

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

Marina Andrade Tomaz¹, Lucas de Oliveira Bandieri², Mariana Uczay³, Rômulo Batista Rodrigues⁴, Luiz Claudio Milette⁵, Carla Ivane Ganz Vogel⁶

¹ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária - CAV - bolsista PIVIC/UDESC.

² Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária – CAV.

³ Acadêmica de Mestrado do PPG Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular – CAV.

⁴ Acadêmico de Doutorado do PPG em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

⁵ Professor, Departamento de Produção Animal e Alimentos – CAV.

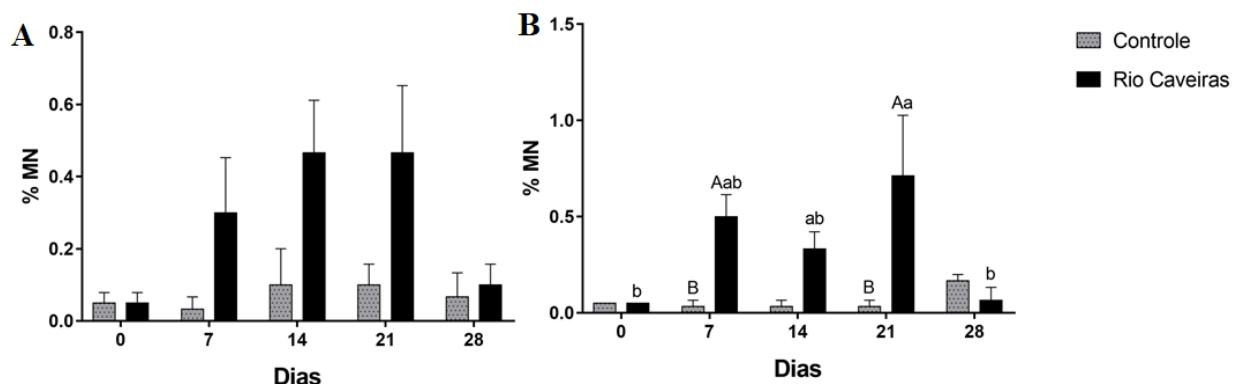
⁶ Orientadora, Departamento de Produção Animal e Alimentos – CAV – carla.vogel@udesc.br.

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 outubro de 2017 e fevereiro de 2018. Foram coletados aproximadamente 100 litros de água e utilizados 90 peixes para cada 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 27,1°C ($\pm 1,4^\circ$), com aeração mecânica constante. Os níveis de amônia (0 ppm) e pH ($7,8 \pm 0,3$) 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 da água do Rio Caveiras. Como biomarcador de genotoxicidade foi realizado o teste do micronúcleo (MN) realizado com esfregaço sanguíneo em triplicata. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico em aumento de 100 X, em teste cego contando-se 1000 células/lâmina. Apenas foram consideradas para análise eritrócitos nucleados com membrana citoplasmática intacta. Para a análise estatística aplicou-se a análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA) e quando observadas diferenças significativas as médias foram comparadas por meio

de teste de Tukey e de Bonferroni. Foi observado um aumento não significativo nas frequências de micronúcleos nos animais expostos nos dias sete, quatorze e vinte e um, e uma diminuição a partir do vigésimo segundo dia no experimento realizado em outubro de 2017 (FIGURA 1A). No experimento conduzido em fevereiro de 2018 (FIGURA 1B) foram observadas diferenças significativas na frequência dos micronúcleos em animais expostos nos dias sete e 21 em relação ao tratamento controle. Não foram encontradas diferenças significativas entre os dias dentro do tratamento controle, enquanto no tratamento do Rio Caveiras a porcentagem de danos foi maior no dia 21, não diferindo do dia sete e do dia 14. As frequências basais de MN em diferentes espécies de peixes variam de 0 a 1%. Neste estudo as médias de MN foram menores do que 1%. Uma frequência alta de MN pode ser um indicador de substâncias com efeitos genotóxicos uma vez que os micronúcleos se originam de fragmentos cromossômicos acêtricos (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, no entanto no presente trabalho as lesões foram perpetuadas até o 21º de exposição à água do Rio Caveiras. Estes 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. 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 encontrada em eritrócitos de zebrafish expostos à água coletada no Ponto Br-2 do Rio Caveiras em Lages, SC, Brasil.



A: água coletada em outubro de 2017; B: água coletada em fevereiro de 2018. Foi verificada interação “tratamento*tempo” ($F_{4,20}= 4,071; P=0,0142$), e também efeito isolado do tratamento ($F_{1,20}=14,1; P=0,0012$) e efeito do tempo ($F_{4,20}=2,504; P = 0,0748$). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos no tempo específico pelo teste de Bonferroni, e letras minúsculas diferentes indicam diferença entre os tempos no tratamento específico pelo teste de Tukey. Fonte: Mariana Uczay, 2018.