



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAUDE HUMANA E MEIO AMBIENTE**

**RAIMUNDO MÁRCIO PEREIRA DE OLIVEIRA**

**Efeito genotóxico das águas superficiais do baixo curso da bacia  
hidrográfica do Rio Capibaribe, Pernambuco-Brasil**

Vitória de Santo Antão

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAUDE HUMANA E MEIO AMBIENTE**

**RAIMUNDO MÁRCIO PEREIRA DE OLIVEIRA**

**Efeito genotóxico das águas superficiais do baixo curso da bacia  
hidrográfica do Rio Capibaribe, Pernambuco-Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde humana e meio ambiente.

Área de Concentração: Biologia da Conservação.

**Orientadora:** Dra. CLAUDIA ROHDE

Vitória de Santo Antão

2019

Catálogo na Fonte  
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.  
Bibliotecária Fernanda Bernardo Ferreira, CRB4/2165

- O48e Oliveira, Raimundo Márcio Pereira de  
Efeito Genotóxico das águas superficiais do baixo curso da bacia hidrográfica do Rio Capibaribe, Pernambuco-Brasil /Raimundo Márcio Pereira de Oliveira. - Vitória de Santo Antão, 2019.  
57 folhas; fig.
- Orientadora: Claudia Rohde.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, 2019.  
Inclui referências.
1. Genotoxicidade. 2. Saúde Humana. 3. Ensaio Cometa. I. Rhode, Cláudia (Orientadora). II. Título.
- 363.739 4      CDD (23.ed.)      BIBCAV/UFPE-015/2019

**RAIMUNDO MÁRCIO PEREIRA DE OLIVEIRA**

**Efeito genotóxico das águas superficiais do baixo curso da bacia  
hidrográfica do Rio Capibaribe, Pernambuco-Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde humana e meio ambiente.

Aprovado em: 15/02/2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Claudia Rohde (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Ana Maria Mendonca de Albuquerque Melo (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr. Thiago Oliveira dos Santos (Examinador Externo)  
Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste

Dedico este estudo aos meus pais Luiz de Oliveira e Maria de Lourdes P. de Oliveira (*in memoriam*), e também à minha esposa Eliane F. Bastos Oliveira, que sempre me compreendeu nos momentos mais difíceis.

## AGRADECIMENTOS

Ao Sr. Deus que me proporcionou saúde e capacidade de aprendizado com humildade. A toda minha família, principalmente, minha esposa Eliane F. Bastos Oliveira, que sem a sua compreensão e apoio não seria possível concluir esse mestrado. A minha irmã, Sandra Conceição Oliveira Requião e ao meu irmão Humberto Luís P. de Oliveira, que cuidaram de documentos e necessidades de meu interesse em minha ausência, acreditando nessa minha realização. Em especial aos meus pais, Luiz de Oliveira e Maria de Lourdes P. de Oliveira (In memoriam) e a minha irmã Virginia Mary Oliveira Souza (In memoriam) que muito incentivou a desenvolver os meus estudos.

Ao reitor da Universidade Federal de Pernambuco e a direção do Centro Acadêmico de Vitória, fica aqui meus agradecimentos por todo o apoio. Ao coordenador da Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Prof. Dr. Emerson Peter da Silva Falcão, meu muito obrigado. Não posso deixar de agradecer ao Governo Federal por proporcionar o incentivo financeiro através Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES. A todos meus queridos colegas do laboratório de Genética que contribuíram com seu conhecimento, trabalho, conselhos e risos.

Aos professores que fizeram parte desse mestrado transmitindo de forma brilhante seu conhecimento, sempre solícitos, interessados na qualidade do ensino e funcionamento do curso. Parabens-lhes pelo grau de compromisso e dedicação. Meus agradecimentos por tantas contribuições.

A todos da Secretaria de Pós-Graduação, obrigado pelas informações, dedicação e simpatia nestes dois anos. A todos os servidores da Agência Estadual do Meio Ambiente - CPRH que apoiaram este trabalho fornecendo dados das análises físico-químicas e proporcionando minha visita aos dez locais de coleta na bacia do Rio Capibaribe. Fico muito agradecido.

A minha orientadora, Dra. Claudia Rohde que acreditou em mim e ajudou-me profundamente na realização de meu sonho, quando mais eu precisava, de ingressar no mestrado, aceitando-me como seu orientando. Deu-me a liberdade necessária dividindo comigo as expectativas, trouxe para minha vida uma perspectiva diferente de olhar o mundo ao redor, passou muito mais que conhecimento, teve muita paciência comigo, se tornou amiga e enriqueceu minha vida. Dra Claudia Rohde, excelente profissional sabe o que fazer na hora

certa para resolver situações difíceis. Minha especial admiração e gratidão. Meus sinceros agradecimentos.

Felicidade é a certeza de que a nossa vida  
não está se passando inutilmente.

(Veríssimo, 2019)

## RESUMO

No Brasil há pouco controle sobre o lançamento de resíduos urbanos, industriais e agrícolas nos cursos d'água, representando fontes de substâncias contaminantes para às águas superficiais e para os sedimentos, além de um risco à saúde humana e ao meio ambiente. Diante disso, foi objetivo deste estudo analisar o potencial efeito genotóxico das águas da bacia do Rio Capibaribe (Pernambuco, Brasil) por meio do ensaio cometa em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Amostras de águas superficiais foram obtidas em 10 pontos da porção mais densamente povoada da bacia hidrográfica, denominada de baixo curso do Rio Capibaribe. Os locais foram pré-estabelecidos pela Agência Estadual do Meio Ambiente de Pernambuco (CPRH) que monitora a qualidade da água nos locais. Todos os experimentos foram realizados em triplicata, e repetidos em dois períodos do ano de 2017, um em maio, durante a estação chuvosa, e outro em novembro, na estiagem. Meios de cultivo hidratado com as amostras de água coletadas foram administrados a indivíduos *D. melanogaster* da linhagem Oregon-R com 72h de vida, para que se alimentassem por 24 horas até completarem o terceiro estágio larval. Dois grupos controle negativo foram estabelecidos (um submetido à água destilada e outro, à água de um açude preservado que desagua no rio Capibaribe), além de um grupo controle positivo (submetido à ciclofosfamida). Em cada réplica, 60 larvas foram abertas e a hemolinfa total coletada para que os hemócitos fossem submetidos aos diversos procedimentos do ensaio cometa. Estes foram classificados em quatro níveis, de 0 a 4, sendo zero a ausência de dano e 4, o dano máximo no DNA. A partir destas medidas foram calculados o Índice de Dano (ID) e Frequência de Dano (FD%). As mesmas amostras de água (pontos CB10, 30, 40, 55, 60, 62, 71, 72, 80 e 95) foram também investigadas pelo CPRH quanto aos parâmetros físico-químicos, que indicaram água poluída ou muito poluída, na maioria dos locais. Da mesma forma, o ensaio cometa evidenciou efeito genotóxico alto, muitas vezes acima do controle positivo, em grande parte das amostragens feitas na estação chuvosa, em comparações realizadas com o grupo controle negativo ambiental, exceto CB30. Houve grande discrepância de resultados entre a estação chuvosa e a estação de estiagem. Na estiagem foi evidente o pouco efeito genotóxico das amostras de água da bacia do Capibaribe, e apenas três pontos (CB40, 55 e 80) demonstraram efeito genotóxico. CB30 e CB72 foram, inclusive, estatisticamente semelhantes ao segundo grupo controle negativo, tratado apenas com água destilada. Fatores associados ao regime de chuvas na região Nordeste, com efeito no carreamento de produtos tóxicos de lavouras, indústrias, comunidades e cultivos podem justificar os resultados obtidos na estação chuvosa. Os resultados abrem perspectivas para a continuidade dos estudos, usando o organismo-modelo *D. melanogaster*, e para o melhor controle por parte dos órgãos governamentais para a reversão do quadro de risco apresentado.

Palavras-chave: Bioindicador. Ensaio de cometa. Hemócitos. Saúde Humana.

## ABSTRACT

In Brazil, there is little control over the release of urban, industrial and agricultural waste into watercourses, representing sources of contaminants for surface waters and sediments, as well a risk to human health and the environment. Therefore, it was the objective of this study to analyze the potential genotoxic effect of the waters of the Capibaribe River basin (Pernambuco, Brazil) by means of the comet assay in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Surface water samples were obtained in 10 points of the most densely populated portion of the catchment area, called the lower course of the Capibaribe River. The sites were pre-established by the State Agency of the Environment of Pernambuco (CPRH) that monitors the quality of the water in the places. All experiments were performed in triplicate, and repeated in two periods of 2017, one in May during the rainy season, and another in November, in the dry season. Hydrated culture media with the collected water samples were administered to *D. melanogaster* individuals of the Oregon-R line with 72h of life, to feed for 24 hours until completing the third larval stage. Two negative control groups were established (one submitted to distilled water and another to the water of a preserved reservoir that flows into the Capibaribe river), in addition to a positive control group (submitted to cyclophosphamide). In each replicate, 60 larvae were opened and the total hemolymph collected so that the hemocytes were submitted to the various procedures of the comet assay. These were classified into four levels, from 0 to 4, zero being no damage and 4, the maximum DNA damage. From these measurements the Damage Index (DI) and Damage Frequency (DF%) were calculated. The same water samples (CB10, 30, 40, 55, 60, 62, 71, 72, 80 and 95) were also investigated by the CPRH for the physicochemical parameters, which indicated polluted or heavily polluted water, of sites. Likewise, the comet assay evidenced a high genotoxic effect, often above the positive control, in most of the samplings made in the rainy season, in comparisons with the negative environmental control group, except CB30. There was a large discrepancy between the rainy season and the dry season. In the dry season, the low genotoxic effect of the water samples from the Capibaribe basin was evident, and only three points (CB40, 55 and 80) showed a genotoxic effect. CB30 and CB72 were also statistically similar to the second negative control group treated with distilled water alone. Factors associated with the rainfall regime in the Northeast region, with effect on the transport of toxic products from crops, industries, communities and crops can justify the results obtained in the rainy season. The results open perspectives for the continuity of the studies, using the model organisms *D. melanogaster*, and for the better control by the governmental organs for the reversion of the presented risk

**Key words:** Bioindicator. Comet assay. Hemocytes. Human health.

## LISTA DE TABELAS

### Artigo

**Tabela 1-** Descrição dos locais de amostragem das águas da bacia do Rio Capibaribe, coincidentes com os avaliados pelo CPRH para as condições físico-químicas. ....37

**Tabela 2-** Avaliação dos danos genéticos em hemócitos de *Drosophila melanogaster* Oregon-R expostos ao controle negativo (água destilada), controle negativo ambiental (Aldeia dos Camarás), controle positivo (ciclofosfamida) e às 10 amostras de águas superficiais da bacia do Capibaribe, coletadas em maio/2017, estação chuvosa. A cor vermelha indica valores estatisticamente diferentes do controle negativo ambiental, ao contrário da cor verde. ....37

**Tabela 3-** Avaliação dos danos genéticos em hemócitos de *Drosophila melanogaster* Oregon-R expostos ao controle negativo (água destilada), controle negativo ambiental (Aldeia dos Camarás), controle positivo (ciclofosfamida) e às 10 amostras de águas superficiais da bacia do Capibaribe, coletadas em novembro/2017, estação da estiagem. A cor vermelha indica valores estatisticamente diferentes do controle negativo ambiental, ao contrário da cor verde. ....38

**Tabela 4-** Resultados da análise estatística do pós-teste Bonferroni, para comparações par a par entre Índice de Dano (abaixo da diagonal, em cinza) e Frequência de Dano (acima da diagonal) em *Drosophila melanogaster* dos grupos controles negativos (CO-), controle positivo e dos diferentes tratamentos com a água do Rio Capibaribe, coletadas nos pontos CB10 a CB 95, em maio de 2017 (estação chuvosa). ....39

**Tabela 5-** Resultados da análise estatística do pós-teste Bonferroni, para comparações par a par entre Índice de Dano (abaixo da diagonal, em cinza) e Frequência de Dano (acima da diagonal) em *Drosophila melanogaster* dos grupos controles negativos (CO-), controle positivo e dos diferentes tratamentos com a água do Rio Capibaribe, coletadas nos pontos CB10 a CB 95, em novembro de 2017 (estação de estiagem). ....40

**Tabela 6-** Descrição dos 10 pontos das análises físico-química do CPRH no mês de maio/2017. .... 41

**Tabela 7-** Descrição dos 10 pontos das análises físico-química do CPRH no mês de novembro/2017. .... 42

### MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela S1.** Avaliação dos níveis de dano genético (0 a 4), Índice de Dano (D) e Frequência de Dano (DF%), Média e desvio padrão (SD) dos diferentes tratamentos com *Drosophila melanogaster* submetidas à duas condições de controle negativo, ao controle positivo (ciclofosfamida), e às 10 amostras de águas superficiais da bacia do rio Capibaribe (pontos CB 10 a CB 95), em três réplicas (a, b, c). As coletas de água foram realizadas em maio, 2017 (período chuvoso). .... 43

**Tabela S2.** Avaliação dos níveis de dano genético (0 a 4), Índice de Dano (D) e Frequência de Dano (DF%), Média e desvio padrão (SD) dos diferentes tratamentos com *Drosophila melanogaster* submetidas à duas condições de controle negativo, ao controle positivo (ciclofosfamida), e às 10 amostras de águas superficiais da bacia do rio Capibaribe (pontos CB 10 a CB 95), em três réplicas (a,

b, c). As coletas de água foram realizadas em novembro, 2017 (período de estiagem).  
..... 44

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1-** Situação atual do Rio Cheonggyecheon, na Coréia do Sul, após processo de despoluição que iniciou em 2003 (Fonte <http://www.superbac.com.br/>).  
.....18

**Figura 2-** Imagem ilustrativa de dois dos 10 locais do Rio Capibaribe em que foram realizadas amostras, em maio de 2017. O ponto CB71 é local de coleta pela rede de distribuição do Estado de Pernambuco, situada em Castelo, São Lourenço da Mata; o ponto CB72 situa-se em São Lourenço da Mata; e o ponto denominado controle negativo ambiental situa-se em Aldeia dos Camarás, Paudalho.  
.....20

**Figura 3-** Variação anual da precipitação em 10 diferentes locais do estado de Pernambuco, avaliados entre os anos de 1998 e 2015. São observados anos mais secos (como 1998 e 2012) e anos mais chuvosos (como 2004 e 2011). Fonte: Santos et al. (2018a).  
.....22

**Figura 4-** Variação mensal da precipitação em 10 locais do estado de Pernambuco avaliados entre os anos de 1998 e 2015. Fonte: Santos et al. (2018a).  
.....23

### Artigo

**Figura 1.** Mapa da bacia do rio Capibaribe e sua posição geográfica no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil, e posição dos 10 pontos amostrais de água (CB10, 30, 40, 55, 60, 62, 71, 72, 80, 95).....35

**Figura 2.** Imagem ilustrativa de dois dos 10 locais do Rio Capibaribe em que foram realizadas amostras, em maio de 2017. O ponto CB71 é local de coleta pela rede de distribuição do Estado de Pernambuco, situada em Castelo, São Lourenço da Mata; o ponto CB72 situa-se em São Lourenço da Mata; e o ponto denominado controle negativo ambiental situa-se em Aldeia dos Camarás, Paudalho.....35

**Figura 3.** Valores médios do Índice de Dano em hemócitos de larvas de *Drosophila melanogaster* (Oregon-R) tratados com amostras de água em 10 pontos da bacia do Rio Capibaribe, em duas épocas do ano, e valores médios obtidos nos grupos controles negativos e controle positivo. Asteriscos vermelhos indicam valores significativamente diferentes dos obtidos no grupo controle negativo ambiental.....36

**Figura 4.** Valores médios do Frequência de Dano em hemócitos de larvas de *Drosophila melanogaster* (Oregon-R) tratados com amostras de água em 10 pontos da bacia do Rio Capibaribe, em duas épocas do ano, e valores médios obtidos nos grupos controles negativos e controle positivo. Asteriscos vermelhos indicam valores significativamente diferentes dos obtidos no grupo controle negativo ambiental.....36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

EDTA-	Ácido etilenodiamino tetra-acético
SD	Desvio padrão
µL	Microlitro
CB	Rio Capibaribe
ANOVA	Análise de Variância
UTM	Universal Transversa de Mercator
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
FD	Frequência de Dano
ID	Índice de Dano
CPRH	Agência Estadual de Meio ambiente
OD	Oxigênio dissolvido
INSA	Instituto Nacional do Semiárido
ECVAM	Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Poluição dos rios.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 A bacia do rio Capibaribe.....</b>	<b>21</b>
<b>3.3 Biomarcadores.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4 Organismos bioindicadores.....</b>	<b>26</b>
<b>4 ARTIGO: Genotoxic study of the waters of the Capibaribe Basin (Pernambuco, Brazil) on somatic cells of <i>Drosophila melanogaster</i>.....</b>	<b>28</b>
<b>5 CONCLUSÕES FINAIS.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem passado por problemas de abastecimento de água em muitas de suas regiões geográficas. O volume de água nos reservatórios da região Nordeste, no semiárido, por exemplo, atingiu 22%, o que revela o agravamento da crise hídrica na região, conforme o Instituto Nacional do Semiárido-INSA (INSA, 2016). Dos 452 reservatórios analisados, 58% já entraram em colapso ou estavam em estado crítico. Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte são os Estados mais afetados e, por isso, o INSA alerta para a necessidade de priorizar o consumo humano e restringir os demais usos da água armazenada. Ainda segundo o INSA, apenas 14% dos reservatórios do semiárido em 2016 estavam com o volume acima de 50%, sendo que Pernambuco estava em uma situação mais preocupante, pois 24 dos 69 reservatórios do Estado se encontravam sem água (BRASIL, 2016). É importante salientar que a água, além de fundamental para consumo humano, propicia outros usos necessários e de interesse das comunidades, como industrial, agropecuário, turístico, paisagístico, recreacional, de irrigação e de navegabilidade (BRUNKOW *et al.*, 2004).

A intensa ação antrópica afeta a qualidade da água, seja com a constantemente geração de despejos domésticos ou industriais, ou com a dispersa aplicação de defensivos agrícolas no solo, que contribui para a introdução de compostos orgânicos e inorgânicos. Pode-se destacar que a disponibilidade de água doce na natureza é limitada e que há alto custo na sua obtenção nas formas menos convencionais, como é o caso do tratamento das águas marinhas ou perfuração das águas subterrâneas. Deve-se, portanto, dar prioridade à preservação, ao controle e à utilização racional das águas doces superficiais em todo o planeta (ALVES *et al.*, 2008).

No Brasil, a qualidade da água é regulamentada desde 17 de março de 2005, pela Resolução n. 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA (BRASIL, 2005). Esta regulamentação classifica os corpos de águas e determina os parâmetros físicos e químicos toleráveis, buscando o controle da disposição de poluentes no meio ambiente e em níveis que não ofereçam riscos aos organismos (BARBERIO *et al.*, 2009).

A da bacia do Rio Capibaribe é um importante recurso hídrico situado no Estado de Pernambuco, Brasil, e que passa por 42 municípios, dentre eles Santa Cruz do Capibaribe, São Lourenço da Mata, Limoeiro e Recife. Neste último, o Capibaribe é uma paisagem viva para os seus habitantes. O rio serviu, no passado, como via de penetração e limitador natural

para a ocupação do território, especialmente em seu baixo curso, desde os manguezais até as planícies fluviais bem desenvolvidas, onde se instalaram os primeiros engenhos de cana-de-açúcar, hoje ocupadas por uma densa rede urbana (PROJETEC, 2010). Sendo assim, no aspecto econômico, o Capibaribe viabilizou e viabiliza até hoje o plantio de cana de açúcar no solo em massapé das suas margens, contribuindo para o crescimento social do Estado de Pernambuco. Entretanto, como ocorre em muitos outros rios do Brasil, há pouco controle do lançamento de resíduos urbanos, industriais e agrícolas nos cursos d'água, o que é fonte de substâncias contaminantes à superfície e sedimentos (EGITO *et al.*, 2007). Esses resíduos são caracterizados como misturas complexas, podendo conter uma grande quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos com potencial efeito genotóxico que, muitas vezes, não são degradados durante o processo de tratamento da água devido a um alto grau de persistência (NIELSEN; RANK, 1994, 1998).

Sabe-se que substâncias químicas podem gerar danos genéticos em seres vivos. Em ambientes urbanos tanto a atividade industrial, quanto os esgotos domésticos não tratados, e as atividades agrícolas contribuem para a contaminação ambiental das águas (AMARAL *et al.*, 2006; ADEOGUN *et al.*, 2015; CAMPOS JÚNIOR *et al.*, 2016).

Um dano genético ocorre quando o organismo não é capaz reparar as alterações no material genético (DNA) o que proporciona novas combinações e consequente variabilidade genética. Se a mutação modificar a sequência de aminoácidos da proteína há possibilidade de um efeito negativo no fenótipo que poderá causar aparecimento de aberrações e tumores no indivíduo. Por outro lado, se o dano genético não alterar a sequência de aminoácidos da proteína, seu efeito é considerado neutro (SNUSTAD; SIMMONS, 2001). As mutações podem contribuir para melhoramento adaptativo das espécies gerando variabilidade genética e consequente vantagens às adaptações ambientais, sendo desta forma positivas. Porém, as mutações podem ser também danosas ao material genético e sistemas celulares.

Dano genéticos podem ser classificados como genotóxicos se alterarem a integridade do material genético de uma célula, podendo ou não ser passível de reparo. Por outro lado, entende-se por mutação qualquer alteração súbita no DNA e que seja transmitida à descendência celular. Embora a mutação no DNA seja um fenômeno importante como fonte primária para a variabilidade genética e para os processos adaptativos dos organismos ao meio, muitas vezes essas alterações podem acarretar um efeito negativo no fenótipo, desencadeando patologias, alterações ou bloqueios de vias metabólicas, interrupção do ciclo celular, surgimento de tumores e aberrações (SNUSTAD; SIMMONS, 2001).

As mudanças no DNA podem decorrer da adição, deleção, substituição das sequências dos nucleotídeos. Além disso, um dano genético pode ser natural ou induzido. Danos genéticos decorrentes de fontes naturais podem se originar, por exemplo, de rearranjo de elétrons e prótons nas moléculas, resultando em falhas das funções metabólicas (tautoméricas), decorrentes da própria instabilidade do DNA (LINDAHL, 1993). Podem também resultar da ativação ou inserção de elementos transponíveis, e provocadas ou induzidas pela exposição a diversos agentes mutagênicos presentes naturalmente no ambiente, tais como a radiação natural (SNUSTAD; SIMMONS, 2001; VERÇOSA *et al.*, 2017). Por outro lado, danos genéticos induzidos são aqueles atribuídos a fatores químicos, físicos ou biológicos. Estes agentes podem interferir na reprodução, fisiologia e morfologia dos organismos. Dentre os causadores de mutações podemos citar a luz ultravioleta (UV), a poluição, a radiação ionizante e metais pesados, que podem estar presentes na água de rios por influência antrópica (LINDAHL, 1993; SNUSTAD; SIMMONS, 2001). Quando a mutação não é letal para a própria célula, pode propagar-se pelo corpo em crescimento, chamada de mutação somática, ou transmitir-se às gerações seguintes quando afetar as células gaméticas (RABELLO *et al.*, 1991). Mutações podem ocorrer em qualquer célula e em qualquer estágio do ciclo celular (ZAHA *et al.*, 2003).

Segundo OHE *et al.* (2004) a poluição, quando em contato com os organismos, pode modificar o material genético ainda que em baixas concentrações e provocar perturbações na reprodução, inibição do crescimento, diminuição ou perda da função enzimática ou, até mesmo, surgimento de tumores. Estudos de genotoxicidade ambiental permitem a descrição dos impactos individuais da poluição sobre os organismos, podendo atentar para sinais precoces de alterações no DNA (BARSINIÉ *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2000).

Entre os organismo-modelos testados até o momento para o efeito da poluição podemos destacar *Drosophila melanogaster* (Insecta, Diptera), que se adequa muito bem à metodologia do Ensaio cometa, ou Eletroforese de Célula Única (*Single Cell Gel Electrophoresis*), descrito por Östling e Johanson (1984). O Ensaio cometa tem sido uma excelente ferramenta para a investigação de danos genéticos e para o biomonitoramento humano (URIOL *et al.*, 2013) e do ambiente (VERÇOSA *et al.*, 2017; SANTANA *et al.*, 2018). É um método sensível e de baixo custo, que permite a detecção de quebras simples ou duplas na molécula do DNA da célula, em um meio alcalino (AZQUETA; COLLINS, 2013). A visualização do dano genético é feita diretamente nas lâminas logo após coloração do DNA com compostos, como GelRed, que permitem sua visualização em microscopia de

fluorescência. Essa metodologia foi aprimorada por Verçosa *et al.* (2017) para a espécie *D. melanogaster* e é muito aplicada no Laboratório de Genética do CAV-UFPE. Esta espécie tem se destacado como um modelo biológico muito adequado (GAIVÃO; SIERRA, 2014). Devido ao seu rápido ciclo de vida, em cerca de nove dias, facilidade de manipulação e cultivo em laboratório, detecção de fenótipos (RAND, 2010) e conhecimento sobre seu genoma (ADAMS *et al.*, 2000), *D. melanogaster* é hoje um organismo-modelo alternativo, sendo inclusive recomendada pelo Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos – ECVAM (BENFORT *et al.*, 2000; FESTING *et al.*, 1998) em teste toxicológicos, em substituição a ratos e camundongos (SIDDIQUE *et al.*, 2005). Por realizar diversas reações de ativação metabólica semelhante às que acontecem com mamíferos, *Drosophila* é também um excelente modelo de estudos de doenças humanas (LENZ *et al.*, 2013).

Nosso grupo de pesquisa tem realizado diversas abordagens utilizando o Ensaio cometa em *D. melanogaster*. Resultados já publicados evidenciaram efeito genotóxico de diferentes linhagens a ambientes naturalmente radioativos do estado do Rio Grande do Norte (VERÇOSA *et al.*, 2017); efeito genotóxico da poluição atmosférica presente no centro urbano da cidade de Vitória de Santo Antão, Pernambuco (SANTANA *et al.* 2018), e efeito do uso de medicamentos (MORAES FILHO *et al.*, 2017). Estes e outros estudos em andamento têm confirmado a grande sensibilidade deste organismo a diferentes compostos, além da adequação da metodologia e amplitude das investigações possíveis. Seguindo nesta linha, este trabalho se propôs a analisar o potencial genotóxico das águas de rios que abastecem a população pernambucana, na busca pela melhoria da qualidade dos rios, meio ambiente e saúde humana.

## 2 OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Avaliar o efeito genotóxico das águas superficiais da bacia do Rio Capibaribe, no seu baixo curso e junto aos grandes centros urbanos da Região Metropolitana do Recife, utilizando o Ensaio cometa no organismo-modelo *Drosophila melanogaster*.

### Objetivos Específicos

- Realizar análise dos efeitos genotóxicos nas águas superficiais coletadas em 10 pontos da bacia do rio Capibaribe, amostrados no período chuvoso e de estiagem;
- Comparar os resultados de genotoxicidade observados em *D. melanogaster* com as avaliações físico-químicas realizadas pela Agência Estadual do Meio Ambiente de Pernambuco, com as mesmas amostras de água.

### 3 REVISAO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Poluição dos rios

Muitos países do continente Europeu desenvolveram planos eficientes de despoluição dos rios, tais como a Inglaterra com o Rio Tamisa, Portugal com o Rio Tejo, e a França com o Rio Sena. Mas um dos casos de maior sucesso ocorreu no Rio Cheonggyecheon, na Coreia do Sul (**Figura 1**) despoluído em um tempo recorde, de apenas quatro anos.

Figura 1. Situação atual do Rio Cheonggyecheon, na Coréia do Sul, após processo de despoluição que iniciou em 2003.



Fonte SUPERBAC, 2018.

Rios são sistemas complexos em que suas águas escoam naturalmente, formando as bacias hídricas, que sofrem grande influência do clima e a geologia locais. Os sistemas lóticos têm suas próprias características o que significa não existir apenas uma variável que seja indicadora de qualquer sistema hídrico (COUILLARD; LEFEBVRE, 1985). Em Pernambuco há duas grandes bacias hidrográficas: a bacia do Atlântico Nordeste Oriental e da bacia do rio São Francisco. Os rios que escoam para o rio São Francisco formam os chamados rios interiores, enquanto que os rios que escoam para o Oceano Atlântico, constituem os chamados rios litorâneos e fazem parte da bacia hidrográfica do Atlântico Nordeste Oriental (BRASIL, 2018).

Atualmente, os 500 maiores rios do planeta enfrentam problemas com a poluição, segundo dados do Conselho Mundial da Água. A poluição dos rios tem sido, há alguns anos, uma preocupação para entidades ambientais e para o governo. É sabido que a água é um dos grandes veículos de contaminação, capaz de expor a população humana e demais espécies a

grandes riscos. As águas das chuvas, mesmo não contaminadas em sua origem, se deslocam até os rios e, muito frequentemente, carregam consigo resíduos tóxicos produzidos pelos seres humanos, sejam aqueles provenientes da indústria, do agronegócio (como os pesticidas) e dos esgotos domésticos que estiverem próximos. A contaminação dos mananciais é uma das formas mais dramáticas de como os seres humanos estão inutilizando as reservas de água potável do planeta, que são muito escassas (VICTORINO, 2007).

O Brasil ainda apresenta uma grande quantidade de rios com diversos níveis de poluição, sendo um dos principais problemas ambientais da atualidade (VICTORINO, 2007). São vários os elementos que o homem despeja nos cursos de água e que prejudicam a fauna e flora. Em muitas cidades, o sistema sanitário é precário, há falta de planejamento urbano, e o esgoto doméstico é jogado diretamente nos rios sem receber o devido tratamento. Este esgoto é um dos principais causadores da poluição nos cursos de água. Além disso, este tipo de poluição também causa o mau cheiro e o desenvolvimento de microrganismos nos rios, facilitando a proliferação de doenças em casos de enchentes (VICTORINO, 2007).

Os esgotos domésticos têm, em maior quantidade, matéria orgânica biodegradável, além de bactérias, vírus e nutrientes como nitrogênio, fósforo, óleos, detergentes e metais (BENETTI; BIDONE, 1995). Outras fontes poluentes são aquelas definidas como térmicas, decorrentes do lançamento de água aquecida nos rios, que são utilizadas em processo de refrigeração em siderúrgicas, refinarias e de usinas termoelétricas. Por fim, os resíduos sólidos, tanto os suspensos quanto os coloidais dissolvidos, são fontes poluidoras, ao serem careados pelas chuvas ou pela erosão até as margens dos rios (BENETTI; BIDONE, 1995). O resultado da poluição dos cursos de água contribui para a morte de peixes e de outros tipos de vida que costumam habitar as águas correntes.

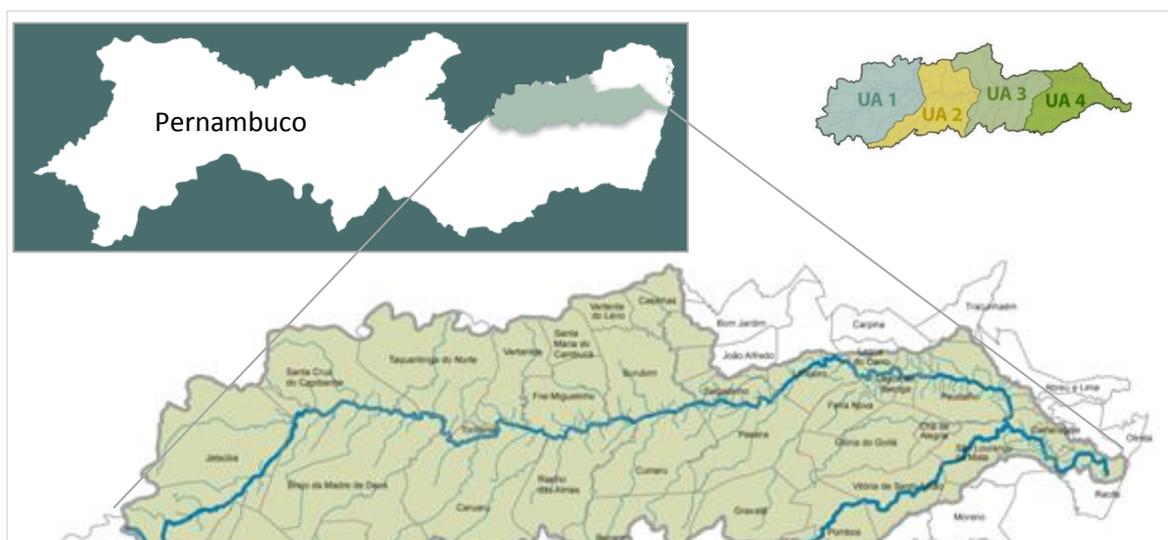
### **3.2. A bacia do rio Capibaribe**

A bacia hidrográfica do rio Capibaribe está localizada na porção norte-oriental do Estado de Pernambuco, entre as latitudes 07°41'20"S e 08°19'30"S e longitudes 34°51'00"O e 36°41'58"O (**Figura 2**). A bacia ocupa aproximadamente 7.500 km<sup>2</sup>, equivalendo a 8 % da área total de Pernambuco (ANA, 2017). Limita-se ao norte com o Estado da Paraíba, com a bacia do rio Goiana e grupo de bacias de pequenos rios litorâneos 1; limita-se ao sul com a bacia do rio Ipojuca e o grupo de bacias de pequenos rios litorâneos 2; a leste com o Oceano Atlântico; e a oeste com o Estado da Paraíba e a bacia do rio Ipojuca.

O mais importante rio desta bacia é sem dúvida o rio Capibaribe (**Figura 2**) que nasce na Serra de Jacarará, no município de Poçoão. O rio apresenta direção inicial sudeste-nordeste, até as proximidades de Santa Cruz do Capibaribe, quando seu curso toma a direção oeste-leste, percorrendo uma extensão total de cerca de 280 km até sua foz, na cidade do Recife. De acordo com o Plano Diretor da bacia hidrográfica do rio Capibaribe, elaborado em 2002, a divisão da bacia se dá em quatro unidades de análise (UA) (**Figura 2**). A UA1 ou Unidade de Toritama abrange aproximadamente o terço superior da bacia; a UA2 ou Unidade de Jucazinho envolve parte da bacia que vai desde Toritama até o reservatório Jucazinho; a UA3 ou Unidade de Limoeiro, compreende as áreas de drenagem do Capibaribe desde o reservatório Jucazinho até o reservatório Carpina; e a UA4 ou unidade de São Lourenço da Mata, abrange as áreas de drenagem do terço inferior da bacia, mais próximo do Oceano Atlântico (PROJETEC, 2010).

Como evidenciado na **Figura 2**, o rio Capibaribe é o principal rio da bacia, e conta com outros 74 rios afluentes. Juntos, esses rios abastecem 42 municípios pernambucanos, entre eles Caruaru, Toritama, Santa Cruz, Salgadinho, Limoeiro, Carpina, Paudalho, São Lourenço da Mata e Recife, a capital de Pernambuco. Próximo à foz no Oceano Atlântico, o rio divide a área central da cidade do Recife e atravessa diversos bairros como Várzea, Caxangá, Apipucos, Monteiro, Poço da Panela, Santana, Casa Forte, Torre, Capunga, Derby e Madalena. Por fim, faz confluência com o rio Beberibe atrás do Palácio do Campo das Princesas, antes de desaguar no mar. Na sua porção final, percorre um ambiente dinâmico, com efeito das marés, e dos contínuos lançamentos de afluentes industriais e domésticos (TRAVASSOS *et al.*, 1991). Cabe destacar que o rio atravessa a Região Metropolitana do Recife, considerada uma das mais populosas do Brasil. São 15 municípios e mais de 4 milhões de habitantes em uma área de 3216 km<sup>2</sup>.

Figura 2. Bacia do Rio Capibaribe, em Pernambuco, Brasil, e Unidades de Análise (UA1 a UA4).



Fonte: Disponível em: [http://www.sirh.srh.pe.gov.br/hidroambiental/bacia\\_capibaribe/index.php/abertura](http://www.sirh.srh.pe.gov.br/hidroambiental/bacia_capibaribe/index.php/abertura) Acesso em: 12 dez. 2018.

De acordo com o Plano Hidroambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Capibaribe (PROJETEC, 2010) este recurso hídrico encontra-se poluído por resíduos sólidos e líquidos, orgânicos e inorgânicos, industriais e agrícolas. Apresenta altas taxas de assoreamento e tem uma população estimada em 430 mil habitantes em seu entorno, embora ainda apresente potencial para usos diversos, como agricultura, pesca, abastecimento de água, entre outras atividades industriais e de serviços.

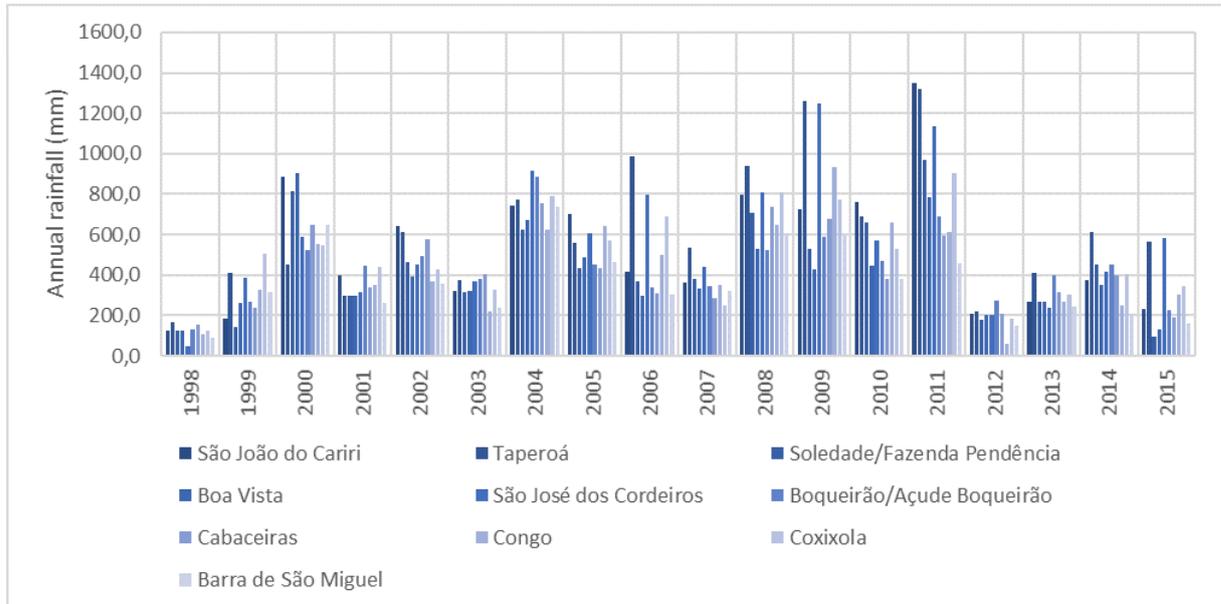
A Agência Estadual de Meio Ambiente (2018) estima que a área de drenagem da bacia do rio Capibaribe é bastante significativa, com exatos 7.557,41 km<sup>2</sup>. A região, entretanto, sofre com a ocupação urbana e industrial; com as áreas cultivadas com cana-de-açúcar; e com a policultura. Uma parcela, entretanto, ainda é ocupada por áreas de Mata Atlântica e de Manguezal, junto à foz. Sendo assim, há que se considerar como fator negativo e que interfere na qualidade das águas da bacia do rio Capibaribe o contínuo desmatamento da região do entorno dos rios da bacia. Em conjunto com as chuvas na região, são carreados aos rios grandes quantidades de matéria orgânica e todo tipo de poluentes, tais como herbicidas e nematicidas, largamente utilizados no cultivo de cana-de-açúcar e outros cultivos na região (BARELA, CHRISTOFFOLETI, 2006).

Quanto ao regime de águas, a bacia do rio Capibaribe é dividida em cursos, sendo seu *alto* e *médio* cursos (situados mais a oeste) influenciados pelo regime fluvial intermitente, com períodos de ausência de águas em vários meses do ano. O *baixo* curso do rio é perene a partir do município de Limoeiro até sua foz no mar. Resultados apresentados pelo PROJETEC (2010) indicam que a região da bacia do rio Capibaribe apresenta variados totais anuais de precipitação, tendo uma média de 1133,59 mm. Os índices de precipitação aumentam à medida que o rio Capibaribe avança em direção ao litoral (sentido oeste-leste) e também à medida que diminuem as altitudes dos postos estudados. Assim, nas áreas UA1 e UA2 a precipitação anual média é de 702,95 mm; na UA3 é de 861,40 mm e na UA4 é de 2267,05 mm.

De acordo com Santos et al. (2018a) (**Figura 3**) no período entre 1998 e 2015 a região passou por anos de seca (como 1998, 2012 e 2015), que contrastaram com anos de chuvas (2004, 2008, 2009 e 2011), de forma que a precipitação anual variou de 200 mm, em 1998, a 1400 mm em 2011. Na Figura 3 são apresentadas as medidas de precipitação mensal, em

imagem que ilustra bem os padrões e as variações da precipitação em diferentes municípios do estado de Pernambuco, tendo como padrão os locais estudados pelos autores.

Figura 3. Variação anual da precipitação em 10 diferentes locais do estado de Pernambuco, avaliados entre os anos de 1998 e 2015. São observados anos mais secos (como 1998 e 2012) e anos mais chuvosos (como 2004 e 2011). Fonte: Santos et al. (2018a).



Fonte: SANTOS *et al.* (2018a).

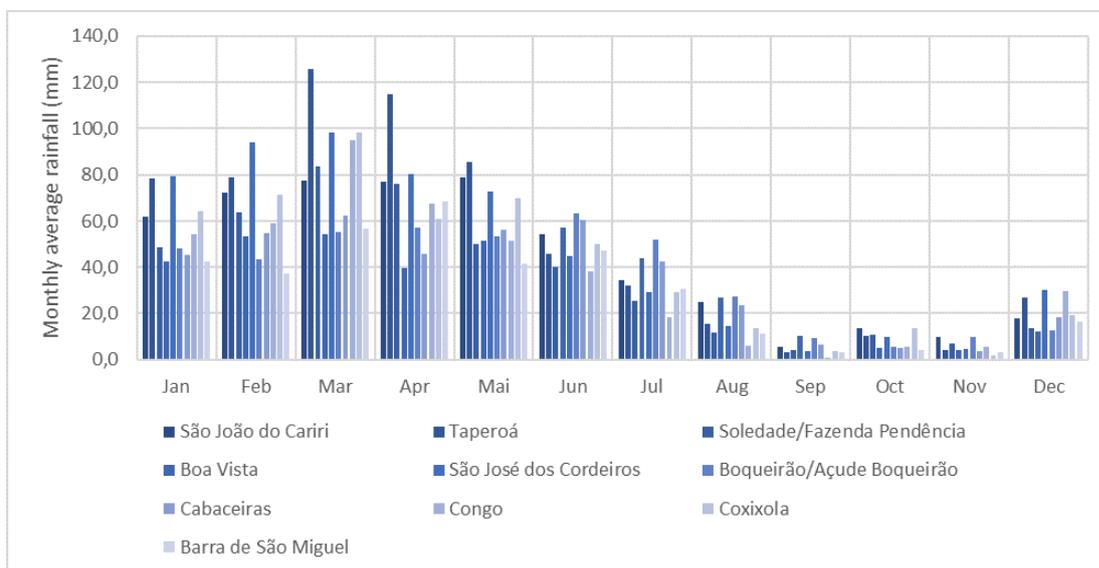
É sabido que bacia hidrográfica do rio Capibaribe apresenta apenas 0,05% de sua extensão legalmente protegido como unidade de conservação de proteção integral e 0,03% sob regime de uso sustentável (RPPN). Diante deste quadro preocupante, e da crescente ocupação humana na região, é importante estudar padrões de qualidade de suas águas, tais como os riscos genotóxicos, que poderão servir de ferramenta para a tomada de decisões, tanto pela sociedade quanto pelo Poder Público, para a reversão da poluição e de suas consequências para a saúde humana e o meio ambiente.

Cabe destacar que, conforme mostrado na **Figura 4**, coletas de água realizadas no mês de maio, como a que foi feita em nosso estudo, se caracterizam muito bem como amostras da estação chuvosa, visto que as chuvas dão os primeiros sinais no mês de janeiro e se estendem até julho. Por outro lado, o mês de novembro, escolhido neste estudo como representativo da estação de estiagem, é um bom período para amostragem de águas. A estiagem dá os primeiros sinais no mês de agosto e se estende até dezembro.

A respeito da bacia do Rio Capibaribe é importante também destacar que no seu terço médio, ao sul da bacia, existe um setor industrial bastante diversificado, com um importante

polo de confecções. Esse polo de vestuário não só tem a necessidade de fornecimento adequado de água, como também gera fortes impactos ambientais devidos aos efluentes dos processos de lavagem e destonagem de tecidos. Somado a isso está o resultado da cadeia produtiva sucroalcooleira - que gera elevados volumes de efluentes que contaminam os solos e mananciais hídricos - e a agropecuária, que gera desmatamento, manejo inadequado do solo (erosão, assoreamento, salinização) e contaminação por agrotóxicos (PROJETEC, 2010).

Figura 4. Variação mensal da precipitação em 10 locais do estado de Pernambuco avaliados entre os anos de 1998 e 2015. Fonte: Santos et al. (2018a).



Fonte: SANTOS *et al.* (2018).

Outras atividades industriais desenvolvidas na bacia hidrográfica do rio Capibaribe são as associadas a produtos alimentares, minerais não-metálicos, metalúrgicas, produtos químicos, farmacêuticos e veterinários, matéria plástica, perfumes, sabões, velas, bebidas, mecânica, material elétrico e de comunicação, material de transporte e madeira. Diante disso, diversas regiões da bacia do rio Capibaribe merecem grande atenção e cuidados para a melhor preservação e manutenção da boa qualidade dos recursos hídricos. Existe, infelizmente, uma carência de trabalhos científicos com esse objetivo. A CPRH analisa padrões físico-químicos das águas do Capibaribe e, nesse sentido, este trabalho procurou dar subsídios científicos para o alcance dessa meta.

### 3.3 Biomarcadores

Diversos os parâmetros biológicos podem estar alterados como consequência da interação entre o agente químico e o organismo. Entretanto, a determinação quantitativa destes parâmetros, usados como biomarcadores, somente é possível se existir correlação com a intensidade da exposição e/ou o efeito biológico da substância. Desta forma, um biomarcador compreende toda substância ou seu produto de biotransformação, assim como qualquer alteração bioquímica precoce, cuja determinação nos fluidos biológicos, tecidos ou ar exalado, avalie a intensidade da exposição e o risco à saúde (AMORIM, 2003). Para biomonitorar os poluentes ambientais, tem-se usado diversas metodologias em organismos modelos, utilizados como biomarcadores de efeitos genotóxicos, mutagênicos e/ou recombinogênicos. A utilização de bioindicadores e testes citogenéticos contribuem para avaliar o dano causado não apenas à integridade físico-química do ambiente, mas sim a resposta dos organismos a variações ambientais decorrentes da poluição ambiental (MORAES, 2000).

### **3.4 Organismos bioindicadores**

São denominados de bioindicadores aqueles organismos que respondem a contaminante ambiental ao nível individual. Estes efeitos podem ser medidos no organismo ou numa matriz biológica, indicando um desvio da condição normal, que não poderá ser detectado no organismo intacto (ARIAS et al., 2007) e que foi um grupo denominado *controle negativo*. A simples mensuração dos níveis de substâncias químicas presentes no ambiente não é suficiente para revelar os reais efeitos adversos da contaminação. É necessária também a avaliação dos efeitos biológicos da contaminação em diversos níveis hierárquicos. Na revisão de Arias et al. (2007) sobre o tema dos bioindicadores para a contaminação de recursos hídricos, os autores destacam que a presença de substâncias contaminantes ou a investigação da magnitude da resposta no organismo completo, podem ser obtidas em estudos com os fluidos corporais, células, tecidos até mesmo sobre o organismo completo. Organismos adequados para estes estudos permitem identificar as interações biológicas com os contaminantes, além de mensuração de seus efeitos, a fim viabilizar respostas para prática das ações remediadoras ou, melhor ainda, ações preventivas. Por esse motivo, a importância e o interesse atual para a incorporação da análise com bioindicadores são grandes em programas de avaliação da contaminação ambiental (ARIAS et al., 2007).

*Drosophila melanogaster* tem se mostrado de grande importância em vários experimentos tornando-se um importante modelo para investigar mecanismos fisiológicos e

genéticos fundamentais, sendo, portanto, adaptada para pesquisas com substâncias de efeito acumulador, em estudos de genotoxicidade e seus mecanismos moleculares (GAIVÃO; SIERRA, 2014). A espécie pertence à família Drosophilidae (Insecta, Diptera), que é composta por mais de 4.200 espécies, distribuídas em diversos gêneros (BÄCHLI, 2017). Entre eles, o mais estudado é sem dúvidas o gênero *Drosophila*, para o qual são conhecidas mais de 1.180 espécies. Neste gênero, *D. melanogaster* é um dos organismos mais estudados pela ciência, em todo o mundo, com incontáveis publicações científicas nas áreas da genética, ecologia, taxonomia, evolução, fisiologia, comportamento, desenvolvimento, biologia molecular e, como mencionado anteriormente, também na área da mutagênese (DROSOPHILA 12 GENOMES CONSORTIUM, 2007; FERVEUR, 2003; GAIVÃO; SIERRA, 2014; GRIMALDI, 1990; RAND, 2010; REMSEN; O'GRADY, 2002; RUBIN; LEWIS, 2000; SCHAEFFER *et al.*, 2008; SHARMA *et al.*, 2011)

Neste sentido, nosso grupo de trabalho tem incluído *D. melanogaster* em testes para detectar efeitos mutagênicos e/ou genotóxicos de larvicidas (ACIOLE *et al.*, 2014), medicamentos (MORAES FILHO *et al.*, 2017), radiação atmosférica natural (VERÇOSA *et al.*, 2017), poluição atmosférica (SANTANA *et al.*, 2018) e outros. No presente estudo, ampliamos as análises com a investigação do possível efeito genotóxico associado ao consumo das águas superficiais de três rios que compõem da bacia do Capibaribe (Goitá, Tapacurá e Capibaribe), juntamente com a análise das propriedades físico-química (feitas pelo CPRH), investigando 20 amostras de águas de um total de 10 pontos junto aos maiores centros urbanos do estado de Pernambuco.

**4 ARTIGO: Estudo genotóxico das águas da bacia do Capibaribe (Pernambuco, Brasil) em células somáticas de *Drosophila melanogaster***

A ser submetido para

***Environmental Science and Pollution Research***

B1 (Biodiversidade), Fator de Impacto: 2,800



**Estudo genotóxico das águas da Bacia do Capibaribe (Pernambuco, Brasil) em células somáticas de *Drosophila melanogaster***

**Genotoxic study of the waters of the Capibaribe Basin (Pernambuco, Brazil) on somatic cells of *Drosophila melanogaster***

Raimundo Márcio Pereira de Oliveira<sup>1,2</sup>, Ícaro Fillipe de Araújo Castro<sup>2</sup>, André Severino da Silva<sup>2</sup>, Érika Maria de Amorim<sup>2</sup>, Samuel Lima de Santana<sup>2</sup>, Edson Francisco do Carmo Neto<sup>2</sup>, Cícero Jorge Verçosa<sup>2</sup>, Claudia Rohde<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente,

<sup>2</sup>Laboratório de Genética, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco. Brasil.

## Resumo

Na região Nordeste do Brasil a bacia do Rio Capibaribe é um grande fornecedor de águas para a população e os seres vivos em uma área de 7.500 km<sup>2</sup>, incluindo a Região Metropolitana do Recife, que abriga a capital do Estado de Pernambuco. Neste estudo, a qualidade das águas foi investigada em 10 pontos da bacia (rios Capibaribe, Glória de Goitá e Tapacurá), em locais também avaliados pela Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH). Com o objetivo de verificar possíveis efeitos genotóxicos das águas superficiais do rio, foi utilizada a metodologia do Ensaio cometa em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Amostras de água foram coletadas em dois períodos do ano, um na estação chuvosa (maio/2017) e outro na estação de estiagem (novembro/2017). Larvas cultivadas até o terceiro estágio de *D. melanogaster* foram alimentadas por 24 horas em meio de cultivo hidratado com as diferentes amostras de água. Os resultados foram comparados aos obtidos nos dois grupos controle negativos: um grupo alimentado com meio hidratado com água destilada e outro, com meio hidratado com água de um açude preservado (Aldeia dos Camarás, Paudalho, Pernambuco). A metodologia também estabeleceu um grupo controle positivo, em que os organismos foram alimentados com ciclofosfamida (1mg/mL, diluída em água destilada). Os resultados das amostras da estação chuvosa revelaram efeito genotóxico significativo em oito dos dez pontos estudados. Dois locais, portanto, não apresentaram risco genotóxico, sendo eles o ponto CB10 (próximo a cidade de Limoeiro) e o ponto CB60 (em São Lourenço da Mata). O efeito genotóxico foi muito menor na estação de estiagem, pois apenas três dos 10 pontos investigados se mostraram genotóxicos. Parte dos resultados foi corroborado pelas análises físico-químicas (temperatura, pH, oxigênio, turbidez, coliformes fecais, e qualidade da água) realizadas pela CPRH, que caracterizaram a maior parte das amostras, nos dois períodos do ano, como poluídas ou muito poluídas. Conclui-se que no período chuvoso o nível de genotoxicidade foi maior, o que pode ter sido resultante do uso de produtos químicos como pesticidas e outras substâncias poluidoras, muitas vezes utilizadas no entorno da bacia do rio Capibaribe, e careadas pelas chuvas até os recursos hídricos.

**Palavras-chave:** Bioindicador, ensaio de cometa, hemócitos, saúde humana.

## **Introdução**

A bacia do Rio Capibaribe é formada principalmente pelo flúmen de mesmo nome, considerado um corpo d'água de extrema relevância para boa parte da população do Estado de Pernambuco, na região Nordeste do Brasil. O Capibaribe é o principal rio da bacia, e conta com 74 afluentes, que juntos abastecem 42 municípios pernambucanos. Esse rio atravessa a Área Metropolitana do Recife (TRAVASSOS *et al.*, 1991), um dos maiores centros populacionais do Brasil, que acrescenta às suas águas uma grande carga de despejos domésticos e industriais, juntamente com compostos orgânicos e inorgânicos nas águas. Além dessa intensa ação antrópica no flúmen, a região Nordeste tem passado por problemas de abastecimento de água. Segundo dados do Instituto Nacional do Semiárido, o desabastecimento hídrico tem sido mais intenso nas regiões semiáridas (SANTOS *et al.*, 2018), onde se localiza parte da bacia do Rio Capibaribe. Diante deste quadro, são necessárias pesquisas para que se possa atestar a qualidade da água já que seu uso é fundamental à população nordestina e para todas as espécies vivas.

Cabe destacar que em seus primeiros 60 km de curso o rio Capibaribe é um flúmen temporário, que apresenta águas superficiais em apenas três meses do ano, no período das chuvas (PROJETEC, 2010). Embora pareça um leito de areia e pedras, o rio não está completamente seco, e um rio subterrâneo corre por baixo de uma não muito espessa camada de areia. A agricultura na região se faz por meio da perfuração de poços e a água é captada durante o ano inteiro. Em contrapartida, os cultivos produzem resíduos de pesticidas e fertilizantes, que infiltram no solo, podendo contaminar as águas do lençol subterrâneo. Outro problema característico deste trecho é a retirada de areia para uso na construção civil. A partir da cidade de Limoeiro, distante cerca de 80 km da cidade do Recife, o rio Capibaribe entra numa região de transição entre o Agreste e a Zona da Mata, recebendo grandes contribuições de afluentes mais volumosos e iniciando a travessia de áreas cobertas por extensas plantações de cana-de-açúcar (PROJETEC, 2010). Até o início da colonização brasileira, no século XVI, essa região era coberta pela densa Mata Atlântica, floresta que garantia qualidade da água do

rio, pois protegia as suas margens. Aos poucos, a floresta foi substituída pelo cultivo da cana-de-açúcar, gerando uma série de problemas para o rio Capibaribe. Os níveis de deterioração ambiental aumentaram durante as últimas décadas em resposta ao crescimento populacional e desenvolvimento industrial local (PARANAGUÁ *et al.*, 2005), que comprometeram a qualidade da água no estuário.

Ottmann e Ottmann (1959) apresentaram a primeira avaliação da qualidade da água no estuário, seguido muitos anos depois por Koenig *et al.* (1995) e, mais recentemente, por Anjos *et al.* (2012) e Noriega *et al.* (2013). Esses autores notaram a ocorrência, nos últimos anos, de um estado eutrófico com alta biomassa fitoplanctônica, baixa transparência e baixas concentrações de oxigênio. Além da eutrofização, a contaminação industrial também parece ter desempenhado um papel importante (Brayner *et al.* 2001, 2003; Macedo *et al.* 2007).

O presente trabalho se propôs a analisar os possíveis efeitos genotóxicos de dez amostras de água da bacia do rio Capibaribe, utilizando a *Drosophila melanogaster* (Insecta, Diptera) como organismo-modelo, buscando identificar fontes de risco à saúde humana e demais organismos. Para tanto foi utilizado o Ensaio cometa, seguindo a descrição de Verçosa *et al.* (2017). Este Ensaio é considerado uma excelente ferramenta para a investigação de danos genéticos e para o biomonitoramento humano (URIOL *et al.*, 2013), e têm sido bem aplicado ao estudo dos ambientes da região Nordeste do Brasil, para regiões sob efeito da radiação (VERÇOSA *et al.*, 2017) e da poluição (SANTANA *et al.*, 2018). Para este ensaio, *D. melanogaster* tem se destacado como um modelo biológico muito adequado (GAIVÃO E SIERRA, 2014). Por ter um rápido ciclo de vida, facilidade de manipulação em laboratório, detecção de fenótipos (RAND, 2010) e grande conhecimento sobre seu genoma (ADAMS *et al.*, 2000), esta espécie tem se tornado um organismo-modelo alternativo, com recomendação do Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos – ECVAM ( BENFORT *et al.*, 2000; FESTING *et al.*, 1998) para uso em teste toxicológicos, em substituição a ratos e camundongos (SIDDIQUE *et al.*, 2005). Por realizar diversas reações de ativação metabólica semelhante às que acontecem com mamíferos, *Drosophila* é, também, um excelente modelo de estudos de doenças humanas (Lenz *et al.*, 2013).

## Material e Métodos

### **Cultivo dos insetos**

O cultivo e manutenção dos insetos dípteros *D. melanogaster* linhagem Oregon-R foram realizados no Laboratório de Genética do CAV-UFPE. O meio de cultivo (elaborado com a mistura de 25 mg de farinha de milho, 25 mg de fermento em pasta diluído em água, 10g de farinha de centeio, 5g de ágar, 1g de Nigapin e 50 mL de água) foi cozido por cerca de 20 min e colocado em vidros tapados com rolhas de espuma, para permitir a entrada do ar. Após o resfriamento, os meios receberam os repiques dos drosofilídeos adultos, para que as fêmeas ovopositassem e iniciassem uma nova geração de descendentes. Para a coleta das larvas em terceiro estágio, foi preparado meio de ovoposição, composto por fermento com açúcar, aplicado sobre uma base de ágar. Neste meio, fêmeas adultas fecundadas permaneceram por 8h para ovopositar. A coleta e contagem das larvas descendentes em terceiro estágio (70 larvas por cada tubo/réplica) ocorreu 72h após o início desse período de ovoposição.

### **Coleta das amostras de água da bacia do Rio Capibaribe**

Coletas de água na bacia do Rio Capibaribe foram realizadas em 10 locais pré-estabelecidos pela Agência Estadual do Meio Ambiente (CPRH), que monitora os locais quatro vezes ao ano, e que realizou análises físico-químicas paralelas das mesmas amostras de água. As informações são de domínio público, como parte das atividades do CPRH. As coletas de água foram realizadas em maio de 2017 (período chuvoso), e em novembro de 2017 (período de estiagem). Um mapa detalhado dos locais amostrados encontra-se na **Figura 1** e a descrição dos pontos, na **Tabela 1**.

A **Figura 2** ilustra dois dos pontos do rio Capibaribe, nomeados pelos códigos CB71 e CB72, seguindo a direção Leste-Oeste, iniciando no município de Limoeiro (CB10) e terminando Recife (CB95). Como local controle ambiental bem preservado foi escolhido um açude que desagua no rio Capibaribe (**Figura 1**) situado em um condomínio residencial no distrito de Aldeia dos Camarás (coordenadas -7.914686 -35.079819), município de Paudalho, Pernambuco, Brasil. Além do controle negativo ambiental, um segundo grupo foi estabelecido em laboratório, submetido apenas à água destilada. Para fins de controle da geração de danos genotóxicos esperados, foi também estabelecido um grupo controle positivo. Para este caso, foi administrado o composto mutagênico ciclofosfamida, a 1mg/mL, diluído em água destilada.

Todas as amostras de água (e suas respectivas três réplicas) hidrataram o meio de tratamento, composto por purê de batata desidratado (Yoki SA), onde 70 larvas de *D. melanogaster* permaneceram por 24 h se alimentando. Em cada amostragem feita nos rios, um litro de água foi obtido com ajuda de um balde em aço inox, sendo transportado em vidros dentro de caixas térmicas com gelo até o Laboratório de Genética, onde foram armazenadas a -20°C (freezer) até o início dos experimentos do Ensaio cometa, feitos em dezembro de 2017.

### **Procedimentos do Ensaio cometa**

Para realização do Ensaio cometa foram preparadas previamente algumas soluções de uso e estoque, como gel de agarose de baixo ponto de fusão (LM); gel de agarose padrão; solução de EDTA; solução de hidróxido de sódio (NaOH); tampão fosfato alcalino (PBS). Outras soluções foram preparadas exclusivamente no momento do teste, como a Solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 1 M NaOH, 10 mM Tris, 1% Triton X-100, e 10% DMSO) ajustada para pH 10, e o Tampão de eletroforese (1M NaOH, 200 mM EDTA) ajustado para pH>13. Para a montagem das lâminas contendo o material biológico (hemócitos), lâminas de vidro foram previamente lixadas na face superior para facilitar a adesão da agarose à lâmina. Em seguida foram lavadas com água e detergente e secas em álcool. Para cada réplica deste estudo, 60 larvas foram retiradas dos tubos com meio de tratamento e colocadas em uma placa de Petri e em seguida resfriadas a 4°C por um minuto, para diminuir a taxa metabólica e facilitar sua manipulação. Passado um minuto, cada larva foi, individualmente, transferida para um poço de uma placa escavada Kline, contendo solução de EDTA para evitar a coagulação da hemolinfa. Para retirada da hemolinfa, as larvas foram cortadas lateralmente e a hemolinfa foi colhida e transferida para um microtubo de 1,5 mL. O tubo contendo a solução de EDTA e a hemolinfa foi centrifugado 2x a 3000 rpm por 3 min, e descartado 100 µL do sobrenadante. Para completar o volume do tubo foram acrescentados mais 100 µL de EDTA, e submetida a mais uma centrifugação. Esta etapa e as demais descritas a seguir seguiram o protocolo padrão de Verçosa *et al.* (2017).

Após a coleta de 60 µL da hemolinfa de *D. melanogaster* o material foi homogeneizado em 100 µL de solução de 0,5% de agarose de baixo ponto de fusão (agarose LM) a 37°C. Por se tratar de uma etapa fotossensível, esse procedimento foi realizado na ausência de luz. O homogeneizado foi aplicado em lâminas previamente banhadas em agarose padrão. Uma lamínula (24 mm x 60 mm) foi colocada sobre o material e resfriada a 4°C por 10 min. Passado esse tempo as lamínulas foram retiradas e as lâminas com o material

biológico foram imersas em solução de lise e mantidas a 4°C por 72 h. Ao término a lise, as lâminas permaneceram por 20 min em uma solução tampão a 4°C e em seguida foi realizada a corrida de eletroforese em uma cuba de 40 cm, por 20 min a 40 v e 300 mA. Em seguida, as lâminas foram neutralizadas (0,4 M Tris-HCl, pH 7,5) por 15 min e fixadas por imersão em etanol absoluto por 5 min, sendo armazenadas a 4°C até a análise microscópica.

### **Análise microscópica e contagem dos danos genéticos**

As lâminas foram coradas com 50 µL de GelRed diluído em água destilada na proporção de 1:500 e observadas em microscópio de fluorescência (Zeiss Imager, M2) com filtro AlexaFluor 546, no aumento de 40x. Foi observado um total de 100 nucleóides por cada réplica, sendo 50 em cada uma das duas lâminas analisadas. Os cometas contabilizados foram classificados em cinco classes, da 0 a classe 4, de acordo com o comprimento da cauda e a intensidade descritos em Verçosa et al. (2017). Na classe 0 estão as células consideradas intactos, ou seja, sem danos causados pela exposição; a classe 1 corresponde a cometas com danos mínimos; classe 2 a cometas com danos médios; classe 3 a cometas com danos intensos; e a classe 4 corresponde aos cometas com danos máximos. Após esta classificação, foram calculados dois parâmetros: o Índice de Dano (ID) e a Frequência de Dano (FD%). Os valores obtidos através do ID para cada indivíduo podem variar de 0 (totalmente intacta: 100 células x 0) a 400 (com dano máximo: 100 células x 4). ID foi calculado através da seguinte fórmula (N=Número) da Equação I:

$$\text{ID Total} = 0 (\text{N de cometas da classe 0}) + 1 (\text{N de cometas da classe 1}) + 2 (\text{N de cometas da classe 2}) + 3 (\text{N de cometas da classe 3}) + 4 (\text{N de cometas da classe 4})$$

O segundo parâmetro, FD%, foi calculado como a porcentagem de todos os cometas danificados (classe 1 a classe 4) em relação ao total de cometas contados, que vai da classe 0 a classe 4 (nº total). Neste caso, foi aplicado o seguinte cálculo, da Equação II:

$$\text{FD\%} = [(\text{N total de cometas} - \text{N de cometas da classe 0}) \cdot 100] / \text{N total de cometas}$$

Para as comparações das diferenças de ID e FD% entre as amostras foi aplicado o teste paramétrico da Análise de Variância (ANOVA), e o pós-teste de Bonferroni no *software* STATA versão 12. O nível de significância em todos os testes estabelecidos foi  $P \leq 0,05$ .

## **Resultados**

As **Tabelas 2 e 3** apresentam os resultados de análise dos danos genéticos médios, obtidos nos três grupos controle e nas 10 amostras de água da bacia do Rio Capibaribe, nas duas estações do ano investigadas. Os dados completos, incluindo cada uma das 3 réplicas analisadas por experimento, encontram-se no **Material Suplementar S1 e S2**, para cada uma das estações.

Na estação chuvosa, os resultados analisados por meio do teste estatístico ANOVA e pós-teste Bonferroni (**Tabela 4**) demonstraram que dois pontos amostrados (CB10 e CB60) do rio Capibaribe não apresentaram efeito genotóxico. Os demais pontos (CB30, 40, 55, 62, 71, 72, 80 e 95), apresentaram níveis relativamente altos de genotoxicidade, quando comparados aos controles negativos, sendo alguns até superiores aos valores observados no grupo controle positivo. Na estação de estiagem (**Tabela 5**), as análises estatísticas demonstraram menor risco genotóxico, pois apenas três (CB40, 55 e 80) dos 10 pontos investigados se mostraram estatisticamente diferentes do grupo controle negativo ambiental. Novamente, o ponto CB10 não foi genotóxico, como ocorreu na estação chuvosa. A este resultado se somaram também os pontos CB30, 60, 62, 71, 72 e 95. Pelas análises físico-químicas da CPRH (**Tabela 6**) feitas nas mesmas amostras de água estudadas na estação chuvosa para o Ensaio cometa, os pontos CB10 e CB60 foram classificados como Muito Poluídos (MP). Os resultados para estes dois pontos, entretanto, não foram corroborados pela análise do Ensaio cometa. Da mesma forma, as análises físico-químicas da CPRH feitas para as amostras de água da estação de estiagem (**Tabela 7**) registraram os pontos CB10 e CB60 como Muito Poluídos (MP), o que novamente não foi corroborado por nossos resultados.

Com a finalidade de comparar os efeitos genotóxicos em cada local na estação chuvosa e de estiagem foram elaborados gráficos das **Figuras 3 e 4**, com demonstração dos valores médios do Índice de Dano e Frequência de Dano. Sobre os gráficos estão indicados os locais que se mostraram estatisticamente diferentes do grupo controle negativo ambiental (tratado com água de um açude preservado). É possível observar claramente que houve maior efeito genotóxico nas amostras obtidas na estação chuvosa, do que na estação de estiagem.

## **Discussão**

O ensaio cometa se mostrou adequado para o biomonitoramento da genotoxicidade de fontes hídricas. O conjunto de resultados indica que *D. melanogaster* é adequada ao estudo da poluição dos rios e alerta para o risco atual que a poluição pode representar para a saúde

humana. Ficou demonstrado elevado potencial genotóxico das águas da bacia do rio Capibaribe investigadas, e este resultado foi evidente em oito locais na estação chuvosa. Os pontos CB10 e CB60 não apresentaram genotoxicidade significativa, quando comparados aos grupos controle negativo ambiental ou controle negativo com água destilada. Por outro lado, as amostras de água destes dois locais foram classificadas como Muito Poluídas (MP) após análises da composição físico-química realizada pela CPRH. Nos demais pontos, tanto os resultados genotóxicos quanto os físico-químicos da CPRH coincidiram, porém houve divergência para as análises genotóxicas da estação da estiagem, quando apenas 3 pontos se mostraram de risco.

Conforme dados da CPRH (**Tabela 6**), no ponto CB10, situado em Limoeiro, o Oxigênio Dissolvido (OD) foi zero, e a água foi considerada Muito Poluída (MP). O ponto CB60, em São Lourenço da Mata, teve OD=1,5. Este ponto também foi considerado Muito Poluído (MP). De acordo com a resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA Nº 357/05, o valor de OD para água doce não deve ser inferior a 6 mg/LO<sub>2</sub>. Embora os dois pontos sejam considerados MP e o OD esteja abaixo das normas estabelecidas de 6 mg/LO<sub>2</sub> estes pontos não apresentaram resultados estatisticamente diferentes do controle negativo do experimento, no Ensaio cometa. Contudo, os outros oito pontos do rio apresentaram potencial genotóxico elevado. Destacam-se os pontos CB60 e CB71 locais em que existe captação d'água para abastecimento público para a população, através da COMPESA, sendo que o ponto CB71 apresentou elevada genotoxicidade pelo Ensaio cometa. Pela análise físico-química realizada pelo CPRH e a qualidade água se mostrou Poluída (P) com OD= 2,0 considerado muito abaixo do padrão aceitável. A amostra de água do ponto CB80, situado na cidade do Recife, Av. Caxangá, apresentou-se altamente genotóxico, e OD=1,2 sendo classificado como MP.

Segundo Bertoni e Tucci (2002), a chuva é o tipo de precipitação mais importante para a hidrologia, pois ela tem como consequência, a erosão hídrica. É possível que esta erosão esteja relacionada aos índices genotóxicos observados em nossos experimentos na estação chuvosa. Isso porque as chuvas são capazes de produzir escoamento de produtos tóxicos, ocasionado pela baixa retenção da umidade nos solos. Neste processo há erosão das camadas do solo, considerada um processo de origem natural com a finalidade de formação da paisagem e renovação do solo. Contudo, as atividades desenvolvidas pelo homem ao longo dos anos têm ocasionado impactos na superfície com destaque aos solos outrora ocupados pela Floresta Atlântica, na Zona da Mata do Nordeste do Brasil. A erosão do solo pode ser

então acelerada por atividades humanas, tornando-se um problema nas bacias hidrográficas (Pires e Souza, 2013). Sem a proteção da Mata Atlântica, milhões de metros cúbicos de terra fértil são carreados para dentro da calha dos rios. E este processo se agrava nos locais onde há o cultivo de cana-de-açúcar no entorno dos rios da bacia do Capibaribe. O cultivo da cana exige o uso intensivo de fertilizantes e agrotóxicos (herbicidas, nematicidas) e os resíduos destes produtos acabam sendo arrastados pelas chuvas na direção dos rios (PROJETEC, 2010). Os resultados de genotoxicidade apresentados neste estudo corroboram estas ideias, e apoiam o fato de que no período de chuvas deve ocorrer aumento dos índices de poluentes nos rios e, conseqüentemente, de dano ao material genético dos organismos. Os resultados indicam a necessidade de mais estudos focados nesta problemática, e com abordagens variadas ao nível genético, em outros organismos e locais da bacia do Rio Capibaribe.

## **FIGURAS E TABELAS**

Figura 1. Mapa da bacia do rio Capibaribe e sua posição geográfica no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil, e posição dos 10 pontos amostrais de água (CB10, CB30, CB40, CB55, CB60, CB62, CB71, CB72, CB80, CB95).



Figura 2. Imagem ilustrativa de dois dos 10 locais do Rio Capibaribe em que foram realizadas amostras, em maio de 2017. O ponto CB71 é local de coleta pela rede de distribuição do Estado de Pernambuco, situada em Castelo, São Lourenço da Mata; o ponto CB72 situa-se em São Lourenço da Mata; e o ponto denominado controle negativo ambiental situa-se em Aldeia dos Camarás, Paudalho (Açude dos Camarões).



Figura 3. Valores médios do Índice de Dano em hemócitos de larvas de *Drosophila melanogaster* (Oregon-R) tratados com amostras de água em 10 pontos da bacia do Rio Capibaribe, em duas épocas do ano, e valores médios obtidos nos grupos controles negativos e controle positivo. Asteriscos vermelhos indicam valores significativamente diferentes dos obtidos no grupo controle negativo ambiental.

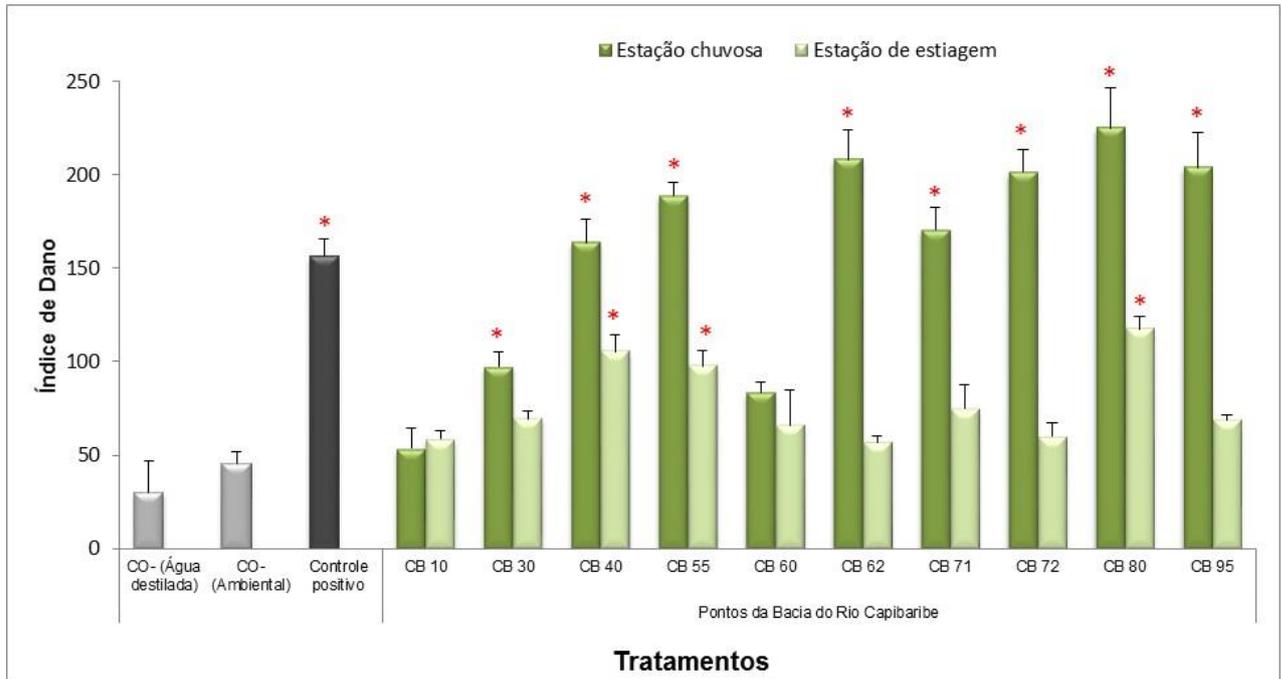


Figura 4. Valores médios da Frequência de Dano em hemócitos de larvas de *Drosophila melanogaster* (Oregon-R) tratados com amostras de água em 10 pontos da bacia do Rio Capibaribe, em duas épocas do ano, e valores médios obtidos nos grupos controles negativos e controle positivo. Asteriscos vermelhos indicam valores significativamente diferentes dos obtidos no grupo controle negativo ambiental.

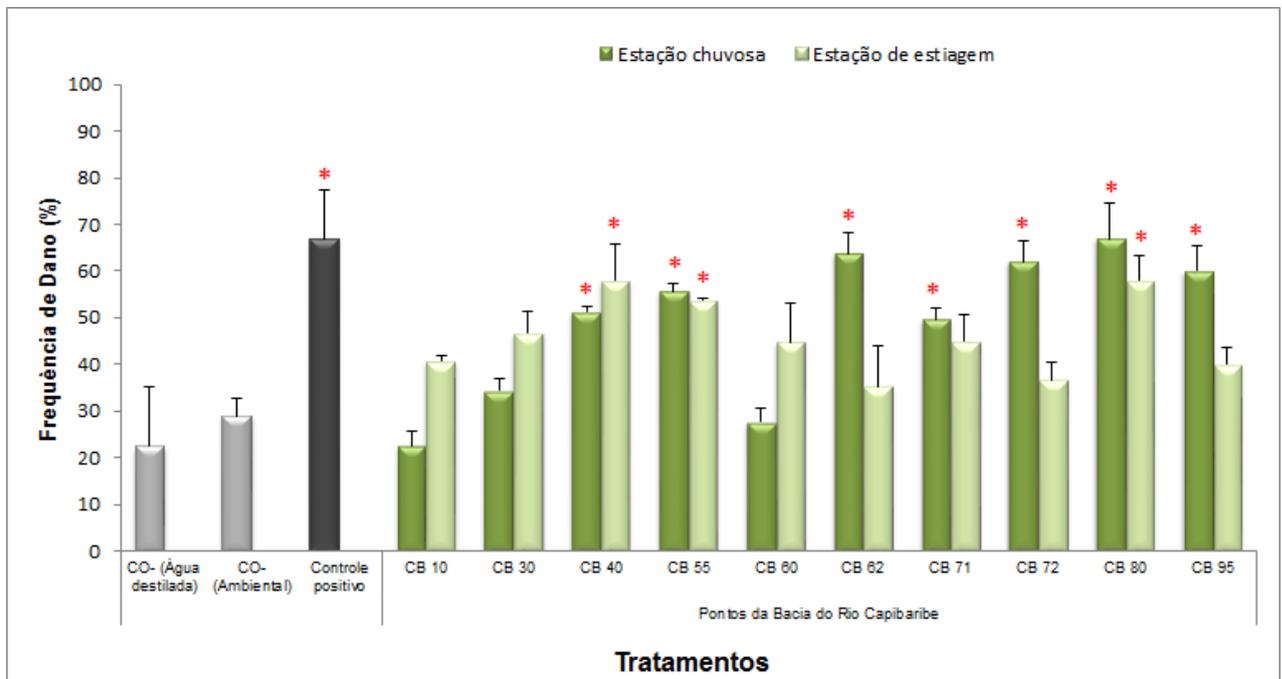


Tabela 1. Descrição dos locais de amostragem das águas da bacia do Rio Capibaribe, coincidentes com os avaliados pelo CPRH para as condições físico-químicas.

Ponto	Corpo d'água	Município de Pernambuco	Coordenadas*
-------	--------------	-------------------------	--------------

CB 10	Rio Capibaribe	Município de Limoeiro	-7,856094444	-35,39699167
CB 30	Rio Capibaribe	Carpina e Lagoa do Itaenga	-7,888680556	-35,23967778
CB 40	Rio Capibaribe	Paudalho	-7,894911111	-35,17416667
CB 55	Rio Goitá	São Lourenço da Mata e Paudalho	-7,965530556	-35,09235833
CB 60	Rio Capibaribe	São Lourenço da Mata	-7,981630556	-35,07804722
CB 62	Rio Tapacurá	Vitória de Santo Antão	-8,099913889	-35,26044722
CB 71	Rio Capibaribe	São Lourenço da Mata	-7,995636111	-35,05366944
CB 72	Rio Capibaribe	São Lourenço da Mata	-7,999352778	-35,03344722
CB 80	Rio Capibaribe	Recife	-8,030838889	-34,95703611
CB 95	Rio Capibaribe	Recife	-8,062722222	-34,90174722

\* Datum de referência cartográfica: SAD 69

Tabela 2. Avaliação dos danos genéticos em hemócitos de *Drosophila melanogaster* Oregon-R expostos ao controle negativo (água destilada), controle negativo ambiental (Aldeia dos Camarás), controle positivo (ciclofosfamida) e às 10 amostras de águas superficiais da bacia do Capibaribe, coletadas em maio/2017, estação chuvosa.

Tratamentos Maio, 2017	Nível de Dano					Índice de Dano	Freq. de Dano (%)
	0	1	2	3	4		
CONTROLE NEGATIVO							
<b>Média</b>	<b>77,67</b>	<b>16,33</b>	<b>4,67</b>	<b>1,00</b>	<b>0,33</b>	<b>30,00</b>	<b>22,33</b>
Desvio padrão	12,66	9,29	3,21	0,00	0,58	16,52	12,66
CONTROLE NEGATIVO AMBIENTAL							
<b>Média</b>	<b>71,00</b>	<b>14,67</b>	<b>12,33</b>	<b>1,67</b>	<b>0,33</b>	<b>45,67</b>	<b>29,00</b>
Desvio padrão	3,61	8,62	4,16	2,08	0,58	6,35	3,61
CONTROLE POSITIVO							
<b>Média</b>	<b>33,00</b>	<b>17,67</b>	<b>18,33</b>	<b>22,00</b>	<b>9,00</b>	<b>156,33</b>	<b>67,00</b>
Desvio padrão	10,54	3,06	13,05	2,65	3,00	9,50	10,54
BACIA DO CAPIBARIBE							
CB 10 <b>Média</b>	<b>77,33</b>	<b>8,33</b>	<b>2,33</b>	<b>7,33</b>	<b>4,67</b>	<b>53,67</b>	<b>22,67</b>
Desvio padrão	3,06	0,58	1,15	2,52	1,53	11,06	3,06
CB 30 <b>Média</b>	<b>65,67</b>	<b>5,00</b>	<b>4,33</b>	<b>16,33</b>	<b>8,67</b>	<b>97,33</b>	<b>34,33</b>
Desvio padrão	2,52	2,65	0,58	4,16	3,51	8,02	2,52
CB 40 <b>Média</b>	<b>48,67</b>	<b>4,00</b>	<b>1,67</b>	<b>19,67</b>	<b>24,33</b>	<b>163,67</b>	<b>51,33</b>
Desvio padrão	1,15	1,73	1,15	5,13	1,15	12,74	1,15
CB 55 <b>Média</b>	<b>44,33</b>	<b>1,00</b>	<b>0,33</b>	<b>30,33</b>	<b>24,00</b>	<b>188,67</b>	<b>55,67</b>
Desvio padrão	1,53	1,00	0,58	1,15	1,00	7,09	1,53
CB 60 <b>Média</b>	<b>72,33</b>	<b>3,00</b>	<b>2,33</b>	<b>13,33</b>	<b>9,00</b>	<b>83,67</b>	<b>27,67</b>
Desvio padrão	2,89	3,00	1,53	1,53	1,00	5,51	2,89
CB 62 <b>Média</b>	<b>36,33</b>	<b>2,33</b>	<b>6,67</b>	<b>26,33</b>	<b>28,33</b>	<b>208,00</b>	<b>63,67</b>
Desvio padrão	4,62	1,53	2,31	4,51	1,15	16,37	4,62
CB 71 <b>Média</b>	<b>50,33</b>	<b>1,00</b>	<b>2,67</b>	<b>20,00</b>	<b>26,00</b>	<b>170,33</b>	<b>49,67</b>
Desvio padrão	2,31	1,00	1,53	2,00	3,46	12,01	2,31
CB 72 <b>Média</b>	<b>38,00</b>	<b>2,00</b>	<b>2,33</b>	<b>36,00</b>	<b>21,67</b>	<b>201,33</b>	<b>62,00</b>
Desvio padrão	4,36	1,00	2,52	7,00	2,89	12,34	4,36
CB 80 <b>Média</b>	<b>33,00</b>	<b>2,00</b>	<b>2,00</b>	<b>33,00</b>	<b>30,00</b>	<b>225,00</b>	<b>67,00</b>
Desvio padrão	7,55	1,00	0,00	9,64	7,00	21,70	7,55
CB 95 <b>Média</b>	<b>40,00</b>	<b>1,33</b>	<b>2,67</b>	<b>26,67</b>	<b>29,33</b>	<b>204,00</b>	<b>60,00</b>
Desvio padrão	5,29	1,53	1,15	4,04	1,53	19,00	5,29

Tabela 3. Avaliação dos danos genéticos em hemócitos de *Drosophila melanogaster* Oregon-R expostos ao controle negativo (água destilada), controle negativo ambiental (Aldeia dos Camarás),

controle positivo (ciclofosfamida) e às 10 amostras de águas superficiais da bacia do Capibaribe, coletadas em novembro/2017, estação da estiagem.

Tratamentos Novembro, 2017	Nível de Dano					Índice de Dano	Freq. de Dano (%)
	0	1	2	3	4		
CONTROLE NEGATIVO							
<b>Média</b>	<b>77,67</b>	<b>16,33</b>	<b>4,67</b>	<b>1,00</b>	<b>0,33</b>	<b>30,00</b>	<b>22,33</b>
Desvio padrão	12,66	9,29	3,21	0,00	0,58	16,52	12,66
CONTROLE NEGATIVO AMBIENTAL							
<b>Média</b>	<b>71,00</b>	<b>14,67</b>	<b>12,33</b>	<b>1,67</b>	<b>0,33</b>	<b>45,67</b>	<b>29,00</b>
Desvio padrão	3,61	8,62	4,16	2,08	0,58	6,35	3,61
CONTROLE POSITIVO							
<b>Média</b>	<b>33,00</b>	<b>17,67</b>	<b>18,33</b>	<b>22,00</b>	<b>9,00</b>	<b>156,33</b>	<b>67,00</b>
Desvio padrão	10,54	3,06	13,05	2,65	3,00	9,50	10,54
BACIA DO CAPIBARIBE							
CB 10 <b>Média</b>	<b>59,33</b>	<b>23,00</b>	<b>17,33</b>	<b>0,33</b>	<b>0,00</b>	<b>58,67</b>	<b>40,67</b>
Desvio padrão	4,51	5,03	1,00	0,00	0,00	4,16	4,51
CB 30 <b>Média</b>	<b>53,33</b>	<b>24,67</b>	<b>21,00</b>	<b>1,00</b>	<b>0,00</b>	<b>69,67</b>	<b>46,67</b>
Desvio padrão	4,51	5,03	1,00	0,00	0,00	4,16	4,51
CB 40 <b>Média</b>	<b>42,00</b>	<b>16,67</b>	<b>35,67</b>	<b>5,33</b>	<b>0,33</b>	<b>105,33</b>	<b>58,00</b>
Desvio padrão	7,81	9,61	3,06	1,15	0,58	9,07	7,81
CB 55 <b>Média</b>	<b>46,33</b>	<b>19,00</b>	<b>27,00</b>	<b>6,00</b>	<b>1,67</b>	<b>97,67</b>	<b>53,67</b>
Desvio padrão	0,58	3,46	3,46	3,00	2,08	8,50	0,58
CB 60 <b>Média</b>	<b>55,33</b>	<b>25,67</b>	<b>16,67</b>	<b>2,33</b>	<b>0,00</b>	<b>66,00</b>	<b>44,67</b>
Desvio padrão	8,33	2,52	4,62	3,21	0,00	19,08	8,33
CB 62 <b>Média</b>	<b>64,67</b>	<b>18,67</b>	<b>12,67</b>	<b>3,00</b>	<b>1,00</b>	<b>57,00</b>	<b>35,33</b>
Desvio padrão	8,62	9,50	3,51	1,73	1,73	3,00	8,62
CB 71 <b>Média</b>	<b>55,00</b>	<b>20,00</b>	<b>20,67</b>	<b>4,00</b>	<b>0,33</b>	<b>74,67</b>	<b>45,00</b>
Desvio padrão	5,57	2,65	8,14	1,00	0,58	12,90	5,57
CB 72 <b>Média</b>	<b>63,33</b>	<b>16,33</b>	<b>17,33</b>	<b>3,00</b>	<b>0,00</b>	<b>60,00</b>	<b>36,67</b>
Desvio padrão	3,79	4,62	2,08	2,00	0,00	7,21	3,79
CB 80 <b>Média</b>	<b>42,00</b>	<b>16,33</b>	<b>26,33</b>	<b>13,00</b>	<b>2,33</b>	<b>117,33</b>	<b>58,00</b>
Desvio padrão	5,20	7,09	3,21	4,58	1,53	7,09	5,20
CB 95 <b>Média</b>	<b>60,00</b>	<b>15,67</b>	<b>20,00</b>	<b>4,00</b>	<b>0,33</b>	<b>69,00</b>	<b>40,00</b>
Desvio padrão	3,46	34,51	4,36	1,73	0,58	2,65	3,46

Tabela 4. Resultados da análise estatística do pós-teste Bonferroni, para comparações par a par entre Índice de Dano (abaixo da diagonal, em cinza) e Frequência de Dano (acima da diagonal) em *Drosophila melanogaster* dos grupos controles negativos (CO-), controle positivo e dos diferentes tratamentos com a água do Rio Capibaribe, coletadas nos pontos CB10 a CB 95, em maio de 2017 (estação chuvosa).

<b>Grupos (Maio/2017)</b>	<b>CO- (Água destilada)</b>	<b>CO- (Ambiental)</b>	<b>Controle positivo</b>	<b>CB 10</b>	<b>CB 30</b>	<b>CB 40</b>	<b>CB 55</b>	<b>CB 60</b>	<b>CB 62</b>	<b>CB 71</b>	<b>CB 72</b>	<b>CB 80</b>	<b>CB 95</b>
<b>CO- (Água destilada)</b>		1.0000	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0001 *	0.0001 *	1.0000	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *
<b>CO- (Ambiental)</b>	1.0000		0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0070 *	0.0010 *	1.0000	0.0001 *	0.0180 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *
<b>Controle positivo</b>	0.0001 *	0.0001 *		0.0001 *	0.0001 *	0.2520	1.0000	0.0001 *	1.0000	0.1050	1.0000	1.0000	1.0000
<b>CB 10</b>	1.0000	1.0000	0.0001 *		1.0000	0.0001 *	0.0001 *	1.0000	0.0001 *	0.0010 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *
<b>CB 30</b>	0.0001 *	0.0060 *	0.0010 *	0.0400 *		0.1260	0.0120 *	1.0000	0.0001 *	0.2990	0.0001 *	0.0001 *	0.0010 *
<b>CB 40</b>	0.0001 *	0.0001 *	1.0000	0.0001 *	0.0001 *		1.0000	0.0020 *	1.0000	1.0000	1.0000	0.2520	1.0000
<b>CB 55</b>	0.0001 *	0.0001 *	0.5320	0.0001 *	0.0001 *	1.0000		0.0001 *	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
<b>CB 60</b>	0.0100 *	0.3960	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0001 *	0.0001 *		0.0001 *	0.0040 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *
<b>CB 62</b>	0.0001 *	0.0001 *	0.0060 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0340 *	1.0000	0.0001 *		0.5850	1.0000	1.0000	1.0000
<b>CB 71</b>	0.0001 *	0.0001 *	1.0000	0.0001 *	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0001 *	0.1600		1.0000	0.1050	1.0000
<b>CB 72</b>	0.0001 *	0.0001 *	0.0290 *	0.0001 *	0.0001 *	0.1600	1.0000	0.0001 *	1.0000	0.7110		1.0000	1.0000
<b>CB 80</b>	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0010 *	0.2180	0.0001 *	1.0000	0.0030 *	1.0000		1.0000
<b>CB 95</b>	0.0001 *	0.0001 *	0.0150 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0870	1.0000	0.0001 *	1.0000	0.3960	1.0000	1.0000	

\* Diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ).

Tabela 5. Resultados da análise estatística do pós-teste Bonferroni, para comparações par a par entre Índice de Dano (abaixo da diagonal, em cinza) e Frequência de Dano (acima da diagonal) em *Drosophila melanogaster* dos grupos controles negativos (CO-), controle positivo e dos diferentes tratamentos com a água do Rio Capibaribe, coletadas nos pontos CB10 a CB 95, em novembro de 2017 (estação de estiagem).

<b>Grupos (Novembro/2017)</b>	<b>CO- (Água destilada)</b>	<b>CO- (Ambiental)</b>	<b>Controle positivo</b>	<b>CB 10</b>	<b>CB 30</b>	<b>CB 40</b>	<b>CB 55</b>	<b>CB 60</b>	<b>CB 62</b>	<b>CB 71</b>	<b>CB 72</b>	<b>CB 80</b>	<b>CB 95</b>
<b>CO- (Água destilada)</b>		1.0000	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0001 *	0.0001 *	1.0000	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *
<b>CO- (Ambiental)</b>	1.0000		0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0070 *	0.0010 *	1.0000	1.0000	0.5900	1.0000	0.0001 *	1.0000
<b>Controle positivo</b>	0.0001 *	0.0001 *		0.0001 *	0.0001 *	0.2520	1.0000	0.0001 *	1.0000	0.1050	1.0000	1.0000	1.0000
<b>CB 10</b>	0.1000	1.0000	0.0001 *		1.0000	0.3280	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.3280	1.0000
<b>CB 30</b>	0.0030 *	0.4340	0.0001 *	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
<b>CB 40</b>	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0010 *		1.0000	1.0000	0.0280 *	1.0000	0.0520	1.0000	0.2430
<b>CB 55</b>	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0030 *	0.0123 *	1.0000		1.0000	0.0290 *	1.0000	0.3810	1.0000	1.0000
<b>CB 60</b>	0.0090 *	1.0000	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0030 *	0.0370 *		1.0000	1.0000	1.0000	0.3810	1.0000
<b>CB 62</b>	0.0170 *	1.0000	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0001 *	0.0020 *	1.0000		1.0000	1.0000	0.0280 *	1.0000
<b>CB 71</b>	0.0001 *	0.0890	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0520	0.5888	1.0000	1.0000		1.0000	1.0000	1.0000
<b>CB 72</b>	0.0650	1.0000	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0001 *	0.0050 *	1.0000	1.0000	1.0000		0.0520	1.0000
<b>CB 80</b>	0.0001 *	0.0001 *	0.0030 *	0.0001 *	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *	0.0001 *		0.2430
<b>CB 95</b>	0.0030 *	0.5310	0.0001 *	1.0000	1.0000	0.0080	0.1000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0001 *	

\* Diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ).

Tabela 6. Descrição dos 10 pontos das análises físico-química do CPRH no mês de maio/2017.

Data: CPRH- Agência Estadual de Meio Ambiente- Pernambuco- State-Brazil											
Experiment II, samples collected in may, 05 and 06- 2017											
Parameters		CB10 Limoeiro	CB30 Carp. L. do Itaenga	CB40 Pau Dalho	CB55 S. L Mata P. Dalho	CB60 S. L Mata	CB62 Vitoria de S. Antão	CB7 1 S. L Mat a	CB72 S. L Mata	CB80 Recife	CB95 Recife
Temperature	°C	26	27	-	-	28	31	29	30	28	29
Reaction (pH)	-	7.1	7.6	-	-	7.5	7.3	7.8	7.3	7.2	7.2
Electrolytic conductivity	µs/S-1	2329	1650	-	-	482	<u>763</u>	445	404	337	17280
Total Dissolved Solids (TDS)	mg/L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total solids	mg/L	-	-	-	-	299	-	312	-	-	-
Dissolved oxygen (DO)	mg/L	<b>0.0</b>	<b><u>3.4</u></b>	-	-	<b>1.5</b>	<b><u>&lt;0.5</u></b>	<b>2.0</b>	<b><u>3.7</u></b>	<b><u>1.2</u></b>	<b><u>0.0</u></b>
DBO Determination of the Biochemical Oxygen Demand - BOD	mg/L	4.7	<u>2.2</u>	-	-	<u>27.6</u>	<u>36.2</u>	<u>7.5</u>	<u>5.8</u>	<u>7.7</u>	28.9
Color	Pt/Co	70	70	-	-	-	-	-	100	200	50.0
Turbidity	NTU	2.0	15	-	-	40	-	70	20	30	15
Ammonia	mg/L	0.38	0.40	-	-	nd	<u>21.7</u>	0.37	<u>2.04</u>	1.87	<u>1.03</u>
TP- Total Phosphorus	mg/L	<b><u>2.13</u></b>	<b><u>0.18</u></b>	-	-	0.03	<u>1.75</u>	0.10	<b><u>0.45</u></b>	0.45	<b><u>0.67</u></b>
Thermally tolerant coliforms	NMP/100	780	400	-	-	450	>160000	<b><u>14.000</u></b>	35000	>160000	>160000
Total chromium	mg/L	<b>UC</b>	<b>UC</b>	-	-	-	-	-	<b>UC</b>	-	-
Salinity	PSU	1.7	0.9	-	-	0.3	0.6	0.2	0.2	0.2	11.4
Classe Conama 357/05 *											
Class	-	1SB	1SB	-	-	2	2	2	2	2	1SB40
Quality Indicators											
(DO) Saturation	%	0	43	-	-	19	26	57	49	15	0
Quality	-	<b>HP</b>	<b>P</b>	-	-	<b>HP</b>	<b>HP</b>	<b>P</b>	<b>P</b>	<b>HP</b>	<b>HP</b>
Trophic State Index (TSI). River	-	HE74	EU(61)	-	ME(56)	OL(51)	HE(69)	SE(64)	HE(65)	SE(67)	-
Salinity risk	-	H	H	-	-	L	M	L	L	L	VH
Pluviometry in Lagoa de Itaenga (Carpina Dam) - APAC Source- Carpina- PE -Brazil											
Monthly total	mm	108	108	174	177	177	177	177	177	292	292
Historical average	mm	134	34	18	182	182	137	82	143	33	291

Quality: UC = uncommitted, PC = Poorly Committed, MC = Moderately Compromised, P = Polluted and HP = heavily polluted.

Soil salinity risk: L = low, M = Medium, H = High, VH = Very High

TROPHIC STATE INDEX (TSI): UO = Ultraoligotrophic, OL = Oligotrophic, ME = Mesotrophic, EU = Eutrophic, SE = Supereutrophic and HE = Hypereutrophic

Rainy period in bold. Source: PERH (Plano Estadual de Recursos Hídricos), Brazil.

**Bold and underlined values not conforming to the framing class according to \*CONAMA Resolution No. 357/2005 (Conselho Nacional do Meio Ambiente), Brazil.**

Tabela 7. Descrição dos 10 pontos das análises físico-química do CPRH no mês de novembro/2017.

Data: CPRH- Agência Estadual de Meio Ambiente- Pernambuco- State-Brazil Experiment II, samples collected in November, 10 and 11- 2017											
Parameters		CB10 Limoeiro	CB30 Carp. L. do Itaenga	CB40 Pau Dalho	CB55 S. L Mata P. Dalho	CB60 S. L Mata	CB62 Vitoria de S. Antão	CB71 S. L Mata	CB72 S. L Mata	CB80 Recife	CB95 Recife
Temperature	°C	25	25	25	24	24	27	28	26	28	30
Reaction (pH)	-	7.6	7.2	7.9	0.3	7.4	7.5	7.5	8	7.3	7.8
Electrolytic conductivity	µs/S-1	3260	1537	4.8	-	537	<u>48.6</u>	436	436	1243	34300
Total Dissolved Solids (TDS)	mg/L	1776	-	473	-	286	-	-	242	-	-
Total solids	mg/L	1896	-	525	-	352	-	369	-	-	-
Dissolved oxygen (DO)	mg/L	<u>0.6</u>	<0.5	<0.5	<u>0.8</u>	8.6	<0.5	<u>4.5</u>	7.7	<u>1.6</u>	<u>3.0</u>
DBO Determination of the Biochemical Oxygen Demand - BOD	mg/L		<u>66.3</u>	0.0	585	0.9	<u>48.6</u>	<u>10.9</u>	<u>3.0</u>	<u>14.4</u>	9.3
Color	Pt/Co	80	150	60	50	-	-	-	100	100	50
Turbidity	NTU	2.0	4.0	3.0	3.0	2.5	-	30	8		6.0
Ammonia	mg/L	0.22	0.58	2.64	0.17	0.14	<u>19.5</u>	0.17	<u>6.12</u>	3.59	<u>3.01</u>
TP- Total Phosphorus	mg/L	2.65	<u>0.82</u>	<u>0.50</u>	0.08	0.04	<u>1.63</u>	<u>0.33</u>	<u>0.91</u>	0.93	<u>0.67</u>
Thermally tolerant coliforms	NMP/100	200	> <b>160000</b>	<u>3200</u>	400	<180	<u>3.900</u>	<u>17.000</u>	54000	> <b>160000</b>	35.000
Total chromium	mg/L	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-
Salinity	PSU	1.7	0.8	0.4	0.3	0.3	0.4	0.2	0.2	0.6	21.3
<b>Classe Conama 357/05 *</b>											
Class	-	1SB	1SB	2	2	2	2	2	2	2D	1SB40
<b>Quality Indicators</b>											
(DO) Saturation	%	9	6	6	10	102	6	57	38	20	40
<b>Quality</b>	-	<b>HP</b>	<b>HP</b>	<b>HP</b>	<b>HP</b>	<b>UC</b>	<b>HP</b>	<b>P</b>	<b>P</b>	<b>HP</b>	<b>HP</b>
Trophic State Index (TSI). River	-	HE76	HE(69)	SE(66)	ME(56)	ME(53)	HE(72)	SE(64)	HE(69)	HE(69)	-
Salinity risk	-	VH	H	M	L	L	M	L	L	M	VH
<b>Pluviometry in Lagoa de Itaenga (Carpina Dam) - APAC Source- Carpina- PE -Brazil</b>											
Monthly total	mm	3	5	3	7	7	7	7	7	15	
Historical average	mm	59	18	16	37	37	26	37	21	33	
Quality: UC = uncommitted, PC = Poorly Committed, MC = Moderately Compromised, P = Polluted and HP = heavily polluted.											
Soil salinity risk: L = low, M = Medium, H = High, VH = Very High											
TROPIC STATE INDEX (TSI): UO = Ultraoligotrophic, OL = Oligotrophic, ME = Mesotrophic, EU = Eutrophic, SE = Supereutrophic and HE = Hypereutrophic											
<b>Rainy period in bold.</b> Source: PERH (Plano Estadual de Recursos Hídricos), Brazil.											
<b>Bold and underlined values not conforming to the framing class according to *CONAMA Resolution No. 357/2005 (Conselho Nacional do Meio Ambiente), Brazil.</b>											

## MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela S1.** Avaliação dos níveis de dano genético (0 a 4), Índice de Dano (D) e Frequência de Dano (DF%), Média e desvio padrão (SD) dos diferentes tratamentos com *Drosophila melanogaster* submetidas à duas condições de controle negativo, ao controle positivo (ciclofosfamida), e às 10 amostras de águas superficiais da bacia do rio Capibaribe (pontos CB 10 a CB 95), em três réplicas (a, b, c). As coletas de água foram realizadas em maio, 2017 (período chuvoso).

Tratamentos Maio, 2017	Dano genético					ID	FD%
	0	1	2	3	4		
CO- (Água destilada) <sup>a</sup>	92	6	1	1	0	11	8
CO- (Água destilada) <sup>b</sup>	68	24	7	1	0	41	32
CO- (Água destilada) <sup>c</sup>	73	19	6	1	1	38	27
<b>Média</b>	<b>77,67</b>	<b>16,33</b>	<b>4,67</b>	<b>1,00</b>	<b>0,33</b>	<b>30,00</b>	<b>22,33</b>
SD	12,66	9,29	3,21	0,00	0,58	16,52	12,66
CO- (ambiental) <sup>a</sup>	72	7	17	4	0	53	28
CO- (ambiental) <sup>b</sup>	74	13	11	1	1	42	26
CO- (ambiental) <sup>c</sup>	67	24	9	0	0	42	33
<b>Média</b>	<b>71,00</b>	<b>14,67</b>	<b>12,33</b>	<b>1,67</b>	<b>0,33</b>	<b>45,67</b>	<b>29,00</b>
SD	3,61	8,62	4,16	2,08	0,58	6,35	3,61
Controle positivo <sup>a</sup>	34	17	17	23	9	156	66
Controle positivo <sup>b</sup>	43	15	6	24	12	147	57
Controle positivo <sup>c</sup>	22	21	32	19	6	166	78
<b>Média</b>	<b>33,00</b>	<b>17,67</b>	<b>18,33</b>	<b>22,00</b>	<b>9,00</b>	<b>156,33</b>	<b>67,00</b>
SD	10,54	3,06	13,05	2,65	3,00	9,50	10,54
CB 10 <sup>a</sup>	80	9	3	5	3	42	20
CB 10 <sup>b</sup>	74	8	3	10	5	64	26
CB 10 <sup>c</sup>	78	8	1	7	6	55	22
<b>Média</b>	<b>77,33</b>	<b>8,33</b>	<b>2,33</b>	<b>7,33</b>	<b>4,67</b>	<b>53,67</b>	<b>22,67</b>
SD	3,06	0,58	1,15	2,52	1,53	11,06	3,06
CB 30 <sup>a</sup>	66	2	5	15	12	105	34
CB 30 <sup>b</sup>	63	7	4	21	5	98	37
CB 30 <sup>c</sup>	68	6	4	13	9	89	32
<b>Média</b>	<b>65,67</b>	<b>5,00</b>	<b>4,33</b>	<b>16,33</b>	<b>8,67</b>	<b>97,33</b>	<b>34,33</b>
SD	2,52	2,65	0,58	4,16	3,51	8,02	2,52
CB 40 <sup>a</sup>	48	2	3	24	23	172	52
CB 40 <sup>b</sup>	50	5	1	14	25	149	50
CB 40 <sup>c</sup>	48	5	1	21	25	170	52
<b>Média</b>	<b>48,67</b>	<b>4,00</b>	<b>1,67</b>	<b>19,67</b>	<b>24,33</b>	<b>163,67</b>	<b>51,33</b>
SD	1,15	1,73	1,15	5,13	1,15	12,74	1,15
CB 55 <sup>a</sup>	44	1	0	31	24	190	56
CB 55 <sup>b</sup>	46	2	0	29	23	181	54
CB 55 <sup>c</sup>	43	0	1	31	25	195	57
<b>Média</b>	<b>44,33</b>	<b>1,00</b>	<b>0,33</b>	<b>30,33</b>	<b>24,00</b>	<b>188,67</b>	<b>55,67</b>
SD	1,53	1,00	0,58	1,15	1,00	7,09	1,53
CB 60 <sup>a</sup>	69	6	1	15	9	89	31
CB 60 <sup>b</sup>	74	0	4	12	10	84	26
CB 60 <sup>c</sup>	74	3	2	13	8	78	26
<b>Média</b>	<b>72,33</b>	<b>3,00</b>	<b>2,33</b>	<b>13,33</b>	<b>9,00</b>	<b>83,67</b>	<b>27,67</b>
SD	2,89	3,00	1,53	1,53	1,00	5,51	2,89

CB 62 <sup>a</sup>	39	4	8	22	27	194	61
CB 62 <sup>b</sup>	39	2	4	26	29	204	61
CB62 <sup>c</sup>	31	1	8	31	29	226	69
<b>Média</b>	<b>36,33</b>	<b>2,33</b>	<b>6,67</b>	<b>26,33</b>	<b>28,33</b>	<b>208,00</b>	<b>63,67</b>
SD	4,62	1,53	2,31	4,51	1,15	16,37	4,62
CB 71 <sup>a</sup>	49	1	4	22	24	171	51
CB71 <sup>b</sup>	49	0	1	20	30	182	51
CB 71 <sup>c</sup>	53	2	3	18	24	158	47
<b>Média</b>	<b>50,33</b>	<b>1,00</b>	<b>2,67</b>	<b>20,00</b>	<b>26,00</b>	<b>170,33</b>	<b>49,67</b>
SD	2,31	1,00	1,53	2,00	3,46	12,01	2,31
CB 72 <sup>a</sup>	40	2	5	33	20	191	60
CB 72 <sup>b</sup>	41	1	2	31	25	198	59
CB 72 <sup>c</sup>	33	3	0	44	20	215	67
<b>Média</b>	<b>38,00</b>	<b>2,00</b>	<b>2,33</b>	<b>36,00</b>	<b>21,67</b>	<b>201,33</b>	<b>62,00</b>
SD	4,36	1,00	2,52	7,00	2,89	12,34	4,36
CB 80 <sup>a</sup>	26	3	2	44	25	239	74
CB80 <sup>b</sup>	32	2	2	26	38	236	68
CB 80 <sup>c</sup>	41	1	2	29	27	200	59
<b>Média</b>	<b>33,00</b>	<b>2,00</b>	<b>2,00</b>	<b>33,00</b>	<b>30,00</b>	<b>225,00</b>	<b>67,00</b>
SD	7,55	1,00	0,00	9,64	7,00	21,70	7,55
CB 95 <sup>a</sup>	34	0	4	31	31	225	66
CB 95 <sup>b</sup>	44	3	2	23	28	188	56
CB 95 <sup>c</sup>	42	1	2	26	29	199	58
<b>Média</b>	<b>40,00</b>	<b>1,33</b>	<b>2,67</b>	<b>26,67</b>	<b>29,33</b>	<b>204,00</b>	<b>60,00</b>
SD	5,29	1,53	1,15	4,04	1,53	19,00	5,29

**Tabela S2.** Avaliação dos níveis de dano genético (0 a 4), Índice de Dano (D) e Frequência de Dano (DF%), Média e desvio padrão (SD) dos diferentes tratamentos com *Drosophila melanogaster* submetidas à duas condições de controle negativo, ao controle positivo (ciclofosfamida), e às 10 amostras de águas superficiais da bacia do rio Capibaribe (pontos CB 10 a CB 95), em três réplicas (a, b, c). As coletas de água foram realizadas em novembro, 2017 (período de estiagem).

Tratamentos Novembro, 2017	Dano genético					ID	FD%
	0	1	2	3	4		
CO- (Água destilada) <sup>a</sup>	92	6	1	1	0	11	8
CO- (Água destilada) <sup>b</sup>	68	24	7	1	0	41	32
CO- (Água destilada) <sup>c</sup>	73	19	6	1	1	38	27
<b>Média</b>	<b>77,67</b>	<b>16,33</b>	<b>4,67</b>	<b>1,00</b>	<b>0,33</b>	<b>30,00</b>	<b>22,33</b>
SD	12,66	9,29	3,21	0,00	0,58	16,52	12,66
CO- (ambiental) <sup>a</sup>	72	7	17	4	0	53	28
CO- (ambiental) <sup>b</sup>	74	13	11	1	1	42	26
CO- (ambiental) <sup>c</sup>	67	24	9	0	0	42	33
<b>Média</b>	<b>71,00</b>	<b>14,67</b>	<b>12,33</b>	<b>1,67</b>	<b>0,33</b>	<b>45,67</b>	<b>29,00</b>
SD	3,61	8,62	4,16	2,08	0,58	6,35	3,61
Controle positivo <sup>a</sup>	34	17	17	23	9	156	66
Controle positivo <sup>b</sup>	43	15	6	24	12	147	57
Controle positivo <sup>c</sup>	22	21	32	19	6	166	78
<b>Média</b>	<b>33,00</b>	<b>17,67</b>	<b>18,33</b>	<b>22,00</b>	<b>9,00</b>	<b>156,33</b>	<b>67,00</b>

SD	10,54	3,06	13,05	2,65	3,00	9,50	10,54
CB 10 <sup>a</sup>	58	23	19	0	0	61	42
CB 10 <sup>b</sup>	60	22	18	0	0	58	40
CB 10 <sup>c</sup>	60	24	15	1	0	57	40
<b>Média</b>	<b>59,33</b>	<b>23,00</b>	<b>17,33</b>	<b>0,33</b>	<b>0,00</b>	<b>58,67</b>	<b>40,67</b>
SD	1,15	1,00	2,08	0,58	0,00	2,08	1,15
CB 30 <sup>a</sup>	58	20	21	1	0	65	42
CB 30 <sup>b</sup>	49	30	20	1	0	73	51
CB 30 <sup>c</sup>	53	24	22	1	0	71	47
<b>Média</b>	<b>53,33</b>	<b>24,67</b>	<b>21,00</b>	<b>1,00</b>	<b>0,00</b>	<b>69,67</b>	<b>46,67</b>
SD	4,51	5,03	1,00	0,00	0,00	4,16	4,51
CB 40 <sup>a</sup>	47	8	39	6	0	104	53
CB 40 <sup>b</sup>	46	15	35	4	0	97	54
CB 40 <sup>c</sup>	33	27	33	6	1	115	67
<b>Média</b>	<b>42,00</b>	<b>16,67</b>	<b>35,67</b>	<b>5,33</b>	<b>0,33</b>	<b>105,33</b>	<b>58,00</b>
SD	7,81	9,61	3,06	1,15	0,58	9,07	7,81
CB 55 <sup>a</sup>	47	21	29	3	0	88	53
CB 55 <sup>b</sup>	46	21	23	6	4	101	54
CB 55 <sup>c</sup>	46	15	29	9	1	104	54
<b>Média</b>	<b>46,33</b>	<b>19,00</b>	<b>27,00</b>	<b>6,00</b>	<b>1,67</b>	<b>97,67</b>	<b>53,67</b>
SD	0,58	3,46	3,46	3,00	2,08	8,50	0,58
CB 60 <sup>a</sup>	46	26	22	6	0	88	54
CB 60 <sup>b</sup>	62	23	14	1	0	54	38
CB 60 <sup>c</sup>	58	28	14	0	0	56	42
<b>Média</b>	<b>55,33</b>	<b>25,67</b>	<b>16,67</b>	<b>2,33</b>	<b>0,00</b>	<b>66,00</b>	<b>44,67</b>
SD	8,33	2,52	4,62	3,21	0,00	19,08	8,33
CB 62 <sup>a</sup>	57	28	13	2	0	60	43
CB 62 <sup>b</sup>	63	19	16	2	0	57	37
CB 62 <sup>c</sup>	74	9	9	5	3	54	26
<b>Média</b>	<b>64,67</b>	<b>18,67</b>	<b>12,67</b>	<b>3,00</b>	<b>1,00</b>	<b>57,00</b>	<b>35,33</b>
SD	8,62	9,50	3,51	1,73	1,73	3,00	8,62
CB 71 <sup>a</sup>	60	21	15	3	1	64	40
CB 71 <sup>b</sup>	49	17	30	4	0	89	51
CB 71 <sup>c</sup>	56	22	17	5	0	71	44
<b>Média</b>	<b>55,00</b>	<b>20,00</b>	<b>20,67</b>	<b>4,00</b>	<b>0,33</b>	<b>74,67</b>	<b>45,00</b>
SD	5,57	2,65	8,14	1,00	0,58	12,90	5,57
CB 72 <sup>a</sup>	65	19	15	1	0	52	35
CB 72 <sup>b</sup>	66	11	18	5	0	62	34
CB 72 <sup>c</sup>	59	19	19	3	0	66	41
<b>Média</b>	<b>63,33</b>	<b>16,33</b>	<b>17,33</b>	<b>3,00</b>	<b>0,00</b>	<b>60,00</b>	<b>36,67</b>
SD	3,79	4,62	2,08	2,00	0,00	7,21	3,79
CB 80 <sup>a</sup>	36	24	30	8	2	116	64
CB 80 <sup>b</sup>	45	10	24	17	4	125	55
CB 80 <sup>c</sup>	45	15	25	14	1	111	55
<b>Média</b>	<b>42,00</b>	<b>16,33</b>	<b>26,33</b>	<b>13,00</b>	<b>2,33</b>	<b>117,33</b>	<b>58,00</b>
SD	5,20	7,09	3,21	4,58	1,53	7,09	5,20
CB 95 <sup>a</sup>	62	16	15	6	1	68	38
CB 95 <sup>b</sup>	56	19	22	3	0	72	44
CB 95 <sup>c</sup>	62	12	23	3	0	67	38
<b>Média</b>	<b>60,00</b>	<b>15,67</b>	<b>20,00</b>	<b>4,00</b>	<b>0,33</b>	<b>69,00</b>	<b>40,00</b>
SD	3,46	34,51	4,36	1,73	0,58	2,65	3,46

## Agradecimentos

Este trabalho foi financiado Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPESQ) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Um agradecimento especial à Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH) pela ajuda em diversas etapas deste trabalho, como a logística nas coletas de água a disponibilidade dos resultados de análise físico-químicos.

## Referências

- ADAMS, M.D., CELNIKER S.E., HOLT R.A., EVANS C.A., GOCAYNE J.D., AMANATIDES P.G., et al. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. **Science** v. 287, p. 2185-2195, 2000.
- ANJOS, D. L.; PASSAVANTE, J. K. O.; SILVA-CUNHA, M. G.G.; HONORATO DA SILVA, M. Biomassa fitoplanctônica correlacionada aos fatores hidrológicos no estuário do rio Capibaribe (Recife, Pernambuco, Brasil). **Trop. Oceanogr.**, v. 40, n. 1, p. 167-184, 2012.
- BENFORD D.J. et al. Biomarkers as predictive tools in toxicity testing. **Altern. Lab. Anim.** v. 28, p.119-131, 2000.
- BERTONI, J. C.; TUCCI, C. E. M. **Precipitação**. In: TUCCI, C. E. M. (Org.). Hidrologia: ciência e aplicação. 3.ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS: ABRH, 943p, 2002.
- BRAYNER, F. M. M.; SILVA, H. K. P.; BARBOSA, A. M. F. Speciation of heavy metals in estuarine sediments in the Northeast of Brazil. **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.**, v. 8, n. 4, p. 269-274, 2001.
- FESTING M.F.W. et al. Reducing the use of laboratory animals in biomedical research: problems and possible solutions. **Altern. Lab. Anim.**, v. 26, p. 283-301, 1998.
- GAIVÃO, I.; SIERRA L.M. *Drosophila* Comet Assay: insights, uses, and future perspectives. **Frontiers in Genetics**, v. 5, p. 1-8, 2014.
- KOENING, M. L.; MACÊDO, S. J.; TRAVASSOS, P. E. P. F.; PASSAVANTE, J. Z. O. Biomassa fitoplanctônica no estuário do rio Capibaribe (Recife - Pernambuco - Brasil). **Arq. Biol. Tecnol.**, v. 38, n. 4, p. 1071-1083, 1995.
- LENZ S., KARSTEN P., SCHULZ J.B., VOIGT A. *Drosophila* as a screening tool to study human neurodegenerative diseases. **J. Neurochem.** v. 127, p. 453-460, 2013
- MACEDO, S. J.; PHILIPPINI DA SILVA, H. K.; BRAYNER, F.M. M.; DUARTE, M. M. M. B.; BARBOSA, A. M. F. Heavy metal concentrations in sediments of the Capibaribe river estuary in the Metropolitan Region of Recife, Pernambuco-Brazil. **WIT Trans. Ecol. Environ.**, v. 102, p. 3-12, 2007.
- NORIEGA, C.E. et al. The instantaneous transport of inorganic and organic material in a highly polluted tropical estuary. **Mar. Fresh. Res.**, v. 64, n. 6, p. 562-572, 2013.

- OTTMANN, F.; OTTMANN, F. N. La maree de salinite dans le Capibaribe, Recife- Brasil. **Trab. Instit. Biol. Mar. Oceanogr. Univ. Recife**, v. 1, n. 1, p. 39-49, 1959.
- PARANAGUÁ, M. N.; NEUMANN-LEITÃO, S.; NOGUEIRA PARANHOS, J. D.; SILVA, T. A.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Cladocerans (Branchiopoda) of a tropical estuary in Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 65, n. 1, p. 107-115, 2005.
- PROJETEC. Plano Hidroambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Capibaribe. Tomo I - diagnóstico hidroambiental volume 01/03 / Projetos Técnicos. Recife, 389P., 2010.
- RAND, M.D. Drosophotoxicology: The growing potential for *Drosophila* in neurotoxicology. **Neurotoxicol. Teratol.**, v. 32, p. 74-83, 2010.
- SANTANA, S.L. et al. *Drosophila melanogaster* as model organism for monitoring and analyzing genotoxicity associated with city air pollution. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 25, p. 32409-32417, 2018.
- SANTOS, A.P.S. O encolhimento das águas: o que se vê e o que se diz sobre crise hídrica e convivência com o semiárido [livro eletrônico]. Ana Paula Silva dos Santos, Durval Muniz de Albuquerque Júnior, Ricardo Augusto Pessoa Braga et al (Orgs). Campina Grande: ISNA, 351p, 2018.
- SANTOS, C.A.G.; GALVÃO, C.O.; BRASIL NETO, R.M.; MENESES, I.A. **Variability of rainfall in the semi-arid region of Brazil**. HIC 2018 – Palermo 1-6 July, 2018.
- SIDDIQUE H.R., GUPTA S.C., DHAWAN A., MURTHY R.C., SAXENA D.K., CHOWDHURI D.K. Genotoxicity of industrial solid waste leachates in *Drosophila melanogaster*. **Environ. Mol. Mutagen.**, v. 46, p. 189-197, 2005.
- TRAVASSOS, P. E.; MACÊDO, S. J.; KOENING, M. L. **Aspectos hidrológicos do estuário do Rio Capibaribe** (Recife- Pernambuco) 1991.
- URIOL, E.; SIERRA, M.; COMENDADOR, M.A.; FRA, J.; MARTÍNEZ-CAMBLOR, P.; LACAVE, A.J.; et al. Long- term biomonitoring of breast cancer patient sunder adjuvant chemotherapy: the Comet Assay as a possible predictive factor. **Mutagenesis**, v. 28, p. 39-48, 2013.
- VERÇOSA, C.J.; MORAES FILHO, A.V.; CASTRO, I.F.A., et al. Validation of Comet Assay in Oregon-R and wild type strains of *Drosophila melanogaster* exposed to a natural radioactive environment in Brazilian semiarid region. **Ecotox. Envir. Safety**, v. 141, p. 148-153, 2017.

## 5 CONCLUSÕES FINAIS

O Ensaio cometa se mostrou adequado para o biomonitoramento da genotoxicidade de fontes hídricas. Os resultados indicam que *D. melanogaster* é adequada ao estudo dos efeitos das águas dos rios e alerta para o risco atual que a poluição pode representar para a saúde humana. Ficou demonstrado elevado potencial genotóxico das águas do rio Capibaribe, em oito locais investigados, na estação chuvosa. Na estação de estiagem apenas três locais estiveram nessa situação: CB40, CB55, CB80. Os pontos CB10 e CB 60 não apresentaram genotoxicidade significativa, quando comparados aos grupos controle negativo, nas duas estações do ano investigadas. Entretanto, as amostras de água destes locais foram classificadas como Muito Poluídos (MP) pelas análises da composição físico-química realizada pela CPRH (dados não mostrados). O ponto CB10 situasse à jusante da cidade de Limoeiro, local onde o rio é perene até o município de Recife-PE. O ponto CB60 é local em que o rio Capibaribe recebe água de dois de seus afluentes, o rio Goitá e o rio Tapacurá, na ponte a montante da usina Tiúma. O local é também de captação de água pela Companhia Pernambucana de Saneamento (COMPESA), no município de São Lourenço da Mata.

A maior ocorrência de genotoxicidade na estação chuvosa pode estar refletindo um efeito carreador das chuvas sobre o solo desprotegido, destituído da Mata Atlântica original, com consequente aumento da quantidade de substâncias tóxicas - tais como agrotóxicos, herbicidas e nematicidas – que escoam até o leito dos rios. Sugere-se a realização de análises físico-químicas acompanhadas de ensaios de genotoxicidade, para o biomonitoramento da bacia hidrográfica do Rio Capibaribe, com vistas a uma efetiva melhoria da qualidade da saúde humana e do meio ambiente.

## REFERÊNCIAS

- ACIOLE, E.H.P; GUIMARÃES, N.N.; SILVA, A.S.; AMORIM, E.M.; NUNOMURA, S.M.; GARCIA, A.C.L.; CUNHA, K.S.; ROHDE, C. Genetic toxicity of dillapiol and spinosad larvicides in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Pest Manag. Sci.**, West Sussex-UK, v. 70, n. 4, p. 559-565, 2014.
- ADAMS, M.D., CELNIKER S.E., HOLT R.A., EVANS C.A., GOCAYNE J.D., AMANATIDES P.G., et al. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. **Science**, Nova York-NY v. 287, n. 5461, p. 2185-2195, 2000.
- ADEOGUN, A.O. et al. Environmental occurrence and biota concentration of phthalate esters in Epe and Lagos Lagoons, Nigeria. **Marine Environmental Research**, Oxford, v. 108, p. 24-32, 2015.
- ALVES, E. C. et al. Avaliação da qualidade da água da bacia do rio Pirapó-Maringá Estado do Paraná-BR, por meio de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos. **Acta Sci. Technol.**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 39-48, 2008.
- AMARAL, V. S.; SINIGAGLIA, M. ; REGULY, M. L. ; ANDRADE, H. H. R. Genetic toxicity in surface water from Guaíba Hydrographic Region under the influence of industrial, urban and agricultural sewage in the *Drosophila* Wing-Spot Test. **Environmental Pollution**, England, v. 139, n .3, p. 469-476, 2006.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Reservatórios do Semiárido Brasileiro: Hidrologia, Balanço Hídrico e Operação: Relatório Síntese. Agência Nacional de Águas – Brasília-DF, 2017.
- ANJOS, D. L.; PASSAVANTE, J. K. O.; SILVA-CUNHA, M. G.G.; HONORATO DA SILVA, M. Biomassa fitoplanctônica correlacionada aos fatores hidrológicos no estuário do rio Capibaribe (Recife, Pernambuco, Brasil). **Trop. Oceanogr.**, Recife-BR, v. 40, n. 1, p. 167-184, 2012.
- ARIAS, A.R.L; BUSS, D.F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A.F.; FREIRE, M.M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D.F. Use of bioindicators for assessing and monitoring pesticides contamination in streams and rivers. **Ciênc. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 61-72, Mar. 2007 .
- AZQUETA A., COLLINS A.R., The essential Comet Assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. **Arch. Toxicol**, Germany, v. 87, p. 949-968, 2013.
- BÄCHLI G. TaxoDros: The database on Taxonomy of Drosophilidae. **Base de Dados**, [S.l.], 2014. Disponível em: <http://taxodros.unizh.ch>. Acesso em: 23 nov. 2017.
- BARELA, J.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. , Viçosa, v. 24, n. 2, p. 371-378, 2006.
- BENFORD D.J., HANLEY B.A., BOTTRILL K., OEHLISCHLAGER S., BALLS M., BRANCA F., CASTENGNARO J.J., DESCOTES J., HEMMINIKI K., LINDSAY D., SCHITTER B. Biomarkers as predictive tools in toxicity testing. **Atla. Lab. Anim.**, London-UK, v. 28, n.1, p.119-131, 2000.

BERTONI, J. C.; TUCCI, C. E. M. **Precipitação**. In: TUCCI, C. E. M. (Org.). Hidrologia: ciência e aplicação. 3. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS: ABRH, 2002. 943 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Hidrologia**. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/noticias/meio-ambiente/2016/09/crise-hidrica-se-agrava-no-semiarido-brasileiro>. Acesso: 23 dez. 2018.

BRAYNER, F. M. M.; SILVA, H. K. P.; BARBOSA, A. M. F. Speciation of heavy metals in estuarine sediments in the Northeast of Brazil. **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.**, Illinois- US, v. 8, n. 4, p. 269-274, 2001.

BRUNKOW, R. F.; XAVIER, C. F.; DIAS, L. N.; DOMINGUES, L. L.; WOSIACK, A. C.; SANTANA, S. S.; ANDRADE, E. F. **Monitoramento da qualidade das águas dos reservatórios do estado do Paraná, no período de 1999 a 2004**. Curitiba-BR: Instituto Ambiental do Paraná, 2004. 13 p.

CAMPOS-JÚNIOR, E.O. et al. Assessment of genotoxic, mutagenic and recombinogenic potential of water resources in the Paranaíba River basin of Brazil: a case study. **J. Toxicol. Environ. Health A.**, London-UK, v. 79, n. 24, p. 1190-1200, 2016.

*DROSOPHILA* 12 GENOMES CONSORTIUM, London, v. 450, n.8, p 203-218, 2007.

EGITO, L. C. M.; MEDEIROS, M. G.; DE MEDEIROS, S. R. B.; AGNEZ-LIMA, L. F. Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. **Genet. Mol. Biol.**, São Paulo-BR v. 30, n. 2, p. 435-441, 2007.

FERVEUR, J. *Drosophila* behaviour, concepts and tools, from arousal to memory in fruitflies. **Behavioural Processes**, Netherlands, v. 29, n.2 p. v-vi, 2003.

FESTING M.F.W., BAUMANS V., COMBES D.R., HADLER M., HENDRIKSEN F.M., HOWARD B.R., LOVELL D.P., MOORE G.J., OVEREND P., WILSON M.S. Reducing the use of laboratory animals in biomedical research: problems and possible solutions. **Altern. Lab. Anim.**, London-UK, v. 26, n. 3, p. 283-301, 1998.

GAIVÃO, I.; SIERRA L.M. *Drosophila* Comet Assay: insights, uses, and future perspectives. **Frontiers in Genetics**, Laussane, v. 5. p. 1-8, 2014.

GRIMALDI, D.A. A phylogenetic, revised classification of genera in the Drosophilidae (Diptera). **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York-US, v. 197, p. 1-139, 1990.

KOENING, M. L.; MACÊDO, S. J.; TRAVASSOS, P. E. P. F.; PASSAVANTE, J. Z. O. Biomassa fitoplanctônica no estuário do rio Capibaribe (Recife - Pernambuco - Brasil). **Arq. Biol. Tecnol.**, Curitiba-BR, v. 38, n. 4, p. 1071-1083, 1995.

LENZ S., KARSTEN P., SCHULZ J.B., VOIGT A. *Drosophila* as a screening tool to study human neurodegenerative diseases. **J. Neurochem.**, Oxford-UK, v. 127, n. 4, p. 453-460, 2013

LINDAHL T. Instability and decay of the primary structure of DNA. **Nature**, London, v. 362, n. 6422, p. 709-715, 1993

MACEDO, S. J.; PHILIPPINI DA SILVA, H. K.; BRAYNER, F.M. M.; DUARTE, M. M. M. B.; BARBOSA, A. M. F. Heavy metal concentrations in sediments of the Capibaribe river estuary in the Metropolitan Region of Recife, Pernambuco-Brazil. *WIT Trans. Ecol. Environ*, London-UK, v. 102, p. 3-12, 2007.

MORAES, D. S. L. **Avaliação dos potenciais tóxico, citotóxico e genotóxico de águas ambientais de Corumbá-MS em raízes de *Allium cepa***. 2000. 158 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento)- Universidade Estadual de Londrina, Londrina-BR, 2000.

MORAES-FILHO, A.V.; CARVALHO, C.J.S.; VERÇOSA, C.J.; GONÇALVES, M.W.; ROHDE, C.; SILVA, D.M.; CUNHA, K.S.; CHEN-CHEN, L. *In vivo* genotoxicity evaluation of efavirenz (EFV) and tenofovir disoproxil fumarate (TDF) alone and in their clinical combinations in *Drosophila melanogaster*. **Mutat. Res. Gen. Tox. En.**, Amsterdam-NL v. 820, n. p. 31-38, 2017.

NIELSEN, M. H.; RANK, J. Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the *Allium* test. **Hereditas**, Lund, v. 121, n. 3, p. 249-254, 1994.

NORIEGA, C.E.; SANTIAGO, M.F.; FAÇANHA, P.; SILVA, M.D.G.G.; SILVA, R.A.; MONTES, M.D.J.F.; ARAÚJO FILHO, M.; COSTA, A.M.P.; ESKINAZI LEÇA, E.; NEUMANN-LEITÃO, S. The instantaneous transport of inorganic and organic material in a highly polluted tropical estuary. **Mar. Fresh. Res.**, Australia, v. 64, n. 6, p. 562-572, 2013.

ÖSTLING O., JOHANSON K.J. Microelectro phoretic study of radiation induced DNA damages in individual mammalian cells. **Biochem Biophys Res Commun.**, New York, v. 123, n. 1, p. 291-298, 1984.

OTTMANN, F.; OTTMANN, F. N. La maree de salinite dans le Capibaribe, Recife- Brasil. **Trab. Instit. Biol. Mar. Oceanogr. Univ. Recife**, Recife, v. 1, n. 1, p. 39-49, 1959.

PARANAGUÁ, M. N.; NEUMANN-LEITÃO, S.; NOGUEIRA PARANHOS, J. D.; SILVA, T. A.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Cladocerans (Branchiopoda) of a tropical estuary in Brazil. **Braz. J. Biol.**, São Carlos-BR, v. 65, n. 1, p. 107-115, 2005.

PEREIRA, R.S. Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos. **Revista Eletrônica De Recursos Hídricos**, IPH-UFRGS, Porto Alegre, v. 1, n. 1, p. 20-36, 2004.

PROJETEC. Plano Hidroambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Capibaribe. Tomo I - diagnóstico hidroambiental: Tomo V - Mapas. Projetos Técnicos. Recife, 2010. 389 p.

FERRARI, I. 1991. Teste do micronúcleo em cultura temporária de linfócitos. *In*: RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES, M. A. L. R.; MONTELEONE-NETO, R. (Org.). **Mutagênese, Teratogênese e Carcinogênese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética/Revista Brasileira, 1991. p. 107-112.

RAND, M.D. *Drosophotoxicology: The growing potential for *Drosophila* in neurotoxicology*. **Neurotoxicol. Teratol.**, New York, v. 32, n. 1, p. 74-83, 2010.

- RANK, J., NIELSEN, M.H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutat Res.**, Amsterdam,-NL, v. 418, n. (2.3) p. 113-119, 1998.
- REMSEN, J., O'GRADY, P. Phylogeny of Drosophilinae (Diptera: Drosophilidae), with comments on combined analysis and character support. **Mol. Phyl. Evol.** San Diego-US, v. 24, n.2 p. 249-264, 2002.
- RUBIN, G. M.; LEWIS, E. B. A brief history of *Drosophila*'s contributions for genome research. **Science**, New York-US, v. 287, n. (5461) p. 2216-2218, 2000.
- SANTANA, S.L.; VERÇOSA, C.J.; CASTRO, I.F.A.; AMORIM, E.M.; SILVA, A.S.; BASTOS, T.M.R.; SILVA NETO, L.J.; SANTOS, T.O.; FRANÇA, E.J.; ROHDE, C. *Drosophila melanogaster* as model organism for monitoring and analyzing genotoxicity associated with city air pollution. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, Landsberg-aL, v. 25, n. 32 p. 32409-32417, 2018.
- SANTOS, A.P.S; ALBUQUERQUE JÚNIOR, D.M.; BRAGA, R.A.P. et al. (Orgs). **O encolhimento das águas: o que se vê e o que se diz sobre crise hídrica e convivência com o semiárido**. Campina Grande: ISNA, 2018b. *E-book* (351 p).
- SANTOS, C. A. G.; GALVÃO, C. O.; BRASIL NETO, R. M.; MENESES, I. A. **Variability of rainfall in the semi-arid region of Brazil**. Palermo, v. 3, p. 1868–1875, 2018<sup>a</sup>. Disponível em: <https://easychair.org/publications/paper/z8Nw>. Acesso em: 14 mar 2019.
- SCHAEFFER, S.W.; BHUTKAR, A.; MCALLISTER, B.F. et al. Polytene chromosomal maps of 11 *Drosophila* species: the order of genomic scaffolds inferred from genetic and physical maps. **Genetics**, Austin v. 179, n. 3, p. 1601-1655, 2008.
- SHARMA, A.; SHUKLA, A.K.; MISHRA, M.; CHOWDHURI D.K. Validation and application of *Drosophila melanogaster* as an *in vivo* model for the detection of double strand breaks by neutral Comet Assay. **Mutat. Res.**, Amsterdam-NL, v. 721, n. 2, p. 142-146, 2011.
- SIDDIQUE H.R., GUPTA S.C., DHAWAN A., MURTHY R.C., SAXENA D.K., CHOWDHURI D.K. Genotoxicity of industrial solid waste leachates in *Drosophila melanogaster*. **Environ. Mol. Mutagen.**, New York-US v. 46, n.3, p. 189-197, 2005.
- SNUSTAD, D.P.; SIMMONS, M.J. Mutaç o, Reparo do DNA e Recombinaç o. In: **Fundamentos de Genética**. 2<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 14, p. 312-314, 2001.
- TRAVASSOS, P. E.; MAC EDO, S. J.; KOENING, M. L. **Aspectos hidrológicos do estuário do Rio Capibaribe** (Recife- Pernambuco) 1991.
- URIOL, E.; SIERRA, M.; COMENDADOR, M.A.; FRA, J.; MARTÍNEZ-CAMBLOR, P. et al. Long- term biomonitoring of breast cancer patient sunder adjuvant chemotherapy: the Comet Assay as a possible predictive factor. **Mutagenesis**, Oxford-UK, v. 28, n. 1, p. 39-48, 2013.
- VERÇOSA, C.J.; MORAES FILHO, A.V.; CASTRO, I.F.A., et al. Validation of Comet Assay in Oregon-R and wild type strains of *Drosophila melanogaster* exposed to a natural radioactive environment in Brazilian semiarid region. **Ecotox. Envir. Safety.**, Amsterdam-NL, v. 141, p. 148-153, 2017.

VERISSÍMO, ÉRICO. Felicidade é a certeza de que a nossa vida não está se passando inutilmente. Disponível em: <https://www.pensador.com/frase/NTYy/>

VICTORINO, C.J. **Planeta água morrendo de sede: uma visão analítica na metodologia do uso e abuso dos recursos hídricos**. Porto Alegre, EDIPUCRS, 2007. 231 p.

ZAHA, A.; FERREIRA, H.B.; PASSAGLLA, L.M.P. **Biologia Molecular Básica**. 3<sup>a</sup>. ed, Porto Alegre: Mercado Aberto, 2003.