

AValiação DA AMOSTRA DE ÁGUA DO RIO FUNDÃO (Município DE FUNDÃO/ES) POR MEIO DA ANÁLISE DAS ALTERAÇÕES DO CICLO CELULAR MITÓTICO, UTILIZANDO O *Allium cepa* COMO ORGANISMO TESTE.

Costa, T. C.¹, Malini, M.C.M.¹, Silva, A.B.², Matsumoto, S.T.¹
thaticappi@terra.com.br

¹ Depto. Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória/ES

² Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Cariacica/ES

Introdução

O meio aquático é um dos ecossistemas que mais sofre impacto ambiental. Estes aumentam progressivamente principalmente com o desenvolvimento industrial. Organismos aquáticos acumulam poluentes diretamente da água contaminada e indiretamente pela alimentação de organismos aquáticos contaminados. Os poluentes genotóxicos contaminam, além dos organismos aquáticos, todo o ecossistema e finalmente o homem através da alimentação. Portanto, o ambiente aquático deve ser monitorado¹. A investigação de agentes mutagênicos ambientais vem sendo alvo de crescentes estudos, pois as consequências de sua ação podem decorrer em mutações que ocorrem espontaneamente ou também de forma induzidas, quer seja por agentes físicos, químicos ou biológicos, aos quais o homem pode estar exposto. Os testes citogenéticos permitem a compreensão dos efeitos de algumas substâncias sobre os organismos-testes e mostram ser eficientes quando utilizados no biomonitoramento da extensão da poluição^{2,3}. Várias pesquisas têm sido realizadas para avaliar a toxicidade e citotoxicidade de recursos hídricos que recebem efluentes industriais e domésticos, através do teste de *A. cepa*⁴. Testes com *Allium cepa* (cebola) são adequados por oferecer parâmetros microscópicos como anáfases prematuras, aderência cromossômicas, pontes e fragmentação cromossômica, C-mitoses e micronúcleos, que são indicadores de eventuais mutações no conteúdo genético celular⁵. Acidentes com substâncias petroquímicas sobre este meio pode provocar danos que se estendem desde a fauna e flora do ambiente à saúde dos indivíduos em contato direto com a substância. Durante o mês de junho/2005, próxima a margem do rio Fundão, no Município de Fundão/ES, ocorreu um acidente envolvendo o produto óleo combustível tipo 1A. O presente trabalho tem como objetivo verificar as possíveis alterações no ciclo celular mitótico e as aberrações cromossômicas provocadas pela amostra de água do rio Fundão/ES, contaminado pelo produto óleo combustível 1A, por meio do ensaio de *Allium cepa*.

Materiais e Métodos

Foi realizada uma coleta de amostra de água do Rio Fundão/ES, no local onde ocorreu o acidente com o produto óleo combustível tipo 1A. Esta amostra de água contendo parte do óleo derramado foi submetida a um ensaio de solubilização de acordo com o protocolo NBR1006 da ABNT. Após este processo, uma solução à 25%(m/V) foi obtida. As análises citológicas (citotóxicas, mutagênicas e as aberrações cromossômicas) foram realizadas pelo sistema de *Allium cepa*. Sementes de *A. cepa* foram germinadas em água milli-Q até que as raízes atingirem aproximadamente 1 cm de comprimento. Posteriormente, essas raízes, foram submetidas a solução de óleo à 25% por 24 horas e 72 horas. O controle negativo foi realizado com água milli-Q e o controle positivo com metil metano sulfonato 4×10^{-4} M (MMS). Após os tratamentos, as raízes foram coletadas e fixadas em Carnoy 3:1 (3 partes de etanol para 1 de ácido acético), por 24 horas. As lâminas foram confeccionadas pelo método comum de esmagamento, onde os meristemas foram submetidos a uma hidrólise ácida em HCl 1N a 60°C por 8 minutos, seguido de uma lavagem em água destilada. A coloração foi feita com Reativo de Schiff, por duas horas em local escuro. Para a avaliação dos efeitos do óleo combustível sobre as células meristemáticas de *A. cepa*, foram analisadas aproximadamente 5.000 células de cada tratamento e dos controles negativo e positivo, onde investigou-se o número de células em divisão celular mitótica e células portadoras de aberrações cromossômicas. Todas as células que apresentaram alteração foram contadas e as mais significativas para cada alteração foram fotografadas para documentação do material. A análise estatística foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis.

Resultados e Discussão

Análise referente ao índice mitótico tem sido usado no monitoramento de águas, onde os resultados com o teste de *Allium cepa* podem indicar a presença de algumas substância citotóxicas, genotóxica ou mutagênicas ao ambiente⁴. A frequência do índice mitótico (IM), da amostra da solução de óleo combustível à 25%, não mostrou diferença significativa em relação ao controle negativo nos tratamentos de 20 e 72 horas. Esse resultado

demonstra que a solução em análise não apresentou efeito citotóxico nas células meristemáticas de *A. cepa*. Para a avaliação dos possíveis efeitos, do óleo, sobre o material genético do organismo teste, foi avaliada a frequência e os tipos de células com alterações cromossômicas durante o ciclo celular. Para o tratamento de 20 horas, o índice de células com aberrações da amostra de óleo combustível, foi significativamente superior ao controle negativo (0.02 e 0.01 respectivamente). A frequência de aberrações da amostra de óleo combustível, do tratamento de 72 horas, foi significativamente superior (0.01) ao observado para o controle negativo (0.004). As aberrações cromossômicas mais frequentemente observadas na análise foram células com micronúcleo, c-metáfase, anáfase multipolar e aderência, perda e quebra cromossômica. Esse resultado sugere a atuação do óleo combustível, nas células meristemáticas de *Allium cepa*, como aneugênico e mutagênico, pois foi observada a atuação, do composto em análise, sobre o fuso mitótico e provocando quebras cromossômicas (efeito clastogênico). Os resultados dessa avaliação contribuem para a implantação de ações de recuperação, preservação e revitalização de ambientes aquáticos pelos órgãos ambientais do Estado do Espírito Santo.

Referências Bibliográficas

- ¹MATSUMOTO, S. T.; MARIN-MORALES, M. A. Mutagenic potential evaluation of the water of a river that receives tannery effluent using the *Allium cepa* test system. **Cytologia**. v.69. p.399-408. 2004.
- ²MORAES, D.S.L.Avaliação dos potenciais tóxicos, citotóxicos e genotóxicos de águas ambientais de Corumbá-MS em raízes de *Allium cepa*. **Dissertação, para obtenção do título de mestre junto ao Curso de Genética e Melhoramento da UEL – Londrina/Pr. 158p., 2000.**
- ³MATSUMOTO, S.T. Estudos sobre a influência de efluentes potencialmente genotóxicos, derivados de curtume, na contaminação de recursos hídricos da região de Franca/SP. Tese, para obtenção do título de Doutor junto ao Curso de Genética da UNESP – São José do Rio Preto/SP, 216p., 2004.
- ⁴SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOUKA, M.; TOMAN, M.J. The evaluation de waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutation Research**, v.368, p. 171-79, 1996.
- ⁵QUINZANI-JORDÃO, B. Ciclo celular em meristemas. La formación de intercâmbios entre cromátidas hermanas. **Tese de Doutorado, Universidade de Complutense, Madrid, 276p. 1987.**