

Gabriela Geremia<sup>1</sup>, Rodrigo Lemos Carneiro<sup>1</sup>, Valesca Veiga Cardoso Casali<sup>2</sup>, Emerson André Casali<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Estudos Sobre as Alterações Celulares e Teciduais, Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS, UFRGS;

<sup>2</sup>Laboratório de Mutagenese e Toxicologia, Centro Universitário Metodista- IPA.

## Introdução

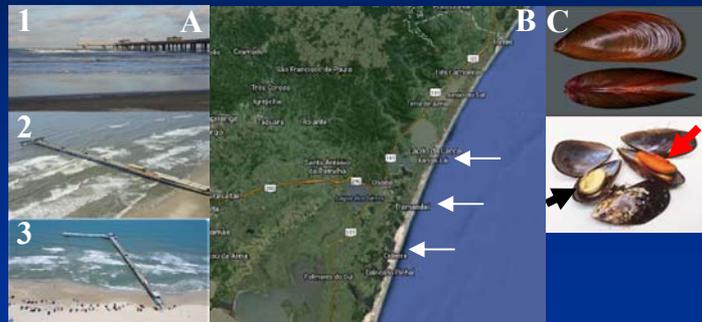
O Litoral Norte do Rio Grande do Sul reúne ecossistemas de grande vulnerabilidade ambiental e devido ao significativo crescimento demográfico está sujeito a vários impactos de origem antrópica. A contaminação de ambientes aquáticos vem aumentando significativamente tanto pelos avanços agrícolas e industriais quanto pela expansão populacional. As áreas costeiras abrigam uma maior concentração populacional, sendo o ambiente marinho o receptáculo final de diversos poluentes. O monitoramento das respostas biológicas pode indicar o nível de poluição e permitir uma maior eficácia na fiscalização dos despejos agrícolas, domésticos e industriais. Os moluscos bivalves estão entre os melhores biomonitoradores devido a sua ação filtradora. A espécie *Perna perna* (Linnaeus, 1758) é cosmopolita e ocorre ao longo da costa brasileira. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos mutagênicos, verificando as alterações na variação da frequência de hemócitos micronucleados em mexilhões *Perna perna* coletados nas Plataformas de Pesca de Cidreira, Tramandaí e Atlântida (Figura 1) utilizando, para isso, o Ensaio de Micronúcleos para indicar se há danos no DNA e nos cromossomos.

## Materiais e Métodos

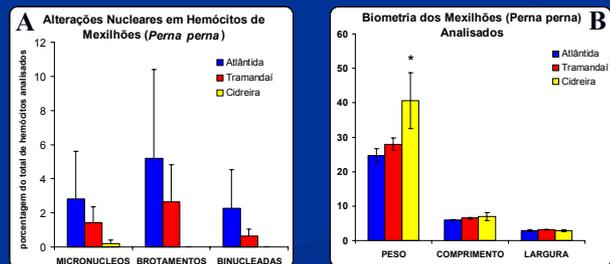
**Amostras:** Os mexilhões adultos da espécie *Perna perna* (MOLLUSCA: BIVALVIA) foram coletados nas Plataformas de Pesca de Cidreira, Tramandaí e Atlântida e, rapidamente transportados até o Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos (CECLIMAR) em recipientes (20l) com água marinha aereada em temperatura ambiente, até o momento do sacrifício. Foram seguidos os protocolos de acordo com o COBEA, baseado no Guia Nacional para Cuidado e Uso de Animais de Laboratórios. Os indivíduos selecionados para os experimentos tinham de 5 a 8 cm de comprimento o que é considerado por Narchi e Galvão-Bueno (1997) como o comprimento médio para a espécie (Figura 1).

**Teste de Micronúcleos:** Para obtenção dos hemócitos foi utilizada a técnica descrita por Silva *et al.* (2001). As conchas foram mantidas abertas com auxílio de uma pinça e utilizando uma seringa foi injetado 1ml de Carnoy no músculo adutor posterior e, em seguida removido 1ml de hemolinfa. O material foi fixado na seringa por 7 min e, então foram feitos esfregaços em 4 lâminas para análise microscópica. As lâminas foram flambadas e secas em temperatura ambiente. As lâminas foram coradas com Giemsa. Para determinação da frequência de hemócitos micronucleados (HMN) foram analisados 2.000 hemócitos normais por animal (500 hemócitos por lamina) anotando-se a frequência de hemócitos micronucleados (Figura 2).

**Análise de Dados:** Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão médio. A análise das diferenças estatísticas foi realizada através de ANOVA de uma via com post-hoc de DUNCAN e TUKEY. O nível de significância estabelecido foi  $p < 0,05$ .



**Figura 1:** A: Área de estudo mostrando as plataformas de pesca de Cidreira(1), Tramandaí(2) e Atlântida(3); B: Mapa Rio Grande do Sul; C: mexilhões adultos da espécie *Perna perna* (seta preta: macho, seta vermelha: fêmea).



**Figura 3A:** Alterações Nucleares em Hemócitos de Mexilhões Coletados nas Plataformas de Pesca de Atlântida (azul); Tramandaí (vermelho) e Cidreira (amarelo). As alterações foram determinadas como indicado no Material e Métodos. Os valores apresentados são apresentados como média $\pm$ erro padrão médio das porcentagens de células analisadas.

**Figura 3B:** Biometria dos Mexilhões Coletados e Analisados nas Plataformas de Pesca de Atlântida (azul); Tramandaí (vermelho) e Cidreira (amarelo). Os valores foram obtidos como indicado e são apresentados como média $\pm$ erro padrão médio das medidas de peso (g), comprimento (cm) e largura (cm) dos mexilhões.

\*indica diferença significativa do peso dos mexilhões coletados em Cidreira em relação aos demais ( $p < 0,05$ ), ANOVA de uma via (post hoc TUKEY e DUNCAN).

## Resultados e Discussão

As descargas de efluentes industriais, domésticos e de atividades agrossilvopastoris no ambiente resultam em poluição desses sistemas, sendo particularmente vulneráveis os sistemas aquáticos (Bernet *et al.*, 1999). No momento estamos analisando as lâminas de hemócitos dos mexilhões coletados no verão. Os dados obtidos pela biometria indicam que os mexilhões coletados em Cidreira são mais pesados que os demais apesar de não diferirem em relação ao comprimento e largura da concha, análises futuras (histológicas) poderão responder essas diferenças. Os resultados das contagens preliminares das análises de alterações nucleares não indicam diferenças entre as áreas estudadas. Os dados obtidos acrescentados a mais análises (dados parciais) inclusive em outras estações do ano podem auxiliar no biomonitoramento a longo prazo já que estes vem se mostrando uma ferramenta importante no combate a poluição fornecendo dados que podem ser úteis na indicação de um possível responsável por alterações no ambiente além de fornecer dados sobre a qualidade da água do local.



**Figura 2:** Alterações nucleares analisadas em hemócitos de mexilhões *Perna perna*: A-Micronúcleo; B-Núcleo com Brotamento; C-Célula binucleada. (aumento de 1000X)