

APLICAÇÃO DO TESTE DE GENOTOXICIDADE COM *Tradescantia pallida* NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DA NASCENTE DE UM CÓRRIGO DO CAMPUS DA FATEC EM SOROCABA

Bregagnolo, L.; Silva, L. F.; Batalim, M.; Azeredo, T. V.; Irazusta, S. P.
Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais (NEPA) – Faculdade de Tecnologia de
Sorocaba - CEETPS-SP
silvia.pierre@hotmail.com

Palavras-chave: micronúcleo, genotoxicidade, *Tradescantia pallida*.

Introdução

A contaminação da água para abastecimento público é considerada uma das maiores fontes de risco para a saúde humana. Estas fontes contêm poluentes inorgânicos e orgânicos voláteis e não-voláteis derivados de contaminantes de origem agrícola, industrial e urbana, muitos deles com conhecidos efeitos tóxicos e genotóxicos.

Vários estudos têm avaliado a contribuição destes contaminantes na atividade genotóxica de ambientes aquáticos, por meio de ensaios com diferentes organismos indicadores sensíveis (VARGAS; MOTTA et al, 1988). Além dos poluentes, há também, indicações de que a desinfecção por cloro tradicionalmente usada para tratamento de água potável pode gerar produtos mutagênicos por sua interação com compostos orgânicos que ocorrem naturalmente (MEIER 1988) ou derivados de processos antrópicos. (UMBUZEIRO; ROUBICEK et al, 2004).

Entre os testes baseados em plantas, o bioensaio de micronúcleo (MNC) em *Tradescantia* (TRAD) é considerado, talvez, o mais sensível. O clone 4430 de *Tradescantia* é a linhagem indicada para estudos de genotoxicidade, embora a *Tradescantia pallida* tenha comparável sensibilidade.

Desde os primórdios dos estudos da atividade genética de compostos químicos e agentes físicos, várias espécies e clones do gênero *Tradescantia* têm sido utilizados como organismos experimentais, em virtude de uma série de características genéticas favoráveis. Apresentando apenas seis pares de cromossomos grandes e facilmente observáveis, células de quase todas as partes da planta, da ponta da raiz ao tubo polínico em desenvolvimento, fornecem material excelente para estudos citogenéticos (MA; GRANT, 1982).

Micronúcleos (MNC) são formados como consequência de quebras cromossômicas (clastogenicidade) e/ou distúrbios na divisão celular (aneugenicidade). A quantificação de MNC é considerada mais fácil do que a contagem de aberrações cromossômicas (CA) e, muitos estudos comparativos indicam que ensaios para quantificação de MNC são igualmente sensíveis para a identificação de genotoxinas (MA; GRANT, 1982).

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar por meio do teste de MCN-TRAD, a presença de compostos potencialmente genotóxicos numa nascente de um riacho, utilizada para consumo humano, dentro do Campus da Fatec, em Sorocaba. Também foi proposta uma avaliação da presença de coliformes fecais nas amostras.

Material e Métodos

Amostras:

As amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar, de 1 litro previamente esterilizados em autoclave. Os pontos amostrados foram a nascente e o lago.

Pesquisa de coliformes fecais

Foram realizadas análises bacteriológicas da água através do teste presença/ausência dos dois pontos amostrados – a nascente e o lago - As amostras foram semeadas em caldo de enriquecimento -Meio AOAC –Lethen Brth (BBL) por 24horas e depois este meio turvado foi semeado em Meio Mackonkey (Difco) para coliformes.

Ensaio de Trad-MCN

O ensaio de genotoxicidade foi realizado no Lab. de Ecotoxicologia do NEPA – FATEC – Sorocaba, segundo protocolo, segundo (MA; GRANT, 1982).

1. Somente influorescências jovens foram selecionadas para o tratamento (influorescências abertas eram velhas e não puderam ser usadas).
2. Foram necessárias 15 influorescências intactas para cada grupo experimental. Os caules devem foram cortados com 10-15 cm de comprimento, colocados em beckers com 200mL de água ou de amostra (25-50-100%) ou do controle positivo (Trifluralina a 1,68ppm).
3. O tempo de exposição foi de 6 horas para químicos puros (Trifluralina) e 24horas para a amostra, seguidos por um período de 24horas de recuperação, antes da fixação.
4. Depois da exposição das plantas, as influorescências foram removidas e fixadas em solução de aceto-etanol (1:3), que foi preparada imediatamente antes do uso.
5. Após 24horas de fixação, as influorescências foram estocadas em etanol 70% e guardadas por longo período de tempo.
6. Preparação da lâmina:
Depois de aberta a influorescência o botão correto foi dissecado, por meio de agulhas finas e, um pequeno número de células foi transferido para a lâmina.
Após este passo, uma gota de corante aceto-carmin foi adicionada sobre as células, e os restos celulares foram removidos cuidadosamente.
7. As lâminas foram cobertas com lamínula e delicadamente aquecidas a $\pm 60^{\circ}\text{C}$, por meio de uma lamparina. Pressionou-se cuidadosamente a lamínula sobre a lâmina, observando-se esta preparação ao microscópio.
8. A contagem dos MCN é realizada no aumento de 400X. Para cada grupo experimental, 5 lâminas de diferentes plantas devem ser preparadas e 300 tétrades de cada lâmina foram examinadas.
9. A frequência de MCN é calculada dividindo-se o número total de MCN pelo número total de tétrades contadas.
10. O valor é dado em nº de MCN /100tétrades. A média e desvio padrão são calculados para cada grupo e a análise de variação é feita pelo teste de t Student.

Resultados

Análise Bacteriológica

Ambas as amostras apresentaram resultado positivo, apresentando presença significativa de coliformes e *E.coli*.

Teste de MCN-TRAD

As análises realizadas com a exposição das plantas às amostras brutas da nascente e do lago apresentaram respectivamente, $2,64 \pm 0,76$ e $5,98 \pm 1,53$ % de MCN. O controle positivo com Trifluralina (1,68ppm), resultou em $2,84 \pm 0,8$ e o controle negativo (H₂O comum) apresentou $1,3 \pm 0,21$ nas condições laboratoriais utilizadas.

Discussão

O campus da Fatec em Sorocaba compreende um terreno de 8,5 hectares, que incluem uma área preservada de mata atlântica, um pequeno lago e uma nascente de corpo d'água, que é utilizada para consumo humano. Entretanto, esta estrutura encontra-se numa área de grande ocupação urbana. Baseados nestas informações analisamos a potencial contribuição de substâncias poluentes deste corpo d'água, no teste de genotoxicidade, por meio da avaliação da presença de MCN, por exposição de *Tradescantia pallida* à amostras desta água, na nascente e no lago receptor. Também pesquisamos a contaminação por coliformes fecais nestas amostras.

Os resultados mostram a inesperada presença de genotoxicidade na amostra do lago, equiparada à do controle positivo. Os valores para a amostra da nascente foram superiores isso levanta a hipótese de contaminação por ambiente externo à Fatec, pois apresentou um resultado significativo comparado com o controle negativo. Observa-se, dos resultados apresentados, que a taxa de MCN é alta em todas as amostras (testes e controles), em relação ao que se observa na literatura. Acreditamos que este fato se deva à origem de nossos organismos testes (TRAD), que são provenientes de um canteiro dentro do campus e não serem, como deveriam cultivados em "greenhouse", livres de qualquer exposição. É possível, portanto, que estas plantas contenham uma contaminação basal.

A pesquisa de coliformes fecais apresentou resultado positivo para a presença de bacilos G., com identificação de E.coli.

Estes resultados se devem, provavelmente, à resíduos originários de indústrias limítrofes ao campus.

Referência

CARDOSO, T.C.; ROSA, D.P.; FEIDEN, I.R.; ROCHA, J.A.V.; OLIVEIRA, N.C.D.; PEREIRA, T.S.; PASTORIZA, T.F.; MARQUES, D.M.; LEMOS, C.T.; TERRA, N.R.; VARGAS, V.M.F. Genotoxicity and toxicity assessment in urban hydrographic basins, **Mutation Research**. 603, p.83–96, 2006.

MA, T. H. *Tradescantia* cytogenetic tests (root-tip mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cell meiosis). A report of the U. S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**. v. 99, p. 293-302, 1982.

MA, T. H.; GRANT, W. F. The Tradescantias - adventurous plants. **The Herbarist**. v. 48, p.36-44, 1982.

MEIER, JR.; KNOHL, R.B.; COLEMAN W.E.; RINGHAND,H.P.; MUNCH, J.W.; et al., Studies on the potent bacterial mutagen, 3-chloro-4- (dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone: aqueous stability XAD recovery and analytical determination in drinking water and in chlorinated humic acid solutions, **Mutation Research**. 189, p.363–373, 1987.

MEIER, J.R.; Genotoxic activity of organic chemicals in drinking water, **Mutation Research** 196, p.211–245, 1988.

OHE, T.; WATANABE, T.; WAKABAYASHIC, K. Mutagens in surface waters: a review, **Mutation Research**. 567, p. 109–149, 2004.

UMBUZEIRO, G.A.; ROUBICEK, D.A.; RECH,C.M.; SATO, M.I.; CLAXTON,L.D. **Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the *Salmonella* assay and differentwater extraction procedures**, *Chemosphere* 54, p.1589–1597, 2004.

VALENT, G.U.; SATO, M.I.; COELHO, M.C.; COIMBRÃO, C.A.; SANCHEZ, P.S. **Monitoring São Paulo state rivers in Brazil for mutagenic activity using the Ames test**, *Environ. Toxicol.Water Qual.* 8, p.371–381, p.1991.

VARGAS, V.M.F.; MOTTA, V.E.P.; HENRIQUES J.A.P. **Analysis of mutagenicity of waters under the influence of petrochemical industrial complexes by the Ames test (*Salmonella*/microsome)**, *Gen. Mol.Biol.* 11 (3), p.505–518, 1988.

VARGAS, V.M.F.; R.R. GUIDOBONO, C. JORDÃO; HENRIQUES J.A.P. **se of two short-term tests to evaluate genotoxicity of river water treated with different concentration extraction procedure**,*Mutation Research.* 343, p. 31–52, 1995.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.