

AValiação DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DO EFLUENTE FINAL DE UMA REFINARIA DO ESTADO DE SÃO PAULO E DAS ÁGUAS DO RIO ATIBAIA, APÓS RECEBIMENTO DAS ÁGUAS SERVIDAS PELA INDÚSTRIA

Araújo, C.S.T.; Corroqué, N.A.; Carità, R.; Leme, D.M.; Fernandes, T.C.C.; Angelis, D.F.;
Marin-Morales, M.A.

Universidade Estadual Paulista – Campus Rio Claro
cris.talhiaferro@yahoo.com.br

Palavras-chave: mutagenicidade, efluente industrial, refinaria, *Allium cepa*.

Introdução

A utilização sustentável do meio ambiente tem sido questão de destaque para muitas indústrias, principalmente as do setor petroquímico, uma vez que suas atividades causam impactos desde a extração até o refino de seus produtos. Dentre os ambientes afetados, o meio aquático tem recebido atenção especial, pois são alvos diretos de contaminações derivadas de vazamentos de oleodutos e navios petroleiros, além de despejos dos efluentes das refinarias. Devido ao possível potencial mutagênico e carcinogênico dos químicos contidos nesses efluentes, os recursos hídricos relacionados com as atividades destas indústrias têm sido foco de estudo de pesquisadores preocupados com a poluição tanto marinha como de água doce (ALZIEU, 2000; GODWIN, 2001).

A mutagenicidade é um efeito tóxico que danifica, especificamente, o material genético da célula, causando uma mudança no DNA ou no cromossomo. A mutagenicidade de uma substância química pode ser avaliada por diversos modos de ação, tais como reação direta com o DNA nuclear; incorporação do DNA durante a replicação celular; interferência na divisão celular mitótica ou meiótica, decorrendo em divisão incorreta (TIMBRELL, 1999); presença de anormalidades e micronúcleos nas células. (MATSUMOTO, 2006; FERNANDES 2007; CARITÁ, 2008).

Bioensaios com plantas têm sido considerados bastantes sensíveis e simples e têm sido validados por instituições internacionais como a United Nations Environmental Program (UNEP), World Health Organization (WHO) e US Environmental Protection Agency (USEPA), pela sua eficiência no monitoramento dos efeitos genotóxicos e mutagênicos induzidos por poluentes ambientais (GRANT, 1999).

Dentre os vegetais superiores, *Allium cepa* (cebola) tem sido indicado como um eficiente organismo-teste de mutagenicidade (FISKEJÖ, 1985; MATSUMOTO et al., 2006; FERNANDES et al., 2007, LEME, 2008b; CARITÁ, 2008). Essa eficiência se deve às suas características cinéticas de proliferação, ao crescimento rápido de suas raízes, ao grande número de células em divisão, à sua alta tolerância a diferentes condições de cultivo, à sua disponibilidade durante o ano todo, pelo seu fácil manuseio e por possuir cromossomos em número reduzido ($2n=16$) e de grande tamanho (QUINZANI-JORDÃO, 1987; MATSUMOTO et al., 2006; FERNANDES et al., 2007, CARITÁ, 2008).

O objetivo deste trabalho foi investigar o possível potencial genotóxico e mutagênico dos efluentes de uma refinaria de petróleo do estado de São Paulo utilizando *Allium cepa* como organismo-teste para o estudo.

Metodologia

Material biológico

Para avaliar a possível ação mutagênica dos efluentes da refinaria de petróleo, sementes de *Allium cepa* (cebola, variedade baia periforme) foram utilizadas.

Local de coleta

As amostras de água foram coletadas na área de influência da refinaria em dezembro de 2007 (fim de primavera) e em abril de 2008 (outono), em sete pontos pré-estabelecidos, conforme descritos a seguir: P1: Água de capacitação pela refinaria – Rio Jaguari; P2: Entrada da lagoa de estabilização da refinaria; P3: Saída da lagoa de estabilização (água destinada aos despejos no Rio Atibaia, município de Paulínia-SP); P4: Água do Rio Atibaia - 200 metros à montante da emissão do efluente da refinaria; P5: Água do Rio Atibaia – 300 metros à jusante da descarga do efluente industrial tratado; P6: Entrada para o tratamento biológico do efluente bruto; P7: Água do rio Atibaia – 300 metros à jusante da descarga da Estação do Tratamento do efluente doméstico da indústria.

Avaliação da ação mutagênica: Teste de Aberrações Cromossômicas

Sementes de cebola foram submetidas a germinação em placas de Petri, forradas com papel filtro, nas diferentes amostras de águas coletadas, sendo utilizada uma placa de Petri para cada tratamento. Água ultra pura foi usada para o teste controle negativo (CN), e solução aquosa de 10µg/L de metilmetano sulfonato (MMS, Sigma-Aldrich, CAS 66-27-3) para o controle positivo (CP). Quando as radículas atingiram cerca de 2.0 cm de comprimento, elas foram coletadas e fixadas em álcool-ácidoacético (3:1-v/v) para serem, posteriormente, hidrolisadas em ácido clorídrico 1N a 60°C por 10 minutos e submetidas à reação de Feulgen. Para o preparo das lâminas, os meristemas radiculares expostos às amostras de água foram recobertos com lamínulas e, suavemente, esmagados em uma gota carmim acético (2%). As lamínulas foram retiradas em nitrogênio líquido e as lâminas montadas com resina sintética, para serem, posteriormente, analisadas em microscópio de luz.

Análise dos dados

As alterações celulares observadas durante a análise microscópica foram caracterizadas em 2 diferentes endpoints: 1) Aberrações Cromossômicas: (AC), células portadoras de perdas e fragmentos cromossômicos, pontes anafásicas e telofásicas, aderências cromossômicas, entre outras anormalidades, observadas nas diferentes fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase, telófase); 2) Micronúcleos (MN) observados durante a intérfase ou prófase e que se caracterizam por material genético perdido (fragmentos cromossômicos ou de cromossomos inteiros) durante o ciclo celular e que são facilmente identificados por apresentar um núcleo menor isolado do núcleo principal.

A análise de todos estes parâmetros se deu pela contagem de cerca de 5000 células para cada amostra de água coletada, sendo 500 células por lâmina, para um total de 10 lâminas. A análise estatística foi realizada pelo teste de Mann-Whitney, comparando os resultados dos pontos de coleta com controle negativo, a 0,05 de nível de significância.

Resultados

Os resultados observados, após análise das células meristemáticas expostas às amostras de águas coletadas em dezembro de 2007 e abril de 2008, estão apresentados na Tabela 1.

As águas coletadas em dezembro de 2007 apresentaram frequências de AC e MN, em geral, superiores às encontradas para o controle negativo. Os pontos 3 e 7 apresentaram índices significativos de MN, em relação ao controle negativo, sendo que o maior índice foi observado para o ponto 3. Em relação aos índices de AC, todos os pontos apresentaram diferenças estatisticamente significativas, quando comparados aos resultados do controle negativo, sendo que os maiores índices foram observados para o ponto 6.

Os resultados obtidos por meio do teste de A. cepa, após exposição da amostra de água do ponto 1, coletadas em abril de 2008, apresentou frequências estatisticamente significativas com relação a presença de aberrações cromossômicas e de indução de micronúcleos. As amostras de água dos pontos 2, 3, 4 e 5 apresentaram resultados significativos apenas quanto a indução de micronúcleos.

Tabela 1. Comparação das frequências de AC e MN observadas em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* expostas às águas dos pontos de coleta na área de influência de uma refinaria do estado de São Paulo, nos períodos de dezembro de 2007 e abril de 2008.

Pontos de coleta	AC		MN	
	Dez/ 2007	Abr/ 2008	Dez/ 2007	Abr/2008
CN	0.19±0.40	3.18±1.75	1.07±0.96	0.20±0.62
CP	3.91±3.31*	7.97±5.81*	6.41±4.30*	36.29±27.65*
P1	1.87±1.51*	7.89±5.32*	1.03±1.29	3.27±3.77*
P2	2.46±1.72*	1.52±1.28	1.53±1.12	2.10±1.58*
P3	6.33±4.32*	2.30±1.51	3.28±2.05*	1.77±2.35*
P4	8.65±3.67*	1.19±1.79	2.31±1.67	2.13±0.96*
P5	8.46±7.01*	1.42±1.20	1.62±1.66	3.03±2.75*
P6	15.06±10.18*	3.64±3.97	2.50±2.88	1.29±2.10
P7	8.35±4.22*	3.61±2.92	2.48±1.40*	0.81±1.96

5000 células analisadas por tratamento. Média±DP.*diferença significativa em relação ao controle negativo ($p<0.05$), de acordo com o teste de Mann-Whitney.

Discussão

Nossos resultados mostram que as águas coletadas em dezembro de 2007 apresentaram uma maior frequência significativa de aberrações cromossômicas e que as águas coletadas em abril de 2008 apresentaram maior frequência de micronúcleos.

Os resultados referentes aos pontos 1 e 4 não estão relacionados com as atividades da refinaria, pois o rio Jaguari (ponto 1) e o ponto 4 do rio Atibaia correspondem, respectivamente, ao local de captação de água pela refinaria e o ponto de coleta à montante da indústria. Logo, os efeitos observados para estas amostras, provavelmente, são derivados de outras atividades industriais, já que esta região é conhecida por concentrar uma alta diversidade de indústrias. Desta forma, a mutagenicidade amostras dos pontos 2 e 3 pode também ser decorrente de contaminação presente nas águas do ponto 1, que, quando

associada aos poluentes, dos pontos 2 e 3, resulta em uma resposta biológica decorrente do sinergismo. Da mesma forma podemos sugerir que os resultados observados para o ponto 5 podem também estar relacionados com a contaminação do próprio rio dado por outros contaminantes observados à montante do rio Atibaia.

Bibliografia

ALZIEU, C., Environmental impact of TBT: the French experience. **Science of the Total Environment**, v. 258, p. 99-102. 2000.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, p. 722-725. 2008.

FERNANDES, T. C. C. ; MAZZEO, D. E. C. ; MARIN-MORALES, M. A. . Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 88, p. 252-259, 2007.

FISKEJÖ, G. The *Allium* teste as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, p. 99-112. 1985.

GODWIN, A. H., The biological chemistry of lead. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 5, p. 223-227, 2001.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water - a case study. **Mutation Research**, v. 650, p. 80-86, 2008.

MATSUMOTO, S.T.; MANTOVANI, M.S.; MALAGUTTI, M.I.A.; DIAS, A.L.; FONSECA, I.C.; MARIN-MORALES, M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.29, p.148-158, 2006.

QUINZANI-JORDAO, B. Ciclo celular en meristemas. La formación de intercambios entre cromátidas hermanas. **PhD thesis, Universidad Complutense**, Madrid. 1987.

TIMBRELL, J.A. **Introduction to Toxicology**. 2^a ed. CRC: Taylor & Francis. 1999. 167p.

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.