

EFICÁCIA DO ENSAIO COMETA APLICADO EM HEMOLINFA DE OSTRAS PARA VERIFICAÇÃO DE LESÕES OXIDATIVAS EM DNA¹

Caroline Kuhnen Lima², Alaide Cristina de Bem Matos³, Carla Ivane Ganz Vogel⁴, Daiane Bitschinski⁵, Eduardo Alves de Almeida⁵, Karim Hahn Luchmann⁶.

¹ Vinculado ao projeto “Diagnóstico piloto da contaminação de ambientes costeiros de Santa Catarina por poluentes emergentes e seus potenciais efeitos em bivalves marinhos”

² Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, CAV/UDESC – Bolsista PROBIC/UDESC

³ Mestranda do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, CAV/UDESC

⁴ Doutora, Departamento de Produção Animal, CAV/UDESC

⁵ Pesquisadores participantes da FURB

⁶ Orientadora, Departamento de Educação Científica e Tecnológica, CEAD/UDESC
karim.luchmann@udesc.br

O litoral de Santa Catarina caracteriza-se por apresentar uma densidade demográfica elevada quando comparada às demais regiões do país. Nestas regiões as atividades antrópicas podem levar à poluição do ambiente marinho, podendo impactar toda a biota costeira. Desta maneira, há a necessidade em estudar sobre o impacto dessas atividades em relação à biota. Os micropoluentes orgânicos (MPOs), que são caracterizados por diversos produtos, como fármacos, produtos de uso pessoal, agrotóxicos, surfactantes, hormônios etc, possuem como descarte principal o ambiente marinho, e representam caráter emergente devido a sua toxicidade, capacidade de ser resistente à degradação e em destaque a bioacumulação em organismos vivos, como as ostras. As ostras são consideradas importantes bioindicadores de contaminação, em razão de bioacumular contaminantes do ambiente e gerar uma resposta rápida. Dessa forma, elas podem sofrer grandes impactos dos micropoluentes encontrados nos estuários, o que pode ocasionar danos genotóxicos, como danos oxidativos no DNA. Assim, seu estudo torna-se além de essencial para a preservação da costa, como também de interesse econômico já que a prática de cultivo de bivalves marinhos apresenta-se como uma importante fonte de atividade econômica no estado.

Em estudos ecotoxicológicos, o ensaio cometa é comumente utilizado como um biomarcador de genotoxicidade para detectar danos/lesões no DNA nos organismos expostos aos MPOs. É dado este nome porque ao observar as células individualizadas no microscópio, é possível visualizar DNA com aspecto de cometas (Figura 1), no caso um núcleo central com uma cauda. Muitos poluentes têm a capacidade de gerar quebras no DNA formando então a cauda do cometa. Estudos realizados com outros animais aquáticos, como peixes, expostos a poluentes, como o benzeno, foi observada maior frequência de danos ao DNA nos animais expostos por mais tempo (BÜCKER, 2006). Dentro desse contexto, este trabalho teve como objetivo analisar a eficácia do ensaio cometa aplicado em amostras de hemolinfa de ostras coletadas em regiões estuarinas do estado de Santa Catarina.

Dessa forma, foi realizada a coleta de ostras no inverno de 2021 em cinco locais: São Francisco do Sul, Itajaí, baías Norte e Sul (em Florianópolis) e Laguna, sendo que cada local contou com dois pontos de coleta, exceto Itajaí, com apenas um. De cada local, foram coletadas 10 ostras, totalizando 90 amostras na campanha de inverno, das quais seis eram do gênero *Saccostrea* sp. e as demais *Crassostrea* sp., cuja identificação molecular será realizada posterior por PCR-RFLP. Após a coleta em ambiente natural, as ostras foram imediatamente transportadas para os

laboratórios parceiros na UFSC e FURB, onde ocorreu a dissecação dos tecidos dos animais (Figura 2). Para a realização do ensaio cometa, 200 uL de cada ostra foram coletados através de seringa de 1 mL contendo 200 uL do conservante HBSS (Sigma) e mantidos a 4°C até o envio das amostras para o CAV/UDESC em Lages, local onde foi realizado o teste cometa. No laboratório do CAV, o processamento das amostras para o teste resultou na geração de quatro lâminas, duas “normais” e outras duas tratadas com peróxido de hidrogênio, servindo como um controle positivo da técnica.

O ensaio cometa aplicado em hemolinfa de ostras de ambos os gêneros (*Saccostrea* sp. e *Crassostrea* sp.) se mostrou eficaz, visto que ao visualizar as lâminas em microscópio de fluorescência, foram visualizados os cometas. Logo, será possível quantificar as lesões oxidativas em DNA de hemolinfa para avaliar os efeitos genotóxicos decorrentes da potencial presença de MPOs no litoral catarinense. Estudos semelhantes já foram realizados em outros locais e demonstraram a importância e eficácia do método em moluscos, como por exemplo na Tunísia, onde ostras foram expostas a diferentes tipos de águas da região e foi possível verificar qual delas houve maior dano genotóxico através do ensaio cometa (FATHALLAH, 2019).

A próxima etapa deste projeto consiste na quantificação dos danos em todas as lâminas preparadas, no qual serão computados 100 cometas por lâmina de acordo com a classificação da literatura (0 sem dano até 4 representando o dano máximo).

Fonte: Autoria própria

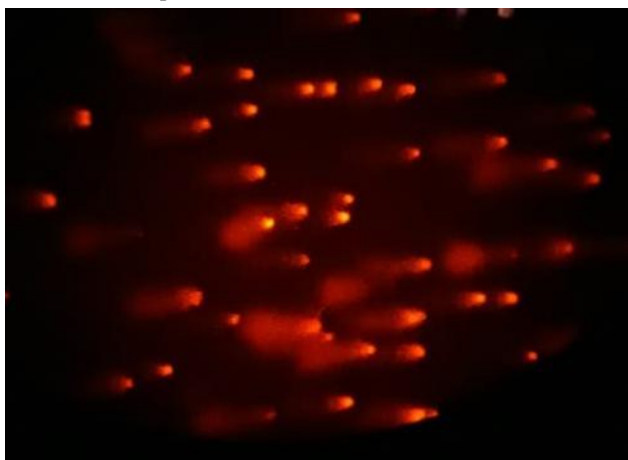


Figura 1. Cometas visualizados em microscópio.

Fonte: Daiane Bitschinski

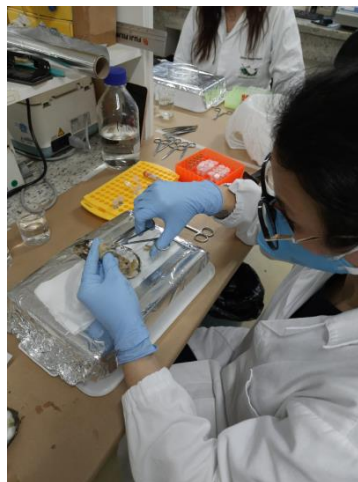


Figura 1. Dissecação de ostra.

Palavras-chave: Ensaio cometa. DNA. Ostras.