

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CARCINOGÊNICO DE TRECHOS DO CÓRREGO MUMBUCA E DO RIO PERDIZES POR MEIO DO TESTE PARA DETECÇÃO DE TUMOR EPITELIAL EM *DROSOPHILA MELANOGASTER*

EVALUATION OF THE CARCINOGENIC POTENTIAL OF THE STRETCHES OF THE MUMBUCA STREAM AND THE PERDIZES RIVER THROUGH THE FORVEPITHELIAL TUMOR DETECTION TEST IN DROSOPHILA MELANOGASTER

Alexandre Aparecido Mota¹
Carlos Fernando Campos²
Cássio Resende de Morais

RESUMO: A análise química da água, assim como testes toxicológicos e ecotoxicológicos são de fundamental importância para determinar a qualidade de recursos hídricos. O Córrego Mumbuca e o Rio Perdizes, ambos efluentes de Monte Carmelo, MG, Brasil é intensamente impactado por esgotos de origem doméstica e industrial. Na perspectiva de verificar os poluentes presentes nestes efluentes, bem como os efeitos toxicológicos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade carcinogênica do córrego Mumbuca e do rio Perdizes, por meio do Teste para detecção de tumor epitelial em células somáticas de *D. melanogaster*, bem como quantificar a frequência de metais pesados e demais poluentes indicativos de qualidade ambiental. Amostras de água foram coletadas dos efluentes (M1, M2, P1, P2 e MP) e submetidos a análise físico-química. Foi calculado o IQA (índice de qualidade de água). Para avaliar o potencial carcinogênico dos efluentes, larvas de 3º estágio descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, sb¹* e machos *mwh/mwh* foram tratadas com amostras de P1, P2, M1, M2 e MP. A análise físico-química e o ensaio biológico permitem concluir que os valores não detectados para metais pesados e a baixa frequência de tumor epitelial em moscas tratadas com amostras do córrego Mumbuca e do Rio Perdizes pode ser devido a redução das atividades ceramistas em Monte Carmelo, MG, Brasil ao longo dos anos (entre 2009 e 2017). As análises físico-químicas identificaram parâmetros de qualidade ambiental alterados, que influenciaram diretamente na sobrevivência de *D. melanogaster*, no IQA, e que os parâmetros alterados são decorrentes de esgoto domésticos clandestinos lançados a jusante dos efluentes.

PALAVRAS-CHAVE: Qualidade ambiental; Atividade ceramistas; Metais pesados.

ABSTRACT: Chemical analysis of water as well as toxicological and ecotoxicological tests are of fundamental importance in determining water quality. The Mumbuca Stream and the Perdizes river, both effluent from Monte Carmelo, MG, Brazil are heavily impacted by domestic and industrial sewage. In order to verify the pollutants, present in these effluents, as well as the toxicological effects, the present work had as objective to evaluate the carcinogenic capacity of the Mumbuca stream and the Perdizes river, through

¹ Licenciado em Ciências Biológicas – Centro Universitário Mário Palmério – UNIFUCAMP, Monte Carmelo, MG, Brasil.

² Doutor em Genética e Bioquímica – Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, MG, Brasil.

for the detection of epithelial tumor Test in somatic cells of D. melanogaster, as well as quantify the frequency of heavy metals and other pollutants indicative of environmental quality. Water samples were collected from the effluents (M1, M2, P1, P2 and MP) and submitted to physical-chemical analysis. It was calculated from the IQA (water quality index). To evaluate the carcinogenic potential of the effluent, 3rd instar larvae descended from the cross between virgin wts/TM3, sb¹ and mwh/mwh males were treated with samples of P1, P2, M1, M2 and MP. The physico-chemical analysis and the biological assay allow us to conclude that the undetected values for heavy metals and the low frequency of epithelial tumor in flies treated with samples from the Mumbuca and Rio Perdizes streams may be due to the reduction of ceramist activities in Monte Carmelo, MG, Brazil over the years (2009 and 2017). The physical-chemical analyzes identified altered environmental quality parameters, which directly influenced the survival of D. melanogaster, in the IQA, and that the altered parameters are due to clandestine domestic sewage released downstream of the effluents.

KEYWORDS: *Envirnomenal quality; Potters activity; Heavy metals.*

1. INTRODUÇÃO

A água configura-se uma das moléculas de maior importância para os seres vivos. Solvente universal, propriedade de termorregulação e osmorregulação, transporte de substâncias, formação dos lubrificantes nas articulações, participação em reações de hidrólise e fotossíntese, são algumas das funções conferidas pela água em sistemas biológicos. Além disso, a água é de suma importância nas atividades voltadas para a agricultura, pecuária, produção industrial, geração de energia, navegação e harmonia paisagística (MORAES; JORDÃO, 2002).

O planeta Terra possui em sua superfície 71% de água, das quais aproximadamente 97,5% estão localizadas nos mares sob condições salinas, não sendo própria para o consumo; restam apenas 2,5% de água doce, onde apenas 0,3% são utilizadas para consumo humano, animal e agrícola, sendo encontrada em rios e lagos (VERIATO et al. 2015).

Ao decorrer dos anos vem se fazendo um trabalho de conscientização da população para a importância da água, apesar disso esse recurso tão importante à vida vem sendo utilizado em excesso e indevidamente pelo homem, e assim ficando cada dia mais escassa e/ou imprópria para o consumo. A ação antrópica nas últimas décadas vem modificando os ambientes aquáticos de forma expressiva. A exposição desenfreada a diversos poluentes de natureza química e biológica tem por consequência a redução da biodiversidade aquática (GOULART; CALLISTO, 2003).

A grande responsabilidade da maioria dos impactos ambientais vem de origem antropogênica, tais como, depressão de matas ciliares, poluição de origem doméstica, agrícola e industrial (CAMARGO e SCHIAVETTI, 1995; AGENDA 21, 1996). Como consequência da intervenção não sustentável do homem ao ambiente aquático, redução da biodiversidade animal e vegetal pode ocorrer, além da maior probabilidade de veiculação de doenças hídricas em humanos.

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), através da resolução n. 357/2005, declara que é expressamente proibido o lançamento de poluentes nocivos ao ser humano e outras espécies no meio ambiente, e que os corpos d'água estão sujeitos à avaliação de qualidade, estabelecendo critérios quantitativos físicos, químicos e biológicos admissíveis, que não os prejudiquem. Esses critérios estão baseados em três aspectos distintos: Os parâmetros físicos (turgidez, cor, temperatura), parâmetros químicos (pH) e os parâmetros biológicos (BRASIL, 2005).

A análise química da água, assim como testes toxicológicos e ecotoxicológicos são 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.

A cidade de Monte Carmelo situada na região Alto Paranaíba, Minas Gerais, Brasil é conhecida pela sua economia, sendo está voltada na confecção de produtos cerâmicos (tijolo, telhas e lajota) e no plantio e comércio do café. Trabalhos recentes demonstraram que o recurso hídrico da cidade (córrego Mumbuca) está em contínuo processo de poluição de origem doméstica e industrial (MORAIS et al., 2016; CAMPOS et al., 2015; CAMPOS JÚNIOR et al., 2015). Nesses trabalhos foram encontrados traços de metais pesados acima do limite pré-determinado pelo CONAMA (2005) que por sua vez estavam diretamente associados a alterações cromossômicas em espécies nativas (MORAIS et al., 2016; CAMPOS JÚNIOR et al., 2015).

Análises genéticas são essenciais para compreender efeitos proporcionados por poluentes antes mesmo que as alterações celulares resultem em manifestações visíveis. Duas categorias de genes estão diretamente associadas ao controle da proliferação celular, a saber: os proto-oncogenes e os genes supressores de tumor. Os proto-oncogenes são genes relacionados ao crescimento, diferenciação e proliferação celular. Os genes supressores de tumor impõem limites ao ciclo e ao crescimento das células e suprimem propriedades fenotípicas das células tumorais, exercendo uma ação anti-cancerígena.

A espécie *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como “mosca da fruta” é um dos eucariotos invertebrados, que vem cada vez mais ganhado espaço como modelo de pesquisa e práticas de monitoramento de matrizes simples e complexas (NEPOMUCENO, 2015). A *D. melanogaster* tem papel fundamental na identificação de possíveis substâncias com potenciais carcinogênicos, em função da homologia favorável de 75% dos genes relacionados a doenças humanas e ao mecanismo de reparo do DNA, possibilitando a extrapolação dos resultados para humanos (KIM et al., 2011).

Evidências bioquímicas demonstraram que rearranjos deletérios do genoma, resultantes de recombinação homóloga são determinantes na carcinogênese de células selvagens (AROSSI et al., 2009). Em células mantidas em heterozigose para genes supressores de tumor, contendo alelos selvagens e mutantes, a perda da heterozigose como consequência de eventos clastogênicos, aneugênicos, mutações pontuais ou recombinação mitótica podem acarretar no acúmulo de mutações e consequentemente a formação de células com caráter neoplásico.

O Teste de Detecção de Tumor Epitelial em *Drosophila melanogaster* é um teste utilizado para rastrear a perda da heterozigose, resultante da exposição crônica a diferentes xenobióticos (SIDOROV et al., 2001; ORSOLIN e NEPOMUCENO, 2009; SILVA e NEPOMUCENO, 2011; COSTA et al., 2011; FURTADO e NEPOMUCENO, 2012; MORAIS et al., 2016). Partindo da premissa que matrizes coletadas em recursos hídricos podem conter uma ampla variedade de substâncias, tal teste pode contribuir na avaliação da qualidade ambiental amostrada.

O Teste para detecção de tumor epitelial faz uso de uma linhagem de *D. melanogaster* que possui o marcador *wt* (*Warts*), que quando expresso na condição selvagem atua como um gene supressor de tumor (XU et al., 1995). A deleção do gene por eventos de mutação ou recombinação mitótica e a consequente expressão do alelo recessivo, leva à formação de clones de células que são consideradas altamente invasivas, resultando na manifestação de tumor epitelial no corpo e apêndices da mosca (NISHIYAMA et al., 1999).

Em função do impacto ambiental gerado pela interferência humana no córrego Mumbuca e no rio Perdizes, avaliar a contribuição dos poluentes dos recursos hídricos na perda da heterozigose de células selvagens é de suma importância no intuito de prevenir doenças associadas à instabilidade genética, que por sua vez pode gerar a extinção local de espécies nativas.

Nesse contexto o presente trabalho teve como objetivo, avaliar a capacidade carcinogênica do córrego Mumbuca e do rio Perdizes, por meio do Teste para detecção de tumor epitelial em células somáticas de *D. melanogaster*. Esses recursos hídricos foram selecionados com finalidade de monitoramento ambiental baseados nas evidências de descarga de efluentes domésticos e industriais por atividades antrópicas nas margens destes corpos d'água.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Pontos de coleta

Todos os pontos foram coletados na cidade de Monte Carmelo, localizado na região Alto Paranaíba (18°44'5" S e 47°29'47" W), do estado de Minas Gerais, Brasil. O último senso demográfico registrou 45 772 habitantes vivendo em uma área de 1 343 035 Km² (IBGE, 2010). Os pontos de coleta de água foram definidos de acordo com as atividades humanas existentes nas margens o córrego Mumbuca e Rio Perdizes, sobretudo, atividades antrópicas de origem doméstica e industrial. A localização dos pontos está amostrada na **Figura 1** e a localização geográfica na **Tabela 1**.

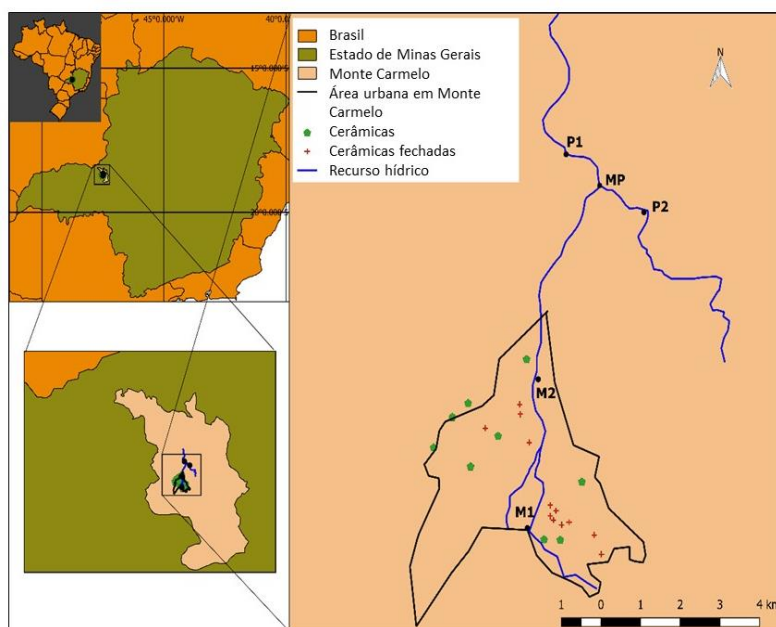


Figura 1. Pontos de coleta de água do córrego Mumbuca (M1 e M2), Rio Perdizes (P1 e P2) e encontro dos recursos hídricos (MP). Potteries: Cerâmicas abertas; Potteries closed: Cerâmicas fechadas.

Tabela 1. Coordenadas geográficas dos pontos de coleta de água do córrego Mumbuca e do Ri Perdizes.

Pontos de coleta	Coordenadas geográficas
M1	18°44'19.6''S 47°29'47.4''O
M2	18°42'31.9''S 47°29'37.8''O
MP	18°41'48.1''S 47°26'57.3''O
P1	18°39'48.7''S 47°29'14.3''O
P2	18°40'30.4''S 47°28'7.1''O

M1 e M2: Córrego Mumbuca; P1 e P2: Rio Perdizes; MP: Ponto de encontro dos efluentes.

O ponto 1 (M1 – **Figura 2**), compreende o córrego Mumbuca e aparentemente não sofre processo de degradação antrópica, e é utilizado pelo DMAE (Departamento Municipal de Água e Esgoto), na captação e distribuição de água para o uso populacional local.



Figura 2: Ponto 1 - M1 – Córrego Mumbuca, Monte Carmelo, MG, Brasil.

O ponto 2 (M2 – **Figura 3**), corresponde o córrego Mumbuca e é alvo de despejo de efluentes domésticos e industriais.



Figura 3: Ponto 2 - M2 - Córrego Mumbuca, Monte Carmelo, MG, Brasil.

O ponto 3 (MP – **Figura 4**) corresponde ao ponto de encontro entre o córrego Mumbuca e o Rio Perdizes. Tal ponto apesar de localizado em zona rural é forte candidato de receber os poluentes oriundos do córrego Mumbuca e do Rio Perdizes.



Figura 4: MP – Local de encontro entre os efluentes Mumbuca e Rio Perdizes na cidade de Monte Carmelo, MG, Brasil.

O ponto 4 (P1 – **Figura 5**) e o Ponto 5 (P2 – **Figura 6**), corresponde aos pontos coletados do Rio Perdizes. Análises de outros trabalhos confirmaram má qualidade ambiental nestes pontos (CAMPOS et al., 2015).



Figura 5: P1 – Rio Perdizes, Monte Carmelo, MG, Brasil.

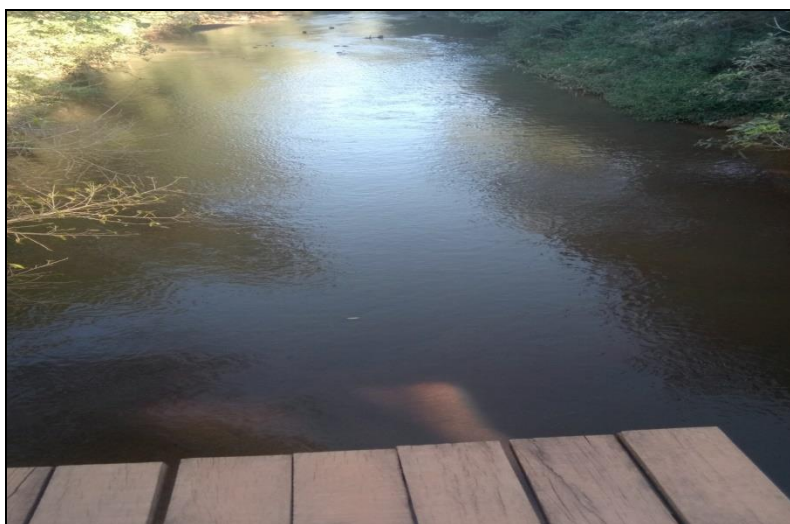


Figura 6: P2 – Rio Perdizes, Monte Carmelo, MG, Brasil.

2.2 Análise físico-química da água

As características físico-químicas da água nos cinco pontos amostrados foram analisadas segundo os procedimentos de Boyd and Tucken (1992), oxigênio dissolvido, temperatura, pH, Amônia não-ionizada, Taxa de nitrito, nitrato, Alcalinidade e dureza. Os parâmetros foram obtidos em parceria com o instituto de química da Universidade Federal de Uberlândia.

2.3 Índices de Qualidade de Água (IQA)

A determinação do IQA deste trabalho foi realizada de acordo com os parâmetros do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM). Os cálculos foram analisados com

auxílio do Software IQADATA, disponibilizado pela Universidade de Santa Cruz do Sul-RS. O IQA é determinado pelo produto ponderado das qualidades estabelecidas para cada parâmetro (oxigênio dissolvido, coliformes fecais, pH, demanda bioquímica de oxigênio, nitrato, fosfato total, temperatura da água, turbidez e sólidos totais). Os resultados para o índice final de qualidade de água (**Tabela 2**) foram classificados de acordo com seu índice de ponderação obtido.

Tabela 2: Índice de qualidade de água segundo IQA-NSF

CLASSIFICAÇÃO	PONDERAÇÃO
Excelente	90 <IQA≤ 100
Bom	70<IQA≤ 90
Médio	50<IQA≤ 70
Ruim	25 <IQA≤ 50
Muito Ruim	0 <IQA≤ 25
Fonte: IGAM (2005).	

2.4

Teste

de

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

2.4.1 Ensaio de Toxicidade

Vinte larvas de *D. melanogaster* de 3º estágio foram transferidas para *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 amostras dos efluentes (M1, M2, MP, P1 e P2). A taxa de sobrevivência foi avaliada pela quantidade de larvas que após o tratamento, passaram pelo processo de metamorfose e atingiram a fase adulta (imago).

2.4.2 Linhagens de *Drosophila*, cruzamento e tratamentos

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 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 $\frac{1}{4}$ 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 dos pontos de coleta de água usados nesse presente trabalho.

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 melanogaster* (TSUDA; TAKEDA, 1987) e ensaios de carcinogênese (ORSOLIN, NEPOMUCENO, 2009; ORSOLIN; SILVA-OLIVEIRA; NEPOMUCENO, 2012).

2.4.3 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.

2.4.4 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 $P < 0,005$.

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desde que o homem passou a fazer uso dos recursos naturais para satisfazer suas necessidades, diferentes tipos de processos antropogênicos desencadeadores de desequilíbrios ambientais acompanharam o crescimento humano, sendo, portanto, diretamente proporcional ao processo de industrialização.

Devido sobretudo, as atividades domésticas, industriais e agrícolas, outrora presentes na cidade de Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil, o córrego Mumbuca e o Rio Perdizes, foram ao longo dos anos impactados por descarga de esgotos de diferentes fontes poluidoras. Dejetos orgânicos e inorgânicos são bem descritos na literatura, como sendo responsáveis por desencadear desequilíbrios ambientais e eventos deletérios em populações aquáticas (MORAIS et al., 2016).

No presente trabalho visando verificar a ocorrência de poluentes potencialmente nocivos nas margens do córrego Mumbuca e do Rio Perdizes, ensaio toxicológico, baseado na Genética Toxicológica foi empregado, bem como métodos físico-químicos para determinação dos parâmetros de qualidade ambiental.

Para avaliar o efeito tóxico e carcinogênico das amostras dos efluentes do córrego Mumbuca e Rio Perdizes, foram empregados o ensaio de sobrevivência e o Teste para detecção de tumor epitelial, respectivamente, ambos em *D. melanogaster*.

Na **Figura 7** está apresentado o resumo dos resultados referente a taxa de sobrevivência de *D. melanogaster* após tratamento crônico com M1, M2, MP, P1 e P2. Os resultados revelaram efeito tóxico apenas nas amostras coletadas do ponto MP (ponto de encontro do córrego Mumbuca) e P2 (Rio Perdizes).

Como apresentado na **Tabela 3** os pontos MP e P2 apresentaram alta frequência de coliformes fecais termotolerantes, sendo nestes pontos, classificados em classe 2 (qualidade regular) segundo a resolução nº 357 do CONAMA (2005). Neste sentido a presença de coliformes fecais, indica a descarga de esgoto doméstico clandestino, as margens dos efluentes. Esgotos domésticos, contribuem fortemente com a redução da qualidade ambiental, pois estes são fontes orgânicas (facilita o processo de eutrofização) e fontes de inúmeros microrganismos patogênicos causadores de doenças. Este parâmetro ambiental pode ter contribuído com a morte de *D. melanogaster* nos pontos supracitados na **Figura 7**.

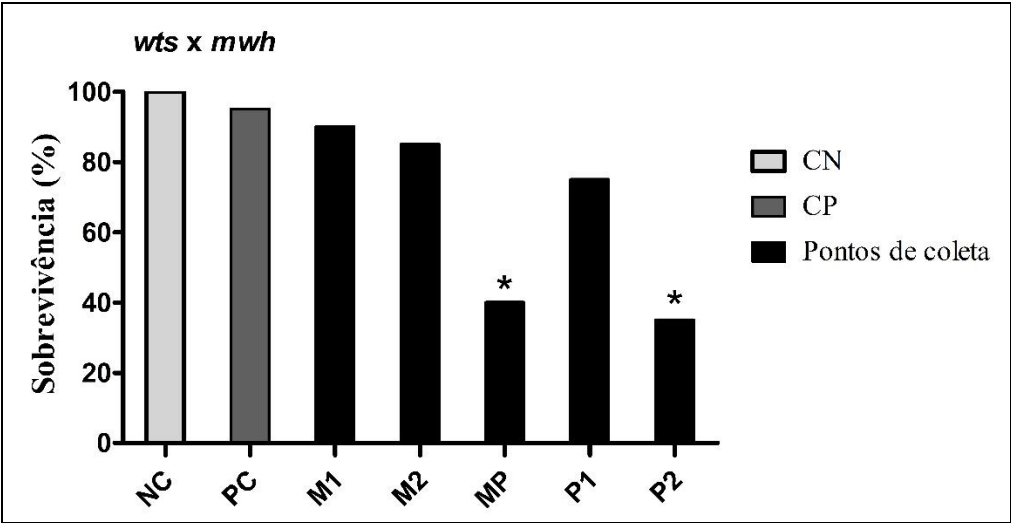


Figura 7. Taxas de sobrevivência dos descendentes de *Drosophila melanogaster* resultantes dos cruzamentos *mwh/mwh* e *wts/TM3, sb¹*, tratadas cronicamente amostras do córrego Mumbuca e do Rio Perdizes (colunas pretas). NC = Controle negativo (Água); PC = Controle positivo (Mitomicina C: 0,1 mM).

Os resultados observados nos ensaios toxicológicos são concordantes com a análise físico-química dos poluentes. Como apresentado na **Tabela 3** todos os metais pesados analisados por meio da análise físico-química estão dentro dos limites pré-determinados pelo CONAMA (2005), não sendo detectados nas análises físico-química (M1, M2, MP, P1 e P2), indicando baixa frequência destes no meio aquático (classificados em classe 1).

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos e metais pesados encontrados em trechos do córrego Mumbuca e o Rio Perdizes, na cidade de Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil.

Parameters	Pontos de coleta
	Limites em cada classe

	P1	P2	MP	M1	M2	C1	C2	C3
Turbidez (UNT)	4,2 a	0,1 a	4,1 a	2,7 a	11,2 a	40,0	100,0	100,0
pH	7,61 a	7,67 a	4,19 a	7,39 a	7,8 a	6,0-9,0	6,0-9,0	6,0-9,0
Nitrogênio amoniacal (mg/L)	1,07 a	2,43 b	1,3 a	1,03 a	1,0 a	3,7 para pH ≤ 7,5/2,0 para pH entre 7,51 e 8,0/ 1,0 para pH entre 8,01 e 8,5/ 0,5 para pH > 8,5		
Oxigênio dissolvido (mg/mL)	8,0 a	8,0 a	8,0 a	8,0 a	8,0 a	> 6,0	5,0	4,0
Demanda química de oxigênio (mg/mL)	ND	ND	ND	ND	66,2 c	-	5,0	10,0
Fósforo total (mg/mL)	0,1 a	0,3 c	0,0 a	0,0 a	5,2 c	0,1	-	0,05
Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)	126,0 a	101,0 a	1150,0 b	94,0 a	1460,0 b	200,0	1000,0	2500,0
Óleos e graxas (mg/L)	10,0	210,0	7,74	2,74	10,0	ausente	ausente	ausente
Sólidos dissolvidos totais (mg/L)	36,0 a	106,0 a	ND a	14,16 a	1239,0 c	500,0	-	500,0
Detergentes (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	ausente	ausente	ausente
Cloretos (mg/L)	ND a	5.88 a	1.96 a	1.96 a	45.09 a	250,0	250,0	250,0
Cloro Residual (mg/L)	0.08 b	0.09 b	0.07 b	0.06 b	0.07 b	0,01	-	-
Fluoretos (mg/L)	0.11 a	0.18 a	0.41 a	0.04 a	0.75 a	1,4	1,4	1,4
Sulfatos (mg/L)	0,0 a	45 a	0,0 a	25 a	0,0 a	250,0	250,0	250,0
Nitritos (mg/L)	ND a	ND a	ND a	ND a	3.2 c	1,0	1,0	1,0
Nitratos (mg/L)	0.29 a	0.27 a	0.36 a	0.25 a	2.33 a	10,0	10,0	10,0
Alumínio (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,1	0,1	0,2
Cádmio (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,001	0,001	0,01
Chumbo (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,01	0,01	0,033
Ferro (mg/ml)	1.03 c	1.16 c	0.74 c	1.08 c	0.27 a	0,3	0,3	5,0
Cromo (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,05	0,05	0,05
Cobre (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,009	0,009	0,013
Cobalto (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,05	0,05	0,2
Merúrio (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,0002	0,0002	0,002
Níquel (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,025	0,025	0,025
Prata (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,01	0,01	0,05
Zinco (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,18	0,18	5,0
Vanádio (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,1	0,1	0,1
Manganês (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,1	0,1	0,5
Bário (mg/mL)	ND a	ND a	ND a	ND a	ND a	0,7	0,7	1,0

* Valores classificados de acordo com a resolução nº 357 do CONAMA (2005): a = classe 1 (qualidade boa), b = classe 2 (qualidade regular) e c = classe 3 (qualidade ruim).
 ND = Não detectado; C1 = Classe 1; C2 = classe 2; C3 = classe 3.

Como apresentado na **Tabela 4** nenhuma das amostras dos pontos amostrados foram capazes de induzir frequência de tumor epitelial acima dos limites toleráveis basais, não diferindo estatisticamente do controle negativo ($P > 0,05$). O Teste para detecção de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster* confirma a fidelidade das análises físico-químicas, uma vez que não foram evidenciados xenobióticos genotóxicos capazes de causar perda da heterozigose do gene *wts*.

Tabela 4. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor *wts* de *D. melanogaster* tratados com diferentes amostras de água.

Tratamento (mg/mL)	Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)						
		olhos	cabeça	asas	corpo	pernas	halteres	Total
Controle negativo	200	0,010 (02)	0,005 (01)	0,035 (07)	0,105 (21)	0,020 (04)	0,000 (00)	0,175 (35)
MMC	130	0,138 (18)*	0,115 (15)*	2,138 (278)*	0,823 (107)*	0,300 (39)*	0,046 (06)*	3,561 (463)*
M1	200	0,020 (04)	0,015 (03)	0,035 (07)	0,110 (22)	0,015 (03)	0,000 (00)	0,195 (39)
M2	200	0,015 (03)	0,005 (01)	0,040 (08)	0,115 (23)	0,020 (04)	0,000 (00)	0,195 (39)
MP	200	0,010 (02)	0,010 (02)	0,025 (05)	0,140 (28)	0,010 (02)	0,005 (01)	0,200 (40)
P1	200	0,005 (01)	0,015 (03)	0,040 (08)	0,095 (19)	0,005 (01)	0,000 (00)	0,160 (32)
P2	200	0,000 (00)	0,005 (01)	0,020 (04)	0,120 (24)	0,015 (03)	0,000 (00)	0,160 (32)

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

* Valores considerados diferentes do controle negativo ($P \leq 0,05$). MMC, Mitomicina C; M1: Ponto 1 Mumbuca; M2: Ponto 2 Mumbuca; MP: Encontro entre Mumbuca e Rio Perdizes; P1: Ponto 1 Rio Perdizes; P2: Ponto 2 Rio Perdizes.

Até o momento, três trabalhos estão disponíveis na literatura ao que diz respeito a análises ambientais e toxicológicas do córrego Mumbuca e do Rio Perdizes (CAMPOS et al., 2015; CAMPOS-JÚNIOR; PEREIRA; MORELLI, 2015; MORAIS et al., 2016).

Campos et al (2015) avaliaram a genotoxicidade de diferentes pontos do córrego Mumbuca e Rio Perdizes, por meio do Teste do Micronúcleo (TMN) em *Tradescantia pallida*. As análises de tétrades revelaram alta frequência de MN e consequentemente potencial mutagênico das amostras analisadas.

Ensaio conduzido com amostras do córrego Mumbuca, demonstraram alteração clastogênica e/ou aneugênica por meio do TMN em peixes *Geophagus brasiliensis* (MORAIS et al., 2016; CAMPOS-JÚNIOR; PEREIRA; MORELLI, 2015) e *Rhamdia quelen* (CAMPOS-JÚNIOR; PEREIRA; MORELLI, 2015) coletados de diferentes pontos do córrego Mumbuca.

Em todos os trabalhos, metais pesados foram diretamente associados com a frequência de MN nas análises citogenéticas. A muito se sabe que metais pesados, estão diretamente associados a efeitos deletérios e danos envolvidos em instabilidade genética (YADAV e TRIVEDI, 2009; BARBOSA et al., 2009; MATSUMOTO et al., 2006).

Chumbo, cromo e Níquel foram os metais pesados mais frequentes nas análises físico-químicas do córrego Mumbuca (MORAIS et al., 2016; CAMPOS-JÚNIOR; PEREIRA; MORELLI, 2015). Segundo estes mesmos autores, a fontes destes metais pesados, principalmente o chumbo, são em suma de origem ceramista, devido sobretudo a descargas clandestinas a jusante do córrego Mumbuca e Perdizes.

Segundo Moraes et al (2016) a economia de Monte Carmelo é pautada principalmente na produção de produtos cerâmicos e atividades agrícolas (plantio do café), os quais podem contribuir fortemente com a defasagem da qualidade ambiental dos recursos hídricos da região.

O trabalho aqui descrito, entra em discordância com os dados de monitoramento ambiental dos recursos hídricos supracitados por outros autores (CAMPOS et al., 2015; CAMPOS-JÚNIOR; PEREIRA; MORELLI, 2015; MORAIS et al., 2016).

Nossa hipótese quanto a ausência de metais pesados, bem como a ausência de resposta biológica de *D. melanogaster* está relacionado com a crise econômica da cidade nesse período. Conforme apresentado na **Tabela 5** e **Figura 1** até 2009, 22 cerâmicas estavam ativas na cidade, que devido à crise econômica e de recursos (argila), começaram a cancelar suas atividades, tendo um somatório de apenas 9 cerâmicas em 2017.

Na **Figura 1** é possível visualizar que a grande maioria das cerâmicas desativadas, são próximas da jusante do córrego Mumbuca (M1 e M2), influenciando diretamente na qualidade ambiental do recurso. Os autores reconhecem que os metais pesados apresentam meia-vida química relativamente longa, mas acreditamos que a redução das atividades ceramistas pode ter reduzido fortemente a descargas destes poluentes e que devido as características dos dois recursos hídricos (ambiente lótico) o acúmulo destes poluentes no sedimento, pode ter sido limitado.

Além disso investigações ao que diz respeito a microrganismos biorremediadores na região devem ser futuramente investigados, haja visto que muitos destes organismos conseguem reduzir a concentração de metais pesados e outros poluentes ambientais, potencialmente tóxicos (PARDO et al., 2003; KHODAVERDILOO e SAMADI, 2011; SALEHI et al., 2014).

Tabela 5. Cerâmicas e suas respectivas localizações em Monte Carmelo, MG, Brasil.

Nome	Coordenadas geográficas	Situação
Cerâmica Art Plan	18° 72' 26.51" S e 47° 51' 89.02" O	Aberta
Cerâmica Belmonte	18° 71' 86.89" S e 47° 50' 65.33" O	Fechada
Cerâmica Botelho	18° 71' 39.20" S e 47° 49' 83.11" O	Fechada
Cerâmica Brasil	18° 73' 71.57" S e 47° 49' 02.92" O	Fechada
Cerâmica Carmelitana	18° 74' 12.13" S e 47° 48' 86.25" O	Aberta
Cerâmica Carmelo	18° 71' 37.21" S e 47° 51' 06.54" O	Aberta
Cerâmica Colina	18° 72' 64.49" S e 47° 51' 00.88" O	Aberta
Cerâmica Cruzado	18° 74' 40.63" S e 47° 47' 87.78" O	Fechada
Cerâmica Duarte	18° 70' 48.52" S e 47° 49' 66.79" O	Aberta
Cerâmica Inca	18° 71' 64.93" S e 47° 51' 44.20" O	Aberta
Cerâmica José Bozi	18° 71' 58.93" S e 47° 49' 81.85" O	Fechada
Cerâmica Mecasa	18° 72' 03.03" S e 47° 50' 34.98" O	Aberta
Cerâmica Mineira	18° 72' 95.33" S e 47° 48' 34.49" O	Aberta
Cerâmica Monte Carlo	18° 74' 01.84" S e 47° 48' 04.87" O	Fechada
Cerâmica Monte Carmelo	18° 73' 42.11" S e 47° 49' 10.21" O	Fechada
Cerâmica Montreal	18° 73' 81.45" S e 47° 48' 83.22" O	Fechada
Cerâmica Nacional	18° 73' 76.43" S e 47° 48' 65.20" O	Fechada
Cerâmica Real Minas	18° 72' 15.77" S e 47° 49' 60.63" O	Fechada
Cerâmica Taguá	18° 71' 74.39" S e 47° 50' 97.41" O	Aberta
Cerâmica Triângulo	18° 74' 11.31" S e 47° 49' 24.92" O	Fechada
Cerâmica União	18° 73' 63.93" S e 47° 49' 10.22" O	Fechada
Cerâmica Única Lassi	18° 73' 53.26" S e 47° 48' 96.01" O	Fechada

Mesmo não sendo identificados metais pesados na análise físico-química, o presente trabalho alerta para a presença de outros poluentes, os quais contribuem com a redução da qualidade ambiental. Como apresentado na **Tabela 6**, o índice de qualidade da água (IQA) indicou qualidade ruim e regular para os pontos M2 e MP, respectivamente.

Os parâmetros que contribuíram com a redução da qualidade de água de M2 e MP foram demanda química de oxigênio, fósforo total, coliformes termotolerantes, presença de óleos e graxas e Nitrito, ambos acima do limite pré-determinado pelo CONAMA (2005) para classe 1 e que estes poluentes são gerados principalmente por descarga de esgotos domésticos.

Tabela 6. Índice de Qualidade da água (IQA) dos pontos coletados do córrego Mumbuca e Rio Perdizes, Monte Carmelo Minas Gerais, Brasil, segundo os parâmetros estabelecidos pelo Instituto de Gestão de Águas (IGAM).

Pontos de coleta	Coordenadas geográficas	Valores de qualidade	Classificação
M1	18° 44' 19.6" S 47° 29' 47.4" O	80,98	Bom
M2	18° 42' 31.9" S 47° 29' 37.8" O	27,34	Ruim
MP	18° 41' 48.1" S 47° 26' 57.3" O	64,96	Regular

P1	18°39'48.7''S 47°29'14.3''O	80,80	Bom
P2	18°40'30.4''S 47°28'7.1''O	77,02	Bom

Finalmente os autores destacam para a necessidade de identificar os esgotos clandestinos que desaguam no córrego Mumbuca e Rio Perdizes, visando a tomadas de medidas corretivas baseadas na recuperação ambiental e a manutenção da qualidade dos corpos d'água da região.

4. CONCLUSÃO

A análise físico-química e o ensaio biológico permitem concluir que os valores não detectados para metais pesados e a baixa frequência de tumor epitelial em moscas tratadas com amostras do córrego Mumbuca e do Rio Perdizes pode ser devido a redução das atividades ceramistas em Monte Carmelo, MG, Brasil ao longo dos anos (entre 2009 e 2017).

As análises físico-químicas identificaram parâmetros de qualidade ambiental alterados, que influenciou diretamente no IQA, e que os parâmetros alterados, são decorrentes de esgoto domésticos clandestinos lançados a jusante dos efluentes.

Visando acompanhar a condição ambiental dos efluentes, monitoramentos contínuos devem ser conduzidos, as fontes poluidoras identificadas e corrigidas.

REFERÊNCIAS

AROSSI, G.A., Dihl, R.R., Lehmann, M., Cunha, K.S., Reguly, M.L., de Andrade, H.H.R., 2009. In vivo genotoxicity of dental bonding agents. *Mutagenesis* 24, 169-172.

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. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 73, 3, p. 320-325, 2009.

Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1992. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Alabama. Agric. Exp. Stn. 1-183.

Brasil, 2005. Ministerio do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n ~ 357, de 17 de março de 2005. Brasília.

Camargo, A.F.M., Bini, L.M., Schiavetti, A., 1995. Avaliação dos impactos provocados pelas descargas de esgotos organicos em alguns corpos d' agua do município de Rio Claro.

In: Oecol Bras I: estrutura, funcionamento e manejo de ecossistemas brasileiros, pp. 395-406

CAMPOS, C. F.; PEREIRA, B. B.; CAMPOS JUNIOR, E. O.; SOUSA, E. F.; SOUTO, H. N.; MORELLI, S. Genotoxic evaluation of the River Paranaíba hydrographic basin in Monte Carmelo, MG, Brazil, by the Tradescantia micronucleus. Genetics and Molecular Biology, v. 38, p. 507-512, 2015.

CAMPOS JÚNIOR, E. O.; PEREIRA, B. B.; MORELLI, S. Monitoring genotoxicity potential in the mumbuca stream, Minas Gerais, Brazil. Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A, v. 78, p. 1-11, 2015.

CONAMA, resolução 357 de 2005. Disponível em <http://www.mma.gov.br/por/conama/res/res/05/res35705.pdf>

Costa, W.F., Oliveira, A.B., Nepomuceno, J.C., 2011. Lapachol as an epithelial tumor inhibitor agent in Drosophila melanogaster heterozygote for tumor suppressor gene wts. Genet. Mol. Res. 10, 3236-3245

FURTADO, S.G., NEPOMUCENO, J.C. Redução de tumor epitelial em Drosophila melanogaster, pela enzima metaloprotease isolada da peçonha da serpente Bothrops pauloensis, por meio do teste wts (Warts). Perquirere v. 9, p. 224-240, 2012

GOULART, M.D. & CALLISTO, M. 2003. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. Revista FAPAM (no prelo).

KIM, S. I., J.W. JUNG, J.W.; AHN, Y.J.; RESTIFO, L.L.; KWON, H.W. Drosophila as a model system for studying lifespan and neuroprotective activities of plant-derived compounds. Journal of Asia-Pacific Entomology. 14: 509-517, 2011.

KHODAVERDILOO, H., SAMADI, A. Batch equilibrium study on sorption, desorption, and immobilisation of cadmium in some semi-arid zone soils as affected by soil properties. Soil Research. v. 49, p. 444-454, 2011.

MATSUMOTO, S.T., MANTOVANI, M.S., MALAGUTTII, M.I.A., DIAS, A.U., FONSECA, I.C., MARIN MORALES, M.A., 2006. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish Oreochromis niloticus and chromosome aberrations in onion roottips. Genetic and Molecular Biology, v. 29, n.1, p. 148-158, 2006.

MORAIS, C. R.; CARVALHO, S. M.; ARAUJO, G. R.; SOUTO, H. N.; BONETTI, A.; MORELLI, S.; CAMPOS JÚNIOR, E. O. Assesment of water quality and genotoxic impact by toxic metals in Geophagus brasiliensis. Chemosphere, v. 152, p 328-334, 2016.

MORAES, D. S. de L.; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. São Paulo, 1ª Revista de Saúde Pública, v. 36, 2002.

NEPOMUCENO, J.C. Using the *Drosophila melanogaster* to assessment carcinogenic agents thought the Test for Detection of Epithelial Tumor Clones (Warts). *Advanced Techniques in Biology & Medicine*. 3, 2-8, 2015.

NISHIYAMA, Y.; HIROTA, T.; MORISAKI, T.; HARA, T.; MARUMOTO, T.; IADA, S.; MAKINO, K.; YAMAMOTO, H.; HIRAOKA, T.; KITAMURA, N.; SAYA, H. A human homolog *Drosophila* warts supressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. *Febs Letters*. 459: 159-165, 1999.

ORSOLIN, P.C., NEPOMUCENO, J.C. Potential carcinogenico do açafrão (*Curcuma longa* L.) identificado por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster*. *Perquiere*. V. 6, 55-69, 2009.

ORSOLIN, P.C.; SILVA-OLIVEIRA, R.G.; NEPUMOCENO, J.C. Assessment of the mutagenic, recombinagenic and carcinogenic potential of orlistat in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, v. 50, n.8, p. 2598-2604, 2012.

PARDO, R., HERGUEDAS, M., BARRADO, E., VEGA, M. Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida*. *Analytical Bioanalytical Chemistry*. v 376, p. 26–32, 2003.

SALEHI, P., TAJABADI, F. M., YOUNESI, H., DASHTI, Y. 2014 Optimization of lead and nickel biosorption by *Cystoseira trinodis* (brown algae) using response surface methodology. *Clean-Soil, Air, Water*, v.42, p. 243–250, 2014.

SIDOROV, R.A., UGNIVENKO, E.G., KHOVANOVAE, E.M., BELISTSKY, G.A. Induction of tumor clones in *Drosophila melanogaster* wts/+ heterozygotes with chemical carcinogeneses. *Mutat. Res*. V. 498, p. 181-191, 2001.

SILVA, L.M., NEPOMUCENO, J.C. Efeito modulador da polpa da graviola (*Annona muricata*) sobre a carcinogenicidade da mitomicina C, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. *Perquirere*. V. 8, p. 80-94, 2012.

TSUDA, H.; TAKEDA, N. Effect of tumor promoter TPA on spontaneous and Mitomycin C induced mitotic recombination in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*. 189: 375-379, 1987.

VERIATO, M. K. L.; BARROS, H. M. M.; SOUZA, L. P.; CHICÓ, L. R.; BAROSI, K. X. L. Água: Escassez, crise e perspectivas para 2050. *Pombal, Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 10, p. 17–22, 2015.

XU, T., WANG, W., ZHANG, S., STEWART, R.A., YU, W. Identifying tumor suppressors in genetic mosaics: The *Drosophila* lats gene encodes a putative protein kinase. *Developmen*. 121, p. 1053-1063, 1995.

YADAV, K.K., TRIVEDI, S.P. Chromosomal aberrations in a fish, *Channa punctata* after in vivo exposure to three heavy metals. *Mutat. Res*. V. 678, n.1, p. 7-12, 2009.