

**TOXICIDADE E CARCINOGENICIDADE DE AMOSTRAS DE ÁGUA
COLETADAS DA REPRESA LAJINHA, MONTE CARMELO, MG, BRASIL**

Adriano Araújo Gomide¹
Jéssica Soares Vieira¹
Pedro Paulo Martins da Silva¹
Denise Dias Alves Cocco¹
Francine Borges Silva²
Cássio Resende de Moraes^{3*}
* cassio.1015@hotmail.com

RESUMO

A água é de suma importância para a manutenção da vida. Influencia diretamente no clima de uma região, tem grande influência sobre o ecossistema, e é um recurso natural indispensável na produção de alimentos, energia e também nas atividades fundamentadas no saneamento básico. Embora este recurso seja encontrado em abundância em nosso planeta, somente 4% da água é doce, sendo que esta ao longo dos anos está sendo alvo de impactos ambientais de origem antrópica. Ensaio biológicos são de grande importância no rastreamento da genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade de poluentes ambientais presentes em misturas complexas e tendem a refletir o real risco de diferentes químicos para espécies nativas. No intuito de verificar se a represa Lajinha apresenta condições para uso sustentável pela população local, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial carcinogênico de diferentes pontos da represa, por meio do Teste para Detecção de Tumor Epitelial em células somáticas em *Drosophila melanogaster*. Para avaliar o efeito carcinogênico de amostras da represa Lajinha, Larvas de 3º estágio descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, sb¹* e machos *mwh/mwh* foram tratadas com diferentes amostras do efluente. A toxicidade das amostras da represa, foram mensuradas por meio da taxa de moscas que sobreviveram a etapa de metamorfose após exposição. Todas as amostras testadas (P1, P2 e P3) desempenharam efeito tóxico para *D. melanogaster*. Não foi constatado efeito carcinogênico em nenhum dos pontos da represa Lajinha, testados neste trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: *Drosophila melanogaster*; Poluição; Teste *wts*

**TOXICITY AND CARCINOGENICITY OF WATER SAMPLE
COLLECTED FROM LAJINHA RIVER, MONTE CARMELO, MG,
BRAZIL**

¹ Licenciado em Ciências Biológicas pela Fundação Carmelitana Mário Palmério – FUCAMP.

² Mestre em Geografia pela Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

³ Mestre em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia - UFU.

ABSTRACT

Water is of paramount importance for the maintenance of life. This substance directly influences the region climate, has great influence on the ecosystem, and is an indispensable natural resource in the production of food, energy and activities based on basic sanitation. Although this resource is found in abundance in our planet, only 4% of the water is sweet, being that this over the years is being the target of environmental impacts of anthropic origin. Biological assays are of great importance in screening the genotoxicity, mutagenicity and carcinogenicity of environmental pollutants present in complex mixtures and tend to reflect the real risk of different chemicals for native species. To verify if the Lajinha dam presents conditions for sustainable use by the local population, the present work aims to evaluate the carcinogenic potential of different sites (P1, P2 and P3) of the dam by means of the Test for Detection of Epithelial Tumor in somatic cells in *Drosophila melanogaster*. To evaluate the carcinogenic effect of samples from the Lajinha river, third - stage larvae descended from the cross between virgin *wts/TM3*, *sb^l* and *mwh/mwh* males were treated with different effluent samples. The toxicity of the river samples was measured by the rate of flies that survived the metamorphosis stage after exposure. All samples tested (P1, P2 and P3) had a toxic effect on *D. melanogaster*. No carcinogenic effect was found at any sites on the Lajinha river, tested in this work.

KEYWORDS: *Drosophila melanogaster*; Pollution; wts Test

1. INTRODUÇÃO

A água é de suma importância para a manutenção da vida. Tal substância influencia diretamente no clima de uma região e é um recurso natural indispensável na produção de alimentos, energia e nas atividades fundamentadas no saneamento básico (COSTA, 2007).

Nos sistemas biológicos, a água pode constituir até 70% do organismo (oscilando de espécie para espécie), podendo ainda exercer função de homeostase, termorregulação e transporte de substâncias. Além disso, é considerado solvente universal e participa em reações de hidrólise, facilita a grande maioria das reações químicas e possibilita a eliminação de substâncias tóxicas pelo organismo (SANTOS, 2017; NELSON e COX, 2014).

Embora este recurso seja encontrado em abundância em nosso planeta (cerca de 70% da superfície da Terra), somente 4% da água é doce, sendo que esta ao longo dos anos está sendo alvo de impactos ambientais de origem antrópica (GRASSI, 2001).

De acordo com Faggion et al (2009) “O homem é o único animal que esgota praticamente todas as fontes necessárias à vida, gerando poluentes prejudiciais aos recursos naturais à sua subsistência”.

Fica evidente que existe uma correlação entre a ocupação humana nos diferentes ambientes e impactos ambientais, que em suma prejudicam os seres vivos dependentes destes ambientes. Processos resultantes de desmate de matas ciliares, poluição doméstica, industrial e agrícola, são exemplos de impactos ambientais de origem antrópica (CAMARGO e SCHIAVETTI, 1995).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), entidade brasileira que determina os limites para cada poluente nos corpos d'água entre outras atribuições, através da resolução n. 357/2005, declara que é expressamente proibido o lançamento de poluentes nocivos acima do limite de segurança nos corpos d'água, que possam prejudicar direta ou indiretamente o ser humano e espécies nativas. Para tanto com intuito de assegurar o padrão de segurança de ambientes lóticos e lênticos, parâmetros físicos, químicos e biológicos são analisados em técnicas de monitoramento ambiental (CONAMA, 2005).

A análise química da água, assim como os testes toxicológicos, é de fundamental importância para determinar a qualidade da água e os reais riscos dos poluentes nela presentes, e também tem função de identificar os efeitos que os poluentes podem causar ao ecossistema (MORAIS et al., 2016^a).

Ensaio biológicos são de grande importância no rastreamento da genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade de poluentes ambientais presentes em misturas complexas e tendem a refletir o real risco de diferentes químicos para espécies nativas.

Drosophila melanogaster, conhecida popularmente como mosca da fruta, é um organismo modelo amplamente utilizado em pesquisas científicas pautadas na Genética Toxicológica (MORAIS et al., 2016^b; MORAIS et al., 2016^c; VASCONCELOS et al., 2017) e apresenta semelhança considerável com genes associados a doenças humanas, permitindo portanto a possibilidade de extrapolação de resultados. Além disso, processos cancerígenos podem ser resultantes de vias bioquímicas similares entre *Drosophila* sp. e o ser humano (EKEN et al., 2002).

O teste para detecção de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster* (Teste Warts) fundamenta-se na atividade supressora de tumor, resultante da expressão do gene selvagem Warts, que controla o ciclo celular nas células do disco imaginal da mosca. Nesse sentido, a deleção do gene Warts resulta na proliferação descontrolada de células invasivas no epitélio da mosca, inferindo a instalação da massa tumoral (NISHIYAMA et al., 1999).

Situada no município de Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil, a represa Lajinha armazena considerável biodiversidade e está situada próxima de áreas agrícolas. A represa é

Toxicidade e carcinogenicidade de amostras de água....

utilizada pela população local como fonte de pescado para subsistência. Sabe-se que alguns pesticidas estão diretamente associados a eventos mutagênicos, que por sua vez são fontes promotores de câncer (MORAIS et al., 2016^c; 2017).

No intuito de verificar se a represa Lajinha apresenta condições para uso sustentável pela população local, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial carcinogênico de diferentes pontos da represa, por meio do Teste para Detecção de Tumor Epitelial em células somáticas em *Drosophila melanogaster*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Pontos de coleta

A represa Lajinha (18° 44'29,30'' latitude e 47° 29' 55,45'') está situada próximo a balança do Departamento Estadual de Trânsito de Minas Gerais (DETRAN - MG), no sentido a cidade de Monte Carmelo/MG, onde foram selecionados três pontos de coleta de água para análise.

Nas proximidades da represa ocorre predominância de atividades agrícolas, que podem de maneira direta ou indireta comprometer o recurso hídrico. Em toda a extensão, o recurso é classificado como sendo de ambiente lântico. Na **Figura 1** está representada os 3 pontos de coleta da represa.

O primeiro ponto - P1 - apresentava visualmente vestígios de poluição (**Figura 1A e 1B**). A água está pouco turva com presença óleo na beira da água, podendo ser de máquinas agrícolas que circulam no local. A lavoura de milho, que foi recentemente colhida, fica bem próximo ao P1 cerca de 10 metros de distância.

O segundo ponto - P2 (**Figura 1 C**) -, visualmente é menos turva e não apresenta resíduos de oleosidade no solo próximo, nem no recurso hídrico, a distância da lavoura é a mesma do P1.

O terceiro ponto - P3 - possui água visualmente mais turva e com oleosidade no recurso coletado (**Figura 1D e 1E**).

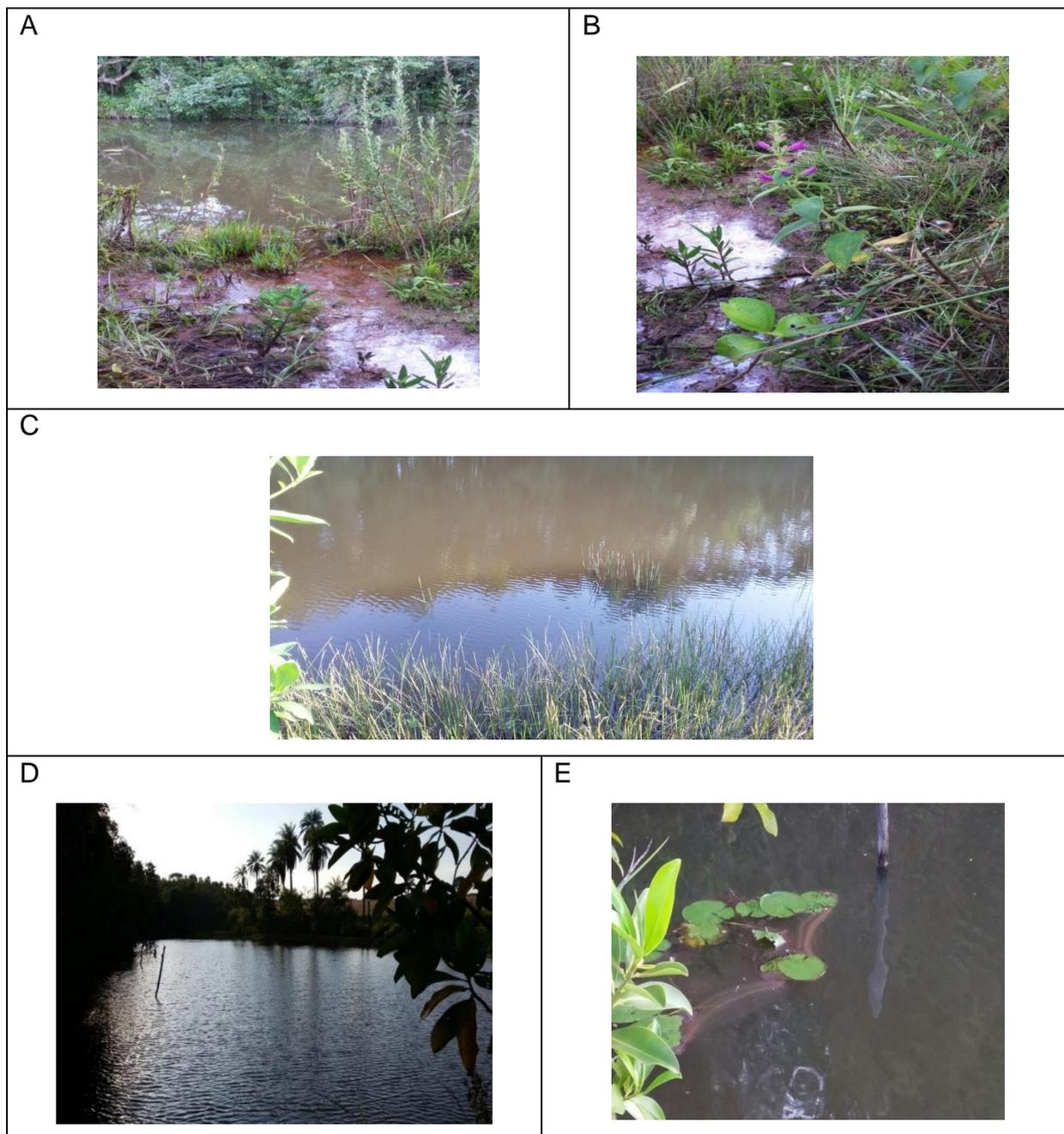


Figura 1: Pontos de coleta de água na represa lajinha. A e B – P1, C - P2, D e E – P3.

2.2. Teste para detecção de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster* (Teste *wts*)

2.2.1. Linhagens de *Drosophila*, cruzamento e tratamentos

Os experimentos foram feitos seguindo metodologia descrita por Moraes et al (2018). Em resumo, duas linhagens mutantes foram usadas nesse teste: Linhagem *multiple wing hairs* (*mwh*, 3-0,3) e linhagem *warts* (*wts*,3-100). A linhagem *multiple wing hairs* é mantida em homozigose recessiva para o marcador *mwh*, localizado no cromossomo 3, em posição distal

Toxicidade e carcinogenicidade de amostras de água....

em relação ao centrômero (*mwh*, 3-0,3). Quando expresso em homozigose recessiva, o gene *mwh* produz fenótipo de pelos nas asas da mosca em formato múltiplo, diferente do fenótipo selvagem (um único pelo por célula).

A linhagem *warts* possui o marcador *wts* no cromossomo 3, que é mantido em hemizigose na presença do balanceador cromossômico TM3, *Sb¹*. O marcador *wts*, quando expresso na condição selvagem, atua como um gene supressor de tumor. A deleção desse gene, e a expressão do alelo recessivo, leva à formação de clones de células que são consideradas altamente invasivas, acarretando na manifestação de tumor epitelial no corpo e apêndices da mosca.

Essas linhagens foram mantidas em estoque, em frascos contendo ¼ meio de cultura a base de banana (1230 ml de água; 16,5 g de ágar; 234 g de banana; 37,5 g de fermento biológico e 1,5 g de nipagin em pó) em estufa B.O.D (SOLAB) em ciclos luz/escuro (12h:12h) na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de umidade relativa.

Foi realizado o cruzamento entre machos *mwh/mwh* e fêmeas virgens da linhagem *wts*, [1] in [1] kni [ri-1] p [p] *wts* [3-17]/TM3,S B [1]. Duas progênies são geradas nesse cruzamento: progênie MH, trans-heterozigoto marcado (*mwh+/+wts*) e progênie BH, heterozigoto balanceado (*mwh+/+TM3, Sb¹*). No Teste de Detecção de Tumor epitelial (teste *wts*), apenas a progênie MH é analisada. A identificação da progênie é feita mediante a expressão do balanceador cromossômico TM3, *Sb¹*, que apresenta fenótipo de pelos curtos e espessos no corpo da mosca, o que difere da progênie MH, com fenótipo de pelos longos e finos.

A coleta de ovos do cruzamento *mwh+/+mwh* x *wts+/TM3, Sb¹* ocorreu dentro do período de 8 horas em frascos contendo meio de cultura a base de ágar (4%) e fermento biológico suplementado com sacarose. Após 72 ± 4 horas, larvas de 3º estágio foram lavadas com água ultrapura MiliQ (Millipore) e coletadas com auxílio de peneira de malha fina. Posteriormente, as larvas foram submetidas a tratamento crônico (48 horas) até completar o processo da metamorfose. As larvas foram colocadas em *vials* (2,5 cm de diâmetro por 8 cm de comprimento) contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki® Alimentos S.A) e 5 ml de água, coletadas dos pontos da represa Lajinha. Paralelo ao teste *wts*, neste estudo, foi avaliado a toxicidade dos pontos de coleta em larvas de 3º estágio de *D. melanogaster*. A toxicidade foi mensurada pela taxa de indivíduos que completaram o processo de metamorfose após o tratamento crônico (48 horas).

O teste *wts* foi acompanhado de controle negativo, água ultrapura e controle positivo, mitomicina C (MMC) na concentração de 0,1 mM. Esta concentração foi baseada em estudos de recombinação mitótica em *Drosophila* e ensaios de carcinogênese (MORAIS et al., 2016^{bc}).

2.2.2. Fixação de moscas e análise de tumor epitelial

Para análise de tumor epitelial, adultos eclodidos do cruzamento *mwh+/+mwh* x *wts+/TM3, Sb¹* foram fixados em etanol 70% (v/v) e analisados sob lupa estereoscópica (Bel® Photonics) em placa de petri com glicerina. A análise baseou-se na contagem de tumores de acordo com a descrição de Justice (1995). Os resultados foram registrados em um diagrama padrão expressando os números de tumores observados em cada parte do corpo das moscas: olhos, cabeça, corpo, asas, pernas e halteres.

2.2.3. Análise estatística

As diferenças estatísticas entre a frequência de tumores epiteliais das matrizes de água coletadas e os controles (negativo e positivo) foram calculadas usando o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney, utilizando o nível de significância $P \leq 0,05$.

Comparações estatísticas referentes à taxa de sobrevivência das moscas tratadas com água da Represa Lajinha e os controles (negativo e positivo) foram feitas com o teste do Chi-quadrado para razões de amostras independentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi avaliado a toxicidade e a carcinogenicidade de amostras de água da Represa Lajinha, Monte Carmelo, MG, Brasil em *Drosophila melanogaster*. Avaliar os efeitos tóxicos, genéticos e comportamentais de organismos vivos quando em exposição a amostras complexas é de suma importância, pensando na possibilidade de bioindicação de poluentes nocivos.

Caso o organismo gere uma resposta adversa (negativa) durante ou após a exposição, o indicativo de poluentes ambientais é confirmado, necessitando, portanto, de análises físico-químicas das amostras, visando identificar os poluentes e, conseqüentemente, realizar um diagnóstico ambiental mais preciso.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram a presença de efeitos tóxicos em todos os pontos coletados (P1, P2 e P3) da represa Lajinha (**Figura 1**), indicando a presença de poluentes nas amostras coletadas.

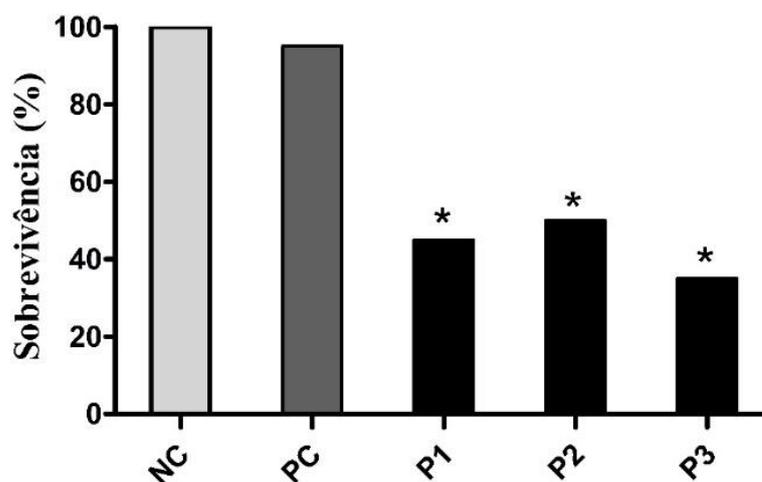


Figura 1. Taxas de sobrevivência dos descendentes de *Drosophila melanogaster* resultantes dos cruzamentos *mwh/mwh* e *wts/TM3, sb¹*, tratadas cronicamente com amostras da Represa Lajinha, MG, Brasil. NC = Controle negativo (Água); PC = Controle positivo (Mitomicina C: 0,1 mM); P1 (ponto 1), P2 (ponto 2), P3 (ponto 3).

Para verificar o efeito carcinogênico das amostras da represa Lajinha, no presente trabalho foi usado como ferramenta biológica o Teste para Detecção de Tumor Epitelial em *D. melanogaster*. Como apresentado na **Tabela 1**, nenhum dos pontos de coleta amostrados foram capazes de induzir alta frequência de tumor epitelial. Os resultados sugerem a ausência de efeito carcinogênico das amostras da represa para *D. melanogaster*.

No entanto, como apresentado na **Figura 1**, os resultados de toxicidade são preocupantes, haja vista que a toxicidade apresentada sugere a existência de poluentes ambientais em grandes concentrações na represa.

Diferentes trabalhos com *D. melanogaster* apontaram para a redução de eventos mutagênicos e carcinogênicos quando os compostos testados desempenham natureza tóxica (MORAIS et al., 2016; MORAIS et al., 2017). Partindo dessa premissa, uma análise físico-química é aconselhável, visando sobretudo verificar qualitativamente e quantitativamente os poluentes presentes na água da represa Lajinha.

Tabela 1. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor *wts* de *D. melanogaster* expostos a água de diferentes pontos da represa Lajinha, Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil.

Tratamento	Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)						
		olhos	cabeça	asas	corpo	pernas	halteres	Total
Controle negativo	200	0,005 (01)	0,000 (00)	0,015 (03)	0,095 (19)	0,000 (00)	0,000 (00)	0,115 (23)
Controle positivo	130	0,138 (18)*	0,115 (15)*	2,138 (278)*	0,823 (107)*	0,300 (39)*	0,046 (06)*	3,561 (463)*
P1	100	0,020 (02)	0,010 (01)	0,010 (01)	0,120 (12)	0,010 (01)	0,040 (04)	0,210 (21)
P2	100	0,000 (00)	0,010 (01)	0,030 (03)	0,120 (12)	0,010 (01)	0,010 (01)	0,180 (18)
P3	100	0,000 (00)	0,020 (02)	0,010 (01)	0,140 (14)	0,010 (01)	0,040 (04)	0,220 (22)

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de Mann-Whitney. Nível de significância ($P \leq 0,05$).

* Valores considerados diferentes do controle negativo ($P \leq 0,05$). Controle negativo: Água ultrapura; Controle positivo: Mitomicina C.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39

Diferentes tipos de poluentes ambientais de origem antrópica já foram relatados na literatura, quanto a sua capacidade tóxica, genotóxica, mutagênica e/ou carcinogênica (YADAV e TRIVEDI, 2009; BARBOSA et al., 2009; FERREIRA et al., 2010; LEITE, 2011; MATSUMOTO et al., 2016). Neste sentido, técnicas rotineiras de biomonitoramento ambiental são fundamentais, visando salvaguardar a qualidade dos componentes abióticos do ecossistema, bem como a manutenção da biota.

Por fim, o presente trabalho sugere a necessidade de mais pesquisas pautadas em redes de monitoramento da represa, visando identificar os poluentes e as fontes poluidoras, possibilitando a criação de medidas mitigatórias.

4. CONCLUSÃO

A estratégia experimental utilizada neste trabalho permite concluir que nestas condições experimentais e neste organismo modelo as amostras da represa Lajinha possui poluentes nocivos para *D. melanogaster*. Para elucidar os poluentes presentes nas amostras de água, análises físico-químicas tornam se necessárias, para um diagnóstico ambiental mais preciso.

5. REFERÊNCIAS

BARBOSA, J.S., CABRAL, T.M., FERREIRA, D.N., AGNEZ-LIMA, L.F., DE MEDEIROS, S.R. Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. **Ecotoxicology Environmental Safety**. v. 73, n.3, p. 320-325, 2009.

CAMARGO, A. F. M.; BINI, L. M.; SCHIAVETTI, A.. Avaliação dos impactos provocados pelas descargas de esgotos orgânicos em alguns corpos d'água do município de Rio Claro. In: **Oecol Bras I: estrutura, funcionamento e manejo de ecossistemas brasileiros**, pp. 395-406, 1995.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. **Resolução CONAMA n. 357**, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747>>. Acesso em: 01 abr. 2017

COSTA, R. H. P. G. **Reuso da Água. Conceitos, teorias e práticas**. São Paulo: Blucher, p.16, 2007.

- 40 EEKEN, J. C. et al. Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster*
41 heterozygous for the tumor suppressor gene *wts*. **Environmental and Molecular**
42 **Mutagenesis**. v. 40, n. 4, p. 277-82. 2002.
- 43
44 FAGGION, F.; OLIVEIRA, C. A. S.; CHRISTOFIDIS, D. Uso eficiente da água:
45 uma contribuição para o desenvolvimento sustentável da agropecuária. **Revista Brasileira**
46 **de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v. 2, n. 1, p. 187-190, 2009.
- 47
48 FERREIRA, A. P.; HORTA, M. A. P.; CUNHA, C. L. N.. Assessment of heavy
49 metal concentrations in sediment, water and organs of *Nycticorax nycticorax* (Black-
50 crowned Night Heron) in Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Revista de Gestão**
51 **Costeira Integrada / Journal of Integrated Coastal Zone Management**. v. 10, n. 2, p.
52 229-241, 2010.
- 53
54 GRASSI, M. T. **As Águas do Planeta Terra** - Cadernos Temáticos de Química
55 Nova na Escola. Edição Especial, Maio 2001. UFPR – PR
- 56
57 JUSTICE, R.W.; ZILIAN, O.; WOODS, D.F.; NOLL, M.; BRYANT, P.J. The
58 *Drosophila* tumor suppressor gene *Warts* encodes a homolog of human myotonic
59 dystrophy kinase and is required for the control of cell shape and proliferation. **Genes and**
60 **Development**. p. 534-546, 1995.
- 61
62 LEITE, L, S. Efeito carcinogênico de amostras de água contaminadas com chumbo,
63 avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila*
64 *melanogaster*. **Perquirere**: Patos de Minas: UNIPAM. v. 8, n. 2, p. 17-29, 2011.
- 65
66 MATSUMOTO, S.T., MANTOVANI, M.S., MALAGUTTI, M.I.A., DIAS, A.U.,
67 FONSECA, I.C., MARIN-MORALES, M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water
68 contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet
69 assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion roottips.
70 **Genetic and Molecular Biology**. v. 29, n. 1, p. 148-158, 2006.
- 71
72 MORAIS, C. R^a.; CARVALHO, S. M.; ARAUJO, G. R.; SOUTO, H. N.;
73 BONETTI, A. M.; MORELLI, S.; JÚNIOR, E. O. C.. Assessment of water quality and
74 genotoxic impact by toxic metals in *Geophagus brasiliensis*. **Chemosphere**, v. 152, p.
75 328-334, 2016.
- 76
77 MORAIS, C. R^b.; BONETTI, A. M.; CARVALHO, S. M.; REZENDE, A. A. A.;
78 ARAUJO, G. R.; SPANÓ, M. A. Assessment of mutagenic, recombinogenic and
79 carcinogenic potential of Fipronil insecticide in somatic cells of *Drosophila melanogaster*.
80 **Chemosphere**. v. 165, n.1, p. 342-351, 2016.
- 81
82 MORAIS, C. R^c.; VIEIRA, T. C.; BORGES, R. M.; GUIMARÃES, L. M. M.;
83 BARCELOS, L. A.; SOUZA, F. C.; PIMENTEL, L. S.; SILVA, J. C.; VASCONCELOS,
84 M. A.; RODRIGUES, T. S.; SOUSA, F. A.; REZENDE, A. A. A.; SPANÓ, M.;
85 BONETTI, A. M.. Assessment of carcinogenic potential of soft drinks of cola, diet cola,
86 orange and lemon, produced in the city of Uberlândia, Minas Gerais state, Brazil.
87 **Bioscience Journal**. v. 32, n. 1, p. 1025-1039, 2016.
- 88

- 89 MORAIS, C.R., CARVALHO, S.M., NAVES, M.P., ARAUJO, G., REZENDE,
90 A.A.A., BONETTI, A.M., SPANÓ, M.A. Mutagenic, recombinogenic and carcinogenic
91 potential of thiametoxam insecticide and formulated product in somatic cells of *Drosophila*
92 *melanogaster*. **Chemosphere**, v. 187, p. 163-172, 2017.
- 93
94 MORAIS, C.R., BONETTI, A.M., MOTA, A.A., CAMPOS, C.F., SOUTO, H.N.,
95 NAVES, M.P., SANTOS, V.S.V., CAMPOS-JÚNIOR, E.O., PAVANIN, L.A.,
96 REZENDE, A.A.A., SPANÓ, M.A., PEREIRA, B.B. Evaluation of toxicity, mutagenicity
97 and carcinogenicity of samples from domestic and industrial sewage. **Chemosphere**, v.
98 201, p. 342-350, 2018.
- 99
100 NELSON, David L.; COX, Michael, M. **Princípios de bioquímica de**
101 **Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- 102
103 NISHIYAMA, Y.; HIROTA, T.; HARA, T.; MARUMOTO, T.; LIDA, S.;
104 MAKINO, K.; YAMAMOTO, H.; HIRAOKA, T.; KITAMURA, N.; SAYA, H. A human
105 homolog of *Drosophila* warts suppressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and
106 specifically phosphorylated during mitosis. **Febs Letters**. New York. v. 2, p. 159-65, Oct.
107 1999.
- 108
109 SANTOS, V. S. Importância da água para o corpo humano. **Brasil Escola**.
110 Disponível em: <[http://brasilescola.uol.com.br/biologia/importancia-agua-para-corpo-](http://brasilescola.uol.com.br/biologia/importancia-agua-para-corpo-humano.htm)
111 [humano.htm](http://brasilescola.uol.com.br/biologia/importancia-agua-para-corpo-humano.htm)>. Acesso em: 04 abr. 2017
- 112
113 VASCONCELOS, M. A.; ORSOLIN, P. C.; OLIVEIRA, R. G. S.;
114 NEPOMUCENO, J. C.; SPANÓ, M. A.. Assessment of the carcinogenic potential of high
115 intense sweeteners through the test for detection of epithelial tumor clones (warts) in
116 *Drosophila melanogaster*. **Food and Chemical Toxicology**, v.101, p.1-7, 2017.
- 117
118 YADAV, K.K., TRIVEDI, S.P. Chromosomal aberrations in a fish, *Channa*
119 *punctata* after in vivo exposure to three heavy metals. **Mutation Research**. v. 678, n. 1, p.
120 7-12, 2009.