

**ANÁLISE DE GENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE EM ERITRÓCITOS  
DE CÁGADO-DE-BARBELAS (*Phrynops geoffroanus* – TESTUDINES:  
CHELIDAE) POR MEIO DO TESTE DO COMETA**

Silva, M.I.A.; Venancio, L.R.V.; Maschio, L.R.; Zago, C.E.S.; Vizotto, L.D.; Azeredo-  
Oliveira; M.T.V.; Bonini-Domingos, C.R.  
Unesp – Campus de São José do Rio Preto  
bebel\_afonso@yahoo.com.br

Os répteis sofreram redução do número de espécies desde a época em que dominavam a terra até os dias atuais. Os quelônios apresentam distribuição global, mas são pouco estudados, principalmente quanto à sua caracterização citogenética e influência ambiental. O presente trabalho teve como objetivo investigar a possível presença de xenobiontes com potencial genotóxico e mutagênico, que são despejados no Rio Felicidade localizados na cidade de São José do Rio Preto/SP, por meio do teste do cometa, utilizando eritrócitos de *Phrynops geoffroanus*. Para a execução do projeto foram analisadas cinco amostras sanguíneas de *Phrynops geoffroanus*, provenientes do Rio Felicidade, ambiente poluído, ainda no perímetro urbano; e cinco amostras sanguíneas do Criatório de Japurá, Tabapuã-SP, como controle negativo. O Criatório é um local livre de exploração agrícola e atividade urbana, para desta forma, garantir que os exemplares não tenham sido expostos a qualquer xenobiótico. Foi realizada cardiocentese, com seringa heparinizada, para a retirada de cerca de 3cc de sangue de cada espécime. Uma amostra de 10 µl de sangue foi diluída em 1.000 µl de solução fisiológica. As lâminas foram montadas com 10 µl da suspensão celular + 120 µl de agarose de baixo ponto de fusão (0,5%), a 37° C. As lâminas permaneceram em uma solução de lise (1ml de triton X-100, 10 ml de DMSO e 89ml de solução de lise estoque, pH 10,0 – solução estoque: NaCl 2,5M, EDTA 100mM, Tris 10mM, ~8,0g de NaOH sólido para 1L) em geladeira por 1 hora. Após a lise, as lâminas permaneceram em tampão NaOH 300mM + EDTA 1mM (pH ~13), por 20 minutos em corrente de eletroforese a 25v, 300mA. A seguir foram neutralizadas com Tris 0,4M, por 15 minutos e fixadas em etanol por 10 minutos. Para cada amostra de sangue foram analisados 100 núcleos (em teste cego). As lâminas foram coradas com brometo de etídio (0,02 mg/ml). A análise foi feita ao microscópio de fluorescência, filtro B - 34 (excitação:  $\lambda = 420 - 490\text{nm}$ , barreira:  $\lambda = 520\text{nm}$ ), em objetiva de 40x. Os núcleos foram classificados visualmente de acordo com a migração dos fragmentos em: classe 0 (pouco dano); classe 1 (pequeno dano); classe 2 (médio dano) e classe 3 (grande dano). Os resultados obtidos com a análise do ensaio cometa mostraram uma formação de nucleóides com cauda, principalmente de danos 2 e 3, nas células dos espécimes do ambiente urbano e número reduzido de cometas para as células dos espécimes do Criatório. Como detectado pela técnica, a exposição “in vivo” às concentrações de químicos levaram a um aumento dos danos ao DNA, o que confere um potencial para a utilização deste parâmetro como parte de uma estratégia de biomonitorização. Uma série de compostos pode atingir as células em estudo, e ser detectado pela fragmentação do DNA.

APOIO: Fapesp