

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTOXICOLÓGICO DO RIO SARANDI
(REALEZA-PR) ATRAVÉS DO TESTE MICRONÚCLEO EM *HOPLIAS
MALABARICUS***

**MARTHA MENIN^{1*}, DIANA PAULA PERIN¹, LUCIANA BOROWSKI
PIETRICOSKI²**

¹Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza ²Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza

*Autor para correspondência: Martha Menin (martha_menin@hotmail.com)

1 Introdução

Atualmente nota-se que a qualidade e diversidade do meio ambiente está comprometida e esse comprometimento em grande parte é devido às atividades humanas, dentre elas o modelo vigente da agricultura do País, que é baseada em produção de alimentos em grande escala e com excesso de agrotóxicos, sendo que este modelo afeta, além dos alimentos e solos, os rios e oceanos, pois resíduos de agroquímicos são levados pelas chuvas e depositam-se nas águas.

Diversos estudos têm demonstrado que os agrotóxicos podem ser genotóxicos e influenciar na fertilidade, composição genética e sobrevivência de populações. Na questão de composição genética, a exposição aos agentes genotóxicos acarreta em mutações de ponto e alterações cromossômicas, numéricas e/ou estruturais (BONASSI, 2011).

A análise dos efeitos de determinadas substâncias ou contaminantes químicos sobre organismos aquáticos têm sido realizada utilizando-se bioindicadores da qualidade das águas. O Teste de Micronúcleos representa um eficiente método para o biomonitoramento de populações expostas a agentes genotóxicos, além disso, o aumento da frequência de células micronucleadas tem sido relacionado à exposição a diferentes meios cancerígenos, corroborando assim no auxílio à prevenção de doenças (RIVEIRO, 2007).

O Teste de Micronúcleo pode ser desenvolvido em toda a diversidade de animais, sendo que no caso de animais aquáticos os peixes são mais comumente utilizados. No presente trabalho teste foi desenvolvido com a espécie *Hoplias malabaricus*, popularmente conhecida como traíra, encontrada comumente em todas as bacias hidrográficas da América

do Sul, exceto na região transandina e na Patagônia. A espécie é encontrada principalmente em ambientes lênticos, com grande quantidade de água parada ou com pouca correnteza, de alimentação carnívora, e foi escolhida, pensando nas suas características e na influência destas como boas indicadoras ambientais de genotoxicidade, sendo estes peixes altamente recomendados para determinados ensaios citogenéticos e proporcionando assim bons resultados para pesquisas (AMARAL et al, 2009).

2 Objetivo

O objetivo geral do presente projeto foi de avaliar o potencial genotoxicológico do Rio Sarandi em Realeza – PR utilizando-se do teste citogenético de micronúcleo em peixes da espécie *Hoplias malabaricus*, além de avaliar as anomalias nucleares em eritrócitos dos peixes coletados e colaborar com dados científicos sobre a qualidade da água de rios da região do sudoeste do Paraná.

3 Metodologia

Os espécimes foram coletados em seu ambiente natural, no Rio Sarandi, em uma propriedade rural nas coordenadas: 25°42'60"S 53°30'41"O. Foram coletados quatro (4) peixes, em datas diferentes, com o auxílio de anzóis e após a coleta os mesmos foram transportados em containers de plástico de 20L para o laboratório de Bioquímica da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza - PR. No laboratório foram acondicionados em aquários aerados, onde permaneceram por 24h, em média, antes do início das técnicas.

Para a coleta de sangue os animais foram transferidos para containers de plástico com água e com aproximadamente 7 gotas de eugenol por container, e após estarem sedados os mesmos foram transferidos para a bancada do laboratório. Coletou-se em média 1 a 2 mL de sangue por animal, e após a coleta o sangue foi depositado sob lâminas e foi realizada a técnica de esfregaço, estas ficaram no laboratório, em temperatura ambiente, por 24 horas para o procedimento de secagem. Após cada lâmina foi fixada em metanol por 15 minutos e corado, por 20 minutos, com Giemsa.

Para encontrar a coloração mais adequada foram realizados testes, nos quais aumentou-se gradualmente a quantidade de Giemsa. As lâminas da espécie 01 foram coradas com 5% de Giemsa, as lâminas do peixe 02 foram coradas com 5% e 10% de Giemsa,

no terceiro peixe a porcentagem de Giemsa utilizada foi de 20% e no último foi de 50%, que se provou como a coloração mais adequada às lâminas confeccionadas.

As lâminas foram analisadas em microscópios de luz com objetiva de 100X. As análises dos micronúcleos foram baseadas na classificação de Fenech (2000). Desta maneira, os critérios utilizados foram:

- O micronúcleo deve ser um terço menor que o núcleo principal;
- O micronúcleo não deve “tocar/encostar” no núcleo principal;
- O micronúcleo não deve refringir, deve ter a mesma coloração e intensidade do núcleo principal.

A mesma lâmina utilizada para a avaliação da genotoxicidade através do teste de micronúcleos também foi utilizada para analisar a citotoxicidade através de anomalias nucleares. Para isso, foram pesquisadas e contabilizadas as células binucleadas, células com núcleos “blebbed”, “lobed” e “notched” em 4.000 células por indivíduo.

4 Resultados e Discussão

Todas as lâminas analisadas demonstraram alterações nucleares e variações morfológicas e numerais distintas, porém foram encontradas poucas modificações celulares nas mesmas, nas quais encontraram-se apenas trinta e sete (37) micronúcleos (Imagem 01), cinquenta e quatro (54) células com alteração do tipo “Blebbed” (Imagem 02), dezessete (17) núcleos do tipo “Notched” e quatro (4) células binucleadas (Imagem 03).

Imagem 01: Exemplo de Micronúcleo

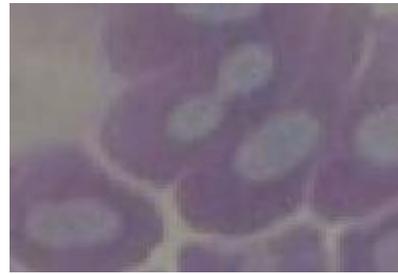


Imagem 02: Alteração tipo “Blebbed”



Imagem 03: Alteração do tipo “Notched”

Imagem 04: Exemplo de célula binucleada



5 Conclusão

Notou-se que foram encontradas diversas anormalidades nucleares, principalmente as do tipo “Blebbed”, e essas alterações podem ser resultantes da genotoxicidade da água do Rio Sarandi, por ser próximo de regiões agrícolas e podendo ter uma quantidade de resíduos de agroquímicos presentes na água, conclui-se assim que os biomarcadores, como teste de micronúcleo e pesquisa de anormalidades nucleares, são ferramentas importantes para avaliação da genotoxicidade ambiental.

Outros estudos devem ser realizados, com mais espécimes deste peixe do rio Sarandi para confirmar os resultados encontrados e proporcionar comparações e análises estatísticas entre as frequências dos micronúcleos e anormalidades nucleares. Além disso, seria interessante a realização de pesquisas relacionadas à qualidade da água na busca pela presença de agrotóxicos dentre outros componentes químicos.

Palavras-chave: Potencial Genotoxicológico; Agrotóxicos; Micronúcleo; Anomalias Nucleares.

Fonte de Financiamento

PIBIC/Fundação Araucária

Referências

AMARAL, Y.T.; SOUZA, M.C.; NOVELLI, R. et al. **Biologia da traíra (*Hoplias malabaricus*) na lagoa do Campelo, RJ** Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil, 13 a 17 de Setembro de 2009, São Lourenço – MG.

BONASSI, S., EL-ZEIN R, BOLOGNESI C, FENECH M.; **Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies**. Mutagenesis 26:93–100. doi: 10.1093, 2011.

FENECH, M. **The in vitro micronucleus technique**. Mutat Res 455:81-95. Nov, 2000.

RIVERO, C. L. G.; **Perfil Da Frequência De Micronúcleos E De Danos No DNA De Diferentes Espécies De Peixes Do Lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil**. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Patologia

M
o
l
e
c