



EFEITO GENOTÓXICO DA EXPOSIÇÃO DE ZEBRAFISH (*Danio rerio*) EM ÁGUA DO RIO CAVEIRAS

Lucas de Oliveira Bandieri¹, Alice da Cruz Machado², Beatriz Antunes de Souza³, Mariana Uczay⁴,
Carla Ivane Ganz Vogel⁵

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária - CAV - bolsista PROBIC/UDESC

² Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – CAV.

³ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – CAV.

⁴ Acadêmica de Doutorado do PPG em Ciências Biológicas: farmacologia e terapêutica - UFRGS

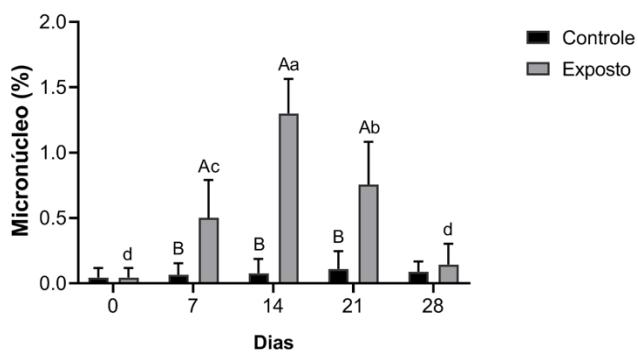
⁵ Orientadora, Departamento de Produção Animal e Alimentos, PPG Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular – CAV – carla.vogel@udesc.br

Palavras-chave: Teste do micronúcleo, ecotoxicologia, paulistinha.

Os ecossistemas de água doce estão sob intensa pressão antropogênica e, como consequência, a disponibilidade de água potável está diminuindo e o equilíbrio dos ecossistemas também está se deteriorando. Unindo o rápido crescimento populacional com as falhas na construção de grandes cidades, observam-se muitos problemas de poluição, com destaque para os ambientes aquáticos próximos aos grandes centros urbanos do quais provém os recursos hídricos distribuídos para a população. O Rio Caveiras está situado na região serrana de Santa Catarina e abastece a cidade de Lages, além de receber os efluentes industriais de uma cervejaria e os efluentes urbanos do município. Desta forma, devido à importância deste rio na região, o trabalho teve por objetivo realizar o biomonitoramento de contaminação aquática utilizando o peixe *Zebrafish* (*Danio rerio*) como bioindicador. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) sob protocolo nº 8337300816. A água foi coletada no ponto conhecido como BR-2 no Rio Caveiras em abril de 2019. Foram coletados aproximadamente 80 litros de água e utilizados 90 peixes para o experimento. Inicialmente os peixes foram mantidos por 15 dias para aclimatação no Laboratório de Piscicultura do CAV/UDESC e em seguida separados em dois grupos por 28 dias de período experimental, sendo que um grupo (controle) permaneceu na mesma condição do período de aclimatação e o outro grupo (tratado) foi mantido na água coletada do rio. Os dois grupos foram mantidos em temperaturas de 28,4°C ($\pm 1,2^\circ$), com aeração mecânica constante. Os níveis de amônia (<0,5 ppm) e pH (8,1 \pm 0,4) mantiveram-se semelhantes nos dois grupos. No 22º dia o grupo tratado foi colocado na água controle para avaliação de sua recuperação após a exposição à água do Rio Caveiras. Como biomarcador de genotoxidade foi executado o teste do micronúcleo (MN), realizado com esfregaço sanguíneo em triplicata. Os peixes foram anestesiados com tricáiná na dose de 168 mg/L e eutanasiados com a mesma substância em uma dose de 0,6 mg/mL. Posteriormente o sangue foi retirado e feita a confecção das lâminas. Estas foram analisadas em microscópio óptico em aumento de 100 X, em teste cego contando-se 1000 células/lâmina. Apenas foram considerados para análise eritrócitos nucleados com membrana citoplasmática intacta. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), levando em consideração tempo, tratamento e a interação entre eles. Quando observado diferenças

significativas, as médias foram comparadas por meio do teste de Tukey. Foi considerada uma significância de 5%. As análises estatísticas e a confecção do gráfico foram realizadas com auxílio do software estatístico GraphPad Prism 8.0. Os resultados do teste do micronúcleo podem ser observados na figura 1. Houve diferença significativa na taxa de micronúcleos tanto entre os aquários (tratamento e controle), quanto entre os dias 7, 14 e 21 do aquário em que estava a água do rio. A volta dos animais para a água controle no vigésimo segundo dia foi efetiva para diminuição da frequência de MNs encontrados. As frequências basais de MN em diferentes espécies de peixes variam de 0 a 1%. Neste estudo as médias de MN foram maiores que 1% no dia 14 e 21 no aquário tratamento. Uma frequência alta de MN pode ser um indicador de substâncias com efeitos genotóxicos, uma vez que os micronúcleos se originam de fragmentos cromossômicos acêntricos (efeito clastogênico) ou de cromossomos inteiros que não completam a migração anafásica da divisão celular (efeito aneugênico). Alguns estudos de exposição crônica a poluentes demonstram que a frequência de eritrócitos micronucleados tende a diminuir após o 15º ou 21º dia de exposição, sendo a informação confirmada neste trabalho. Os resultados demonstram que as lesões que ocorreram no DNA dos peixes após serem submetidos à água do rio foram suficientemente grandes para não serem reparadas antes de se iniciar o processo de divisão celular, e dessa forma foram perpetuadas para as células filhas. Tendo em vista apenas o sangue como parâmetro de avaliação, pode não se dar a devida importância para os achados, já que os eritrócitos vivem em média 120 dias, porém, não se deve esquecer que esses danos atingem o corpo de forma sistêmica, não sendo eliminados com facilidade como o sangue, podendo trazer problemas de mal funcionamento de órgãos e possível desencadeamento neoplásico pela sensibilização das células pela exposição crônica à água. Desta forma, os resultados obtidos reforçam a importância de maiores estudos com bioindicadores para o monitoramento da qualidade da água do Rio Caveiras.

Fig. 1: Frequência de micronúcleos encontrados em eritrócitos de Zebrafish expostos à água do Rio Caveiras.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos e letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os tempos no tratamento específico pelo teste de Tukey.