Cu) em P3 e de zinco (Zn), níquel (Ni), e cromo (Cr) em P2 no período chuvoso, em sedimentos de suspensão, porém nos sedimentos de fundo o P3 apresentou maior concentração de Cu no período seco, provavelmente devido a ação antropogênica. E os moluscos adultos mostraram a capacidade de bioacumulação de elementos como o Cr. A sugestão é que o cromo é bastante utilizado em produção de pigmentos de corantes têxteis.

Morais et al. (2020), tinham como objetivo realizar a radiometria física e biomonitoração com a espécie de molusco *B. glabrata* em águas de poços artesianos, utilizadas para consumo, nos municípios de Abreu e Lima/Pernambuco (P1 e P2) e São José do Sabugi/Paraíba (P3), previamente conhecidas como áreas com concentrações anômalas de material radioativo

natural (NORM). Para realizar a monitoração radiométrica foram feitas análises das concentrações de ^{222}Rn (Radônio) e ^{226}Ra (Rádio) por meio da Espectrometria de Cintilação Líquida e caracterização dos elementos químicos ^{238}U (Urânio) e ^{232}Th (Tório), por Espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), mostrando o alto nível de ^{222}Rn em todos os pontos, principalmente no P3 (*220,79 Bq.L-1). O estudo comprovou a presença de radionuclídeos naturais ^{222}Rn , ^{226}Ra , ^{232}Th e ^{238}U nas águas de poços.

Os moluscos *B. glabrata* (embriões e adultos) foram expostos por 48h, o P1 demonstrou uma alta toxicidade apresentando 95% dos embriões inviáveis sendo 90,6% de mortalidade. Nos moluscos adultos o P3 foi observado um aumento significativo no número de hemócitos e mudança no comportamento do DNA do molusco, e a causa é principalmente devido à alta concentração de urânio natural. Isso mostrou que o bioindicador *B. glabrata* é sensível aos efeitos tóxicos de concentrações anômalas de NORM presentes nas águas subterrâneas.

Para avaliar a toxicidade de suspensões de pontos quânticos de telureto de cádmio (CdTe) sobre moluscos *B. glabrata*, Lima et al. (2019b) observaram que os animais que foram expostos as suspensões de pontos quânticos (24h) apresentaram alterações dependendo da concentração, onde os embriões apresentaram malformações e letalidade em concentrações que variam de 1,2 a 20 nM (sendo 100% de letalidade em 5nM), e os moluscos adultos apresentaram mortalidade nas concentrações de 50 a 400 nM. Foi observado que nas concentrações 200 e 400 nM, que ao morrerem os animais liberavam hemolinfa, ação causada pela ruptura das membranas externas. Além dos testes de toxicidade em biomonitoração ambiental, os moluscos da espécie *B. glabrata* vêm sendo bastante utilizado na pesquisa afim de combater o parasita *S. mansoni*. E para isso, os pesquisadores buscam em extratos de plantas a ação moluscicida - substância usada para exterminar caramujos (LEYTON et al., 2005).

Quadro 5: Testes com extratos de produtos naturais.

AUTOR/ANO	TITULO	OBJETIVOS	ESPECIES
SILVA et al., 2019	Toxicological effects of <i>Ramalina aspera</i> (lichen) on <i>Biomphalaria glabrata</i> snails and <i>Schistosoma mansoni</i> cercariae.	Avaliar as atividades moluscicidas contra <i>B. glabrata</i> e atividades cercaricidas contra <i>Schistosoma mansoni</i> do extrato etéreo de <i>Ramalina áspera</i> .	- <i>B. glabrata</i> (embriões e adultos); - <i>A. salina</i> ; - Cercárias de <i>S. mansoni</i> .
ARAUJO, 2016	Atividade moluscicida do ácido úsnico e do usnato de potássio sobre a <i>Biomphalaria glabrata</i> .	Avaliar o potencial moluscicida do ácido úsnico e do usnato de potássio a <i>B. glabrata</i> .	- <i>B. glabrata</i> (embriões e adultos); - <i>A. salina</i> .
SÁ, 2016	Avaliação das atividades moluscicida, cercaricida e artemicida de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão E <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi e suas frações.	Avaliar atividade moluscicida do extrato bruto e enriquecido da <i>M. urundeuva</i> e <i>S. terebinthifolius</i> sobre embriões e moluscos adultos de <i>B. glabrata</i> e avaliar a toxicidade ambiental dos extratos bruto e enriquecido por meio do bioensaio com <i>Artemia salina</i> .	- <i>B. glabrata</i> (embriões e adultos); - <i>A. salina</i> ; - Cercárias de <i>S. mansoni</i> .

Araújo (2016), tinha como objetivo avaliar o potencial moluscicida do ácido úsnico e do usnato de potássio a *B. glabrata*. Seu estudo mostrou que apesar de usar concentrações menores que a recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), tanto o ácido úsnico (AU) quanto o usnato de potássio (USNP) apresentaram toxicidade sobre os estágios embrionários do molusco (os estádios de blástula, gástrula, trocófora e véliger mostraram 100% de inviabilidade para o AU nas concentrações 2, 4,5, 6 e 6 µg/mL e para USNP nas concentrações 6, 4, 4.5 e 4.5 µg/mL, respectivamente) ocasionando malformações de conchas e outras não específicas, e embriões hidrópicos. O usnato de potássio apresentou um melhor resultado sobre a embriotoxicidade, exceto no estágio de blástula.

Também foi observado que na concentração 2 µg/mL do ácido úsnico na exposição de 24h que os moluscos adultos apresentaram 53% de mortalidade, porém não apresentaram toxicidade sobre *Artemia salina*. Mostrando que são substâncias que tem potencial na eliminação ou controle populacional do *B. glabrata*.

Silva et al. (2019), avaliaram o efeito tóxico do ácido divaricático sobre *B. glabrata*, cercárias de *Schistosoma mansoni* e *Artemia salina*, observaram que houve uma elevada toxicidade sobre os caramujos adultos, onde na concentração de 5,5 µg/mL ocorreu 100% de letalidade em 24h de exposição, e nos embriões além de malformações de conchas e outras não específicas, embriões hidrópicos, como ocorreu no trabalho de Araújo (2016), tiveram retardo do desenvolvimento embrionário. Já nas cercarias a letalidade de 100% foi verificada na concentração de 10 µg/mL, em 30 min. Já em *S. mansoni* mostrou efeito cercaricida na concentração de 5,0 µg/mL. Nas *Artemias*, o uso do ácido é seguro até a concentração de 200 µg/mL, podendo ser utilizado até uma concentração de 400 µg/mL sem danos ambientais consideráveis.

Sá et al. (2016), também buscaram avaliar as atividades moluscicidas, cercaricidas e artemicida, através de extratos de plantas. Através do extrato de *M. urundeuva* Allemão e *S. terebinthifolius* Raddi, ambos extratos causaram mortalidade de 100% nos moluscos adultos de *B. glabrata* nas concentrações 100, 150 e 200 µg/mL. Porém não foram tóxicos para os embriões, já nas cercarias causaram letalidade de 76,6 e 32,6% na concentração 200 µg/mL. Assim como em Silva et al. (2019), Sá et al. (2016) não obteve uma resposta positiva sobre *A. salina*, pois os extratos não apresentaram letalidade, se mostrando específicos para o *B. glabrata* nessas concentrações.

5 CONCLUSÃO

Com base nos dados levantados, para avaliar o uso do molusco *Biomphalaria glabrata* em estudos de toxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade, observou-se que os resultados dos estudos vêm sendo promissores, pois, o *B. glabrata* tem as características necessárias para um bioindicador ambiental, mostrando-se ser sensível desde sua fase embrionária até a fase adulta.

Podendo ser utilizado como:

- Indicador da radiação ambiental na fase adulta, mostraram-se sensíveis aos efeitos da radiação gama de ^{60}Co ;
- Indicador de contaminação com herbicida, pois apresentou sensibilidade as dose mesmo sendo classificadas como não tóxicas ao meio ambiente de acordo com a ANVISA;
- Indicador de poluição ambiental através do lodo, onde a fase adulta mostrou ser mais sensível a agentes tóxicos do que os embriões;
- Moluscidas, pois as substâncias estudadas mostraram que tem potencial na eliminação ou controle populacional do *B. glabrata*;
- Bioindicador/biomonitor de qualidade ambiental, pois são bastante sensíveis a elementos químicos presentes em seu habitat natural.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, R. S.; THIENGO, S. C.; PIERI, O. S. Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica: Diretrizes Técnicas. Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE). Ministério da Saúde, Brasília – DF, 2008, 180 p.
- Amorim, L. C. A. (2003). Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 6(2), 158–170.
- ANDRADE JUNIOR, G.; et al. Ajustes hematológicos em tambaqui (*Colossoma macropomum curvier*, 1818) exposto a diferentes concentrações de chorume. *Revista Colombiana de Ciência Animal*, v.5, n.1, p.71-82, 2013.
- ANDREOLI, C. V.; et al. Uso de lodo de esgoto na produção de substrato vegetal. In: *biossólidos - alternativas de uso de resíduos do saneamento*. Rio de Janeiro: Editora ABES, 2006.
- ARAÚJO FILHO, E. F. Análise da radiosensibilidade de hemócitos de *Biomphalaria glabrata* por meio do teste do micronúcleo. Recife, 2013. 38 f. Dissertações (mestrado) - UFPE, Centro de Tecnologia e Geociências, Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2013.
- ARAÚJO, H. D. A. Atividade moluscicida do ácido úsnico e do usnato de potássio sobre a *Biomphalaria glabrata*. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2016.
- ARAÚJO, H.D.A., MELO, A.M.M.A, SIQUEIRA, W.N., MARTINS, M.C.B., AIRES, A.L., ALBUQUERQUE, M.C.P.A, SILVA, N.H., LIMA, V.L.M., Potassium usnate toxicity against embryonic stages of the snail *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* cercariae, *Acta Tropica*. v. 188, p. 132-137. 2018a.
- ARAÚJO, Hallysson Douglas Andrade de. Toxicidade aguda e avaliação do sal de potássio do ácido úsnico sobre estágios evolutivos do *Schistosoma mansoni* e do seu hospedeiro intermediário. 2020. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.
- ARIAS, A. R. L.; et al. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. *Ciência & Saúde*, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.
- ARMAS, E. D.; et al. Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do Rio Corumbataí e principais afluentes. *Química Nova*, v. 30, n. 5, p. 1119-1127, out. 2007.
- BARAKAT, A. O.; KHAIRY, M. A.; MAHMOUD, M. R. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in sewage sludge from Egypt.

Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering., v.52, n. 8, p. 750-756, 2017.

BARBOSA, C. S.; GOMES, E. C. S. Manual prático para controle e diagnostico da esquistossomose. Editora Universitária, UFPE. Recife, 2008.

BARNES, R. D.; RUPPERT, E. E. Zoologia dos Invertebrados. 6º ed. São Paulo: Roca, 1996.

BITELLI, T. Física e dosimetria das radiações. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 442 p., 2006.

BLOEM, E.; ALBIHN, A.; ELVING, J.; HERMANN, L.; LEHMANN, L.; SARVI, M.; SCHAAF, T.; SCHINCK, J.; TURTOLO, E.; YLIVAINIO, K.

Contamination of organic nutrient sources with potentially toxic elements, antibiotics and pathogen microorganisms in relation to P fertilizer potential and treatment options for the production of sustainable fertilizers: A review. Science of the Total Environment. v. 607-608, p. 225-242, 2017.

BRYAN, G. W.; DARRACOTT, A. Bioaccumulation of marine pollutants. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. v. 286, p. 483-505, 1979.

CAMEY, T.; VERDONK, N. H.. The early development of the snail *Biomphalaria glabrata* (Say) and the origin of the head organs. Netherlands Journal of Zoology. v.20, n.1, p. 93-121, 1969.

CANTINHA, R. S. Influência da radiação gama de alta taxa de dose na sobrevivência e na reprodução de *Biomphalaria glabrata*. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Energéticas Nucleares) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

CARVALHO, F. T.; CAVAZZANA, M. A.; JÚNIOR, W. G. Eficácia do herbicida flazasulfuron no controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar e seus efeitos no crescimento e produtividade da cultura. Revista Brasileira de Herbicidas, v. 4, n. 1, p. 78- 88, 2005.

CARVALHO, O. S.; PASSOS, L. K. J.; MENDONÇA, C. L. G. F. D.; CARDOSO, P. C. M.; CALDEIRA, R. L. Moluscos brasileiros de importância médica. In Moluscos brasileiros de importância médica, 2014, 94 p.

CIMERMAM, B.; CIMERMAM, S. Parasitologia humana e seus fundamentos gerais. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 216-219, 2001.

COLLINS, A. et al. Sensitive detection of DNA oxidation damage induced by nanomaterials. Free Radical Biology and Medicine, 2017.

CÓLUS, I. M. S.; MARTINEZ, C. B. R. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. In: MEDRI, M.E. et al. Editores. Londrina, PR: M. E. Medri, p. 551-577, 2002.

CNEN. COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. Diretrizes básicas de proteção radiológica (CNEN-NN-3.01). Rio de Janeiro: CNEN, 2005. 26 p. Disponível em: <www.cnen.gov.br/seguranca/normas/pdf/Nrm301.pdf>. Acesso em 11 de jun. de 2022.

CETESB. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos. São Paulo: CETESB, 1990.

CONSTANTIN, J. Métodos de manejo. Biologia e manejo de plantas daninhas. Curitiba: Ominipax, p. 67-78, 2011.

DAWIDAR A. E.; et al. Molluscicidal activity of *Balanites aegyptiaca* against *Monacha cartusiana*. Pharm biol 50: 1326-1329, 2012.

DOS SANTOS, C. A.; RIBEIRO, J. C. (Org.). Desafios e Sustentabilidade no Manejo de Plantas. Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. 79 p.

FERREIRA, M. S.; MÁRSICO, E. T.; CONTE JUNIOR, C. A.; MARQUES JÚNIOR, A. N.; MANO, S. B.; SÃO CLEMENTE, S. C. Contaminação por metais traço em mexilhões *Perna perna* da costa brasileira. Ciência Rural, v.43, n.6, jun, 2013.

FREIRE, M. M.; et al. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. Oecologia Brasiliensis., v. 12, n. 3, p. 347-354, 2008.

GERALDINO, B. R. et al. Método multigeração para avaliação dos efeitos de poluentes sobre a reprodução de caramujos de água doce. Rio de Janeiro: Embrapa Cerrados, 2004.

GEREMIA, G. Análise de micronúcleos em hemócitos de mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Bivalvia: Mytilidae) nas Plataformas de Pesca de Tramandaí e Cidreira, Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. Monografia (Conclusão do Curso de Ciências Biológicas: Ênfase em Gestão Ambiental, Marinha e Costeira: Bacharelado) –Instituto de Biociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

GIORDANI, S.; NEVES, P. S.; ANDREOLI, C. V. *Limnoperna fortunei* ou mexilhão dourado: impactos causados, métodos de controle passíveis de serem utilizados e a importância do controle de sua disseminação. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. 23., 2005.

GUERRERO, N. R. V., et al. *Biomphalaria glabrata*: Relevance of albino organisms as useful tool for environmental lead monitoring. Bulletin of Environmental Contamination and toxicology, v. 59, p. 822-827, 1997.

HABIB, M. R.; MOHAMED, A. H.; OSMAN, G. Y.; MOSSALEM, H. S.; EL-DIN, A. T. S.; CROLL, R. P. *Biomphalaria alexandrina* as a bioindicator of metal toxicity. Chemosphere, v. 157, p. 97–106, 2016.

HEDDLE, J.A.; et al. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 8, p. 277–291, 1991.

JARDIM, I. C.; ANDRADE, J. A.; QUEIROZ, S. C. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global-Um enfoque às maçãs. *Química Nova*, v. 32, p. 996-1012, 2009.

KAPANEN, A.; ITAVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, New York, v. 49, p. 1-16, 2001.

KAWANO, T.; NAKANO, E.; WATANABE, L. C.. Estudo do desenvolvimento embrionário de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Planorbidae) e suas aplicações. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. *Schistosoma mansoni* e Esquistossomose uma Visão Multidisciplinar. Ed. FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 347-391, 2008.

KAWANO, T.; OKAZAKI, K.; RÉ, L.. Embryonic development of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca, Gastropoda, Planorbidae): a practical guide to the main stages. *Malacologia* 34, 25-32, 1992.

KING, C. H.; BERTSCH, D.. Historical perspective: snail control to prevent schistosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. v. 9, n. 4, p. 1-6, 2015.

KNAAP, V. W. P. W.; LOKER, E. S. Immune mechanism in trematode-snail interaction. *Parasitology Today*, v. 6, p. 175 – 182, 1990.

LEE, R. F.; STEINERT, S. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, v. 544, n. 1, p. 43-64, 2003.

LEYTON, V.; et al. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). *Iheringia. Série Zoologia*, v. 95, p. 213-216, 2005.

LIMA, M. V., et al. Cytotoxic and genotoxic effect of oxyfluorfen on hemocytes of *Biomphalaria glabrata*. *Environmental Science and Pollution Research*., v. 26, n.4, p.3350-3356, 2019a.

LIMA, M. V., et al. Studies on toxicity of suspensions of CdTe Quantum Dots to *Biomphalaria glabrata* Mollusks. *Environmental toxicology and chemistry*, v. 38, n. 10, p. 2128-2136, 2019b.

LIMA, P. A. S. Análise morfológica e detecção de micronúcleo em hemócitos de *Biomphalaria glabrata* exposto ao oxifluorfen (Goal BR®). 2014. Trabalho de conclusão de curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

MARENGONI, N. G.; KLOSOWSKI, E. S.; OLIVEIRA, K. P.; CHAMBO A. P. S.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. Bioacumulação de metais pesados e

nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional. Química Nova, v. 36, n. 3, p. 359-363, 2013.

MARTINI, G. A. Avaliação da citotoxicidade do dietiltoluamida (deet) em mexilhões *perna perna* (linnaeus, 1758) irradiados e não irradiados com radiação gama de 60Co. 2013. 199f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia Nuclear)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Martins, M. C. B., Silva, M. C., Silva, L. R. S., Lima, V. L. M., Pereira, E. C., Falcão, E. P. S., ... da Silva, N. H. (2014). Usnic Acid Potassium Salt: An Alternative for the Control of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). PLoS ONE, 9(11), e111102.

Martins, M., Silva, M., Silva, H., Silva, L., Albuquerque, M., Aires, A., ... da Silva, N. (2017). Barbatic Acid Offers a New Possibility for Control of *Biomphalaria Glabrata* and Schistosomiasis. Molecules, 22(4), 568.

MATTHEWS-CASCON, H.; LOTUFO, T. M. C. Biota marinha da costa oeste do Ceará. Série Biodiversidade, v. 24, Brasília: MMA, 2006, 248p.

MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K. Effluent biomonitoring. In: WEXLER, P. (Org.). Encyclopedia of Toxicology. Academic Press., p. 312-315. 2014.

MORAIS, V. H. T. Uso de *Biomphalaria glabrata* na monitoração passiva de águas de poços artesianos com influência de Materiais Radioativos de Ocorrência Natural (NORM). 2020. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2020.

NEVES, D. P. Parasitologia Humana. 14^a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2022.

NIKINMAA, M. Bioindicators and Biomarkers. In: An Introduction to Aquatic Toxicology. Academic Press. Cap. 12, p. 147-155, 2014.

OEHLMANN, J.; SCHULTE-OEHLMANN, U. Mollusks as bioindicators. In: MARKET, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. Bioindicators and biomonitoring: principles, concepts and applications, London: Elsevier, 2003, p. 577-635.

OKUNO, E.; YOSHIMURA, E. M. Física das radiações. São Paulo : Oficina de Textos, 2010.

OLIVEIRA, M. L. M. Análise ecotoxicológica e mutagênica da região têxtil de Toritama utilizando *Aliivibrio fischeri*, *Biomphalaria glabrata* e *Daphnia magna*. 2017. Dissertação (Mestrado ou Doutorado em Saúde Humana e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

PEREIRA, D. R. et al. utilização do ensaio cometa para detectar efeito genotóxico do metanosulfonato de metila em células de *biomphalaria*

glabrata. Teorias e métodos da biofísica [recurso eletrônico] / Organizadora Sabrina Passoni Maravieski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, p. 69, 2019.

PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A.; BERRY, E. C. Effects of ionizing radiation on *Australorbis glabratus* eggs. *Experimental Parasitology*, London, v. 15, n° 3, p. 226-221. June 1964.

PESSÔA, S. B.; MARTINS, A. V. *Parasitologia médica*. ed. 11^a. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2011.

PESSÔA, S. B.; MARTINS, A. V. *Parasitologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. p. 407- 420, 1988.

PIERI, O.; et al. Os moluscos transmissores e outros moluscos de importância médica. In: *Manual prático para diagnóstico e controle da esquistossomose*. Recife: Ed. Universitária, Edição 2^a. p. 31-51, 2012.

PINHEIRO, M. A. A.; DUARTE, L. F. A.; TOLEDO, T. R.; ADAM, M. L.; TORRES, R. A. Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 185, p. 8273-8285, 2013.

Raheem, A., Sikarwar, V. S., He, J., Dastyar, W., Dionysiou, D. D., Wang, W., & Zhao, M. (2018). Opportunities and challenges in sustainable treatment and resource reuse of sewage sludge: A review. *Chemical Engineering Journal*, 337, 616–641.

RAINBOW, P. S. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, v. 31, p. 183-192, 1995.

RAND, G.M.; WELLS, P.G.; MCCARTY, L.S. Introduction to aquatic toxicology. In: *Fundamentals of aquatic toxicology: Effects, environmental fate and risk assessment* (G. M. RAND), Washington: Taylor & Francis. p. 3-67, 1995.

REY, L. *Parasitologia*. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SÁ, J. L. F. Avaliação das atividades moluscicida, cercaricida e artemicida de *Myracrodruon uncinellum* Allemão e *Schinus terebinthifolius* Raddi e suas frações acetato de etila. 2016. Dissertação (Mestrado ou Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

SAKHVIDI, M. J. Z.; et al. Applicability of the comet assay in evaluation of DNA damage in healthcare providers' working with antineoplastic drugs: a systematic review and meta-analysis. *International journal of occupational and environmental health*, v. 22, n. 1, p. 52-67, 2016.

SALAMA M. M.; TAHER E. E.; EL-BAHY M. M. Molluscicidal and Mosquitocidal activities of the essential oils of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. and *Marrubium vulgare* L. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 54: 281-286, 2012.

SAMPAIO, M. V. L. Uso do molusco *Biomphalaria glabrata* na monitoração das águas do Rio Capibaribe. 2021. Tese (Doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

SANTOS, F. T. J.; et al. Radiosensitizer effect of usnic acid on *Biomphalaria glabrata* embryos. *International Journal of Radiation Biology.*, v. 94, n. 9, p. 838-843, 2018.

SANTOS, Katarine Mizan Barbosa. Aspectos biológicos da acumulação de Cu e Zn em *Littoraria angulifera*. 2021. Tese (Doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

SCHMIDT, W. The micronucleus test, *Mutation Research.* v. 3, p. 9–15, 1975.

SEGRETO, H. R. C.; SEGRETO, R. A. Revisão e atualização em radiobiologia: aspectos celulares, moleculares e clínicos. *Folha médica* v. 119, n. 4: p. 9-27, 2000.

SIJM, D. T. H. M.; HERMENS, J. L. M. Internal effect concentration: link between bioaccumulation and ecotoxicity for organic chemicals. In: BEEK, B. (Ed.). *The Handbook of Environmental Chemistry.* Berlin: Springer-Verlag, 2000. p. 167-199.

SILVA, H. A. M. F., et al. Toxicological effects of *Ramalina aspera* (lichen) on *Biomphalaria glabrata* snails and *Schistosoma mansoni* cercariae. *Acta tropica*, v. 196, p. 172-179, 2019.

SILVA, L. R. S. Detecção de Micronúcleo em Hemócitos de *Biomphalaria glabrata* exposto a Radiação Gama de ⁶⁰Co. 2010. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

SILVA, L. R. S.; et al. Avaliação da radiosensibilidade de hemócitos de *Biomphalaria glabrata* expostos à radiação gama. *Scientia Plena*, v. 9, p. 1-6, 2013.

SILVA, M. F.; COSTA, L. M. A indústria de defensivos agrícolas. *BNDES Setorial*, n. 35, p. 233-276, mar. 2012.

SILVA, N. F. S., et al. Bioensaio de atividade moluscicida adaptado para a avaliação de extratos de plantas medicinais. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar*, Umuarama, v. 11, n. 2, p. 179-181, jul./dez. 2008.

SINDIVEG. Sindicato Nacional da Industria de Produtos para Defesa Vegetal. Mercado total de defensivos agrícolas por produto aplicado. Brasil, 2020.

SINGH, N. P. et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, v. 175, p. 184-191, 1988.

SIQUEIRA, W. N. Aspectos químicos e genéticos do *Biomphalaria glabrata* como bioindicador/biomonitor de qualidade ambiental. 2019. Tese (Mestrado ou Doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

SIQUEIRA, W. N.; et al. Study of genotoxic and cytotoxic effects after acute and chronic exposures to industrial sewage sludge on *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Chemosphere*, v. 249, p. 126218, 2020.

SIQUEIRA, W. N.; et al. Toxicity and genotoxicity of domestic sewage sludge in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Environmental Science and Pollution Research*, p. 1-11, 2021.

SPADOTTO, C. A. et al. Monitoramento do risco ambiental dos agrotóxicos: princípios e recomendações. In: Embrapa Meio Ambiente, v. 42, 2004. 29 p.

SPADOTTO, C. A. Uso de herbicidas no Brasil. Comitê de Meio Ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência de Plantas Daninhas. 2002.

SYED-HASSAN, S. S. A., et al. Thermochemical processing of sewage sludge to energy and fuel: fundamentals, challenges and considerations. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, v. 80, p. 888-913, 2017.

TALLARICO, L. F. et al. Dominant lethal effect of 60 Co gamma radiation in *Biomphalaria glabrata* (SAY, 1818). *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, Campinas. v. 561, n. 1, p. 139-145, 2004.

TANG, F. H. et al. Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nature Geoscience*, v. 14, n. 4, p. 206-210, 2021.

TEZEL, A.; TANDUKAR, M.; PAVLOSTATHIS, S. G. Anaerobic biotreatment of municipal sewage sludge. In: MOO-YOUNG, M. (Org.). *Comprehensive Biotechnology*. Academic Press. 2011, p. 447-461.

UGOLINI, A.; BORGHINI, F.; CALOSI, P.; BAZZICALUPO, M.; CHELAZZI, G.; FOCARDI, S. Mediterranean *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda) as a biomonitor of heavy metals contamination. *Marine Pollution Bulletin*, v. 48, p. 526-532, 2004.

UNGHERESE, G.; MENGONI, A.; SOMIGLI, S.; BARONI, D.; FOCARDI, S.; UGOLINI, A. Relationship between heavy metals pollution and genetic diversity in Mediterranean populations of the sandhopper *Talitrus saltator* (Montagu) (Crustacea, Amphipoda). *Environmental Pollution*, v. 158, n. 5, p. 1638-1643, 2010.

VASCONCELLOS M. L., et al. Baylis-Hillman adducts with molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata*. *Pest Manag Sci* 3: 288-292, 2006.

VELINI, E. D.; NEGRISOLI, E. Controle de plantas daninhas em cana crua. In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, v. 22, p. 148-164, 2000.

VILLELA, I.V., et al. DNA damage and repair in haemolymph cells of golden mussel (*Limnoperna fortunei*) exposed to environmental contaminants. *Mutation Research* v. 605, p. 78–86, 2006a.

VILLELA, I. V. Avaliação do potencial genotóxico de amostras ambientais da região hidrográfica da bacia do lago Guaíba. Tese de Doutorado, Universidade federal do Rio Grande do Sul, Centro Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul. 2006b.

WANG, F. Y.; RUDOLPH, V.; ZHU, Z. H. Sewage sludge technologies. In: JORGENSEN, S. E.; FATH, B. (Org.). *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier Science. 2008, p. 3227-3242.

WHO. World Health Organization. Report of the Scientific working group on plant molluscicide e guidelines for evaluation of plant molluscicides. World Health Organization. (TDR/SCH- SWE. (4)/83.3), 1983.

ZAKER, A., et al. Microwave-assisted pyrolysis of sewage sludge: A review. *Fuel Processing Technology*. v. 187, p. 84-104, 2019.

ZHANG H, et al. Molluscicidal activity of *Aglaia duperreana* and the constituents of its twigs and leaves. *Fitoterapia* 83: 1081-1086, 2012.

ZHOU, H.; XIANG, N.; XIE, J.; DIAO, X. Ecotoxicology: The History and Present Direction. **Encyclopedia of Ecology (Second Edition)**, v. 1, p. 415-423, 2019.

ZHOU, Q.; et al. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*. v. 606, n.2, p. 135-150, 2008.