

Pereira Jr, J.L.¹, Casali. EA¹

¹Laboratório de Estudos Sobre as Alterações Celulares e Teciduais, Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS, UFRGS.

Introdução

O Litoral Norte do RS apresenta uma grande quantidade de corpos d'água que são as principais fontes de abastecimento para os municípios da região, além de ser local de atividades econômicas importantes como a pesca artesanal, que é uma das principais atividades de subsistência. Esse tipo de ambiente apresenta um ecossistema complexo onde diversas espécies se reproduzem e se desenvolvem.

Devido a grande expansão urbana, cada vez mais esses corpos d'água estão sofrendo com o despejo de substâncias providas das mais diversas atividades, sejam elas industriais, agrícolas ou domésticas. O sistema de teste de micronúcleo em raízes da *Allium cepa* (cebola) é considerado um dos melhores indicadores para estudos de monitoramento ambiental, por apresentar grande sensibilidade e exatidão as mudanças ambientais e porque suas raízes possuem um processo mitótico acelerado (GAVRONSKI, 2008).

Este estudo busca avaliar a ocorrência de citotoxicidade e genotoxicidade através do Sistema Teste de *Allium cepa* cultivada nas águas coletadas nas lagoas do Armazém, Custódia, Gentil, laguna de Tramandaí e saída de efluentes do Terminal Petroquímico Almirante Soares Dutra (TEDUT), RS, Brasil, nas estações de verão e inverno do ano de 2015.

Materiais e Métodos

Amostragem: As amostragens seguiram os padrões estabelecidos pela ABNT NBR 9897 (Planejamento de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores) e NBR 9898 (Preservação e Técnicas de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores). As coletas foram realizadas em no mês de março de 2015, nas Lagoas do Gentil, Lagoa das Custódias, Laguna do Armazém, Laguna Tramandaí e na desembocadura do Terminal Petroquímico Almirante Soares Dutra (TEDUT) de Osório (Figura 1). Durante a amostragem também foram obtidos dados como profundidade, transparência e temperatura.



Figura 1: A: Mapa Rio Grande do Sul; B: Área de estudo; C: saída do TEDUT

Avaliação da Ação Mutagênica: O teste de micronúcleos em *Allium cepa* foi realizado de acordo com FISKESJÖ (com a adaptação de MENEGUETTI *et al.*). Foram utilizados bulbos de *Allium cepa* (tamanho pequeno, uniforme, mesma origem, não germinados e saudáveis). As raízes secas foram extraídas e os bulbos foram postos a germinar protegidos da incidência direta da luz solar com a parte inferior imersa nas águas coletadas (3 bulbos foram germinados em água destilada e deionizada como controle). Para cada amostra foram utilizadas 3 réplicas. Quando as raízes atingiram o comprimento de 0,5 a 3cm, foram coletadas, lavadas em água destilada, hidrolisadas com HCl 1M por 10 min a 60°C. Posteriormente foram removidas as radículas e foram feitos esfregaços em lâminas histológicas que foram então mantidas em temperatura ambiente para secagem. As lâminas foram coradas com o Kit Panótico Rápido LB (Figura 2).



Figura 2: Cultivo de *Allium cepa* em efluente e água deionizada: A-Preparação do bulbo; B-Germinação das raízes; C-Hidrólise em HCl em banho-maria; D-Extração do meristema radicular; E-Coloração das lâminas.

Posteriormente, as lâminas foram lavadas em água deionizada (pH 7,0) e secas à temperatura ambiente. Após a finalização com as lamínulas, foi realizada a análise das lâminas quanto a presença de micronúcleos, brotamentos e células binucleadas (assim como anomalias mitóticas) em 1.000 células em intérfase por bulbo por microscopia óptica, com um aumento de 400x. Além disso foram realizadas análises físico-químicas, para avaliar a qualidade dos efluentes, como pH, oxigênio dissolvido, nitrato, nitrito, fosfato, amônia total, amônia tóxica, ferro e cobre.

Estatística: A análise estatística dos dados foi realizada através de ANOVA de uma via utilizando o teste não-paramétrico de TUKEY para calcular a significância ($P < 0.05$). Os resultados foram expressos como média ± erro padrão médio (EPM).

Resultados

Os resultados prévios indicam um aumento de alterações celulares como células micronucleadas, e de outras alterações nucleares como atraso cromossômicos e brotamentos nas amostras do TEDUT e da Laguna do Armazém, quando comparadas com a Lagoa do Gentil e a Laguna Tramandaí. Os resultados acabam demonstrando que este tipo de ensaio de toxicidade pode refletir o efeito da interação de todos os constituintes do efluente sobre os organismos-teste.

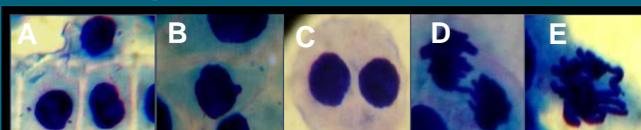


Figura 3: Alterações nucleares e mitóticas encontradas em meristema radicular de *A. cepa*: A- Micronúcleos; B- Broto nuclear; C- Célula binucleada; D- Ponte anafásica; E- Atraso cromossômico. Aumento 400X.

Discussão

Nossos resultados demonstram que este tipo de ensaio de toxicidade pode refletir o efeito da interação de todos os constituintes do efluente sobre os organismos-teste. Demonstra também padrões de citotoxicidade em algumas áreas amostradas e por outro lado, a qualidade dos outros recursos hídricos avaliados. Neste sentido, estudos futuros de acompanhamento de mutagenicidade e citotoxicidade nestas áreas serão realizados para permitir um acompanhamento da evolução da influência antrópica nestes ambientes tão importantes no litoral norte do RS. As descargas de efluente industriais, domésticos e de atividades agrossilvopastoris no ambiente resultam em poluição dos ecossistemas, sendo particularmente vulneráveis aos sistemas aquáticos.

Nossos resultados demonstram que mesmo efluentes perfeitamente **enquadrados nos padrões químicos de emissão estabelecidos pela legislação, podem apresentar toxicidade** e assim concluímos que as análises de emissão de efluentes deveriam ser **feitas de forma mais ampla utilizando-se também de ensaios com bioindicadores além dos físico-químicos usuais**. Dessa forma, a observação de padrões de citotoxicidade em algumas das áreas amostradas sugere que no futuro seja feito um acompanhamento da mutagenicidade e da citotoxicidade para se observar a evolução desse fenômeno. Além disso, essa é uma região de extrema importância, e a detecção de substâncias nocivas aos seres vivos poderá servir como subsídios para futura gestão da região.