

Machado, L. S.; Silva, H. D.; Wosnjuk, L. A. C.; Anunciação, C. E. Avaliação de atividade genotóxica em águas pluviais pelo teste do *Allium cepa*. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG - CONPEEX, 2., 2005, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica** [CD-ROM], Goiânia: UFG, 2005. n.p.

---

## **Avaliação de atividade genotóxica em águas pluviais pelo teste do *Allium cepa***

Machado, L. S.<sup>1</sup>; Silva, H. D.<sup>2</sup>; Wosnjuk, L. A. C.<sup>3</sup>; Anunciação, C. E.<sup>4</sup>

Palavras-chave: genotoxicidade, *Allium cepa*, água

### **1. Introdução**

Ocupando cerca de 10% do território goiano, os recursos hídricos da bacia Hidrográfica do Rio Meia Ponte são largamente utilizados pela população para irrigação, piscicultura e abastecimento urbano, como é o caso da Capital, Goiânia. A bacia do ribeirão João Leite é um dos maiores afluentes do Rio Meia Ponte e utilizada como captação de água para consumo urbano. Ela, onde está sendo construída a barragem para fornecimento de água para a capital, além dos dejetos de esgotos residenciais de municípios como Anápolis e Marianópolis, recebe os esgotos provenientes do Distrito Agro-Industrial (DAIA) onde se encontra um dos maiores pólos farmoquímicos da América Latina e, resíduos de pesticidas das diversas culturas sazonais e de pivôs.

Evidências dos efeitos citotóxicos e genotóxicos à saúde humana, como câncer, defeitos congênitos e anomalias reprodutivas, têm sido mencionadas, como induzidas pela presença de resíduos químicos diversos provenientes de atividades agroquímicas. Embora tanto o Rio Meia Ponte quanto o ribeirão João Leite recebam a descarga de diversos produtos químicos e industriais, incluindo curtumes e agrotóxicos, nenhum levantamento no estado tem sido realizado sobre este potencial em sistemas vivos.

Diferentes testes citotóxicos e genotóxicos indicadores tem sido desenvolvidos para monitorar a qualidade de águas, entre eles os testes de Ames, Reversão da mutagenicidade em drosófila, em cultura de células, etc. Entretanto, muitos destes testes, embora sensíveis, são caros e exigem laboratórios sofisticados. Além seja um teste simples relativo ao teste de AMES, o teste do *Allium cepa* tem a vantagem de ser rápido e simples como descrito por (RANK,1998) verificado sob um sistema celular eucariótico, cuja fisiologia é mais próxima a das células dos mamíferos. É um teste ideal para iniciar o aprendizado e o ensaio de metodologias de citogeneticidade e citotoxicidade.

Tais procedimentos não tem sido relatados nem nunca foram utilizados na análise das águas fluviais no estado de Goiás e precisam ser determinados dados as inúmeras atividades industriais, agropecuárias e do uso urbanos ao longo da bacia do Rio Meia Ponte.

### **2. Metodologia**

#### **2.1 - Coleta das amostras**

O ponto inicialmente utilizado foi o lago do Bosque dos Buritis. A água foi coletada em galões de plástico de 40 L e utilizada imediatamente na fase de padronização

da técnica. Agora que este objetivo foi alcançado, o projeto entrará em sua segunda fase, que será a análise das águas dos rios João Leite e Meia Ponte para as devidas análises da citotoxicidade das águas de tais rios, que abastecem a cidade de Goiânia e região.

## 2.2 - Análise citológica

Bulbos de *Allium cepa* foram tratados, no primeiro momento, com água deionizada por um período de 48 horas. Após este período de 48 horas as raízes foram selecionadas para o grupo controle e colocadas em fixador. Os demais bulbos foram mantidos por tempo pré-estabelecido em amostras da água proveniente do lago, sendo divididos nos seguintes grupos:

48 horas de água deionizada e 24 horas de efluente;

48 horas de água deionizada e 48 horas de efluente;

24 horas de efluente;

48 horas de efluente

As raízes expostas às águas contaminadas, então, foram fixadas em uma solução de três partes de álcool etílico para cada parte de ácido acético, submetidas a hidrólise ácida em HCN 1N (60° C), por seis minutos e coradas com o Orceína a 2%. Para a visualização de possíveis efeitos sob a divisão celular, as raízes foram, então, esmagadas lâmina contra lâmina, rotuladas e observadas quanto às fases do ciclo celular em microscópio óptico comum. Os processos de mitoses foram contados em número de cerca de 5000 células por amostra.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Obtiveram-se resultados satisfatórios no processo de germinação dos bulbos tanto nos grupos controle quanto nos que se desenvolveram em efluente.

O fixador utilizado se mostrou satisfatório na conservação das raízes mantendo-as viáveis pelo tempo necessário para a confecção das lâminas.

O corante utilizado (Orceína a 2%) apresentou bons resultados, mas pretende-se também padronizar o uso de reativo de Schiff (leucoderivado de fucina básica) para resultados otimizados.

As lâminas confeccionadas desta maneira se mostraram viáveis para contagem por cerca de uma semana, um tempo relativamente curto. Por isso também pretende-se padronizar a técnica de confecção das mesmas com bálsamo do Canadá para que possam manter-se em boas condições de análise por um período de tempo maior.

A contagem de células feita através da microscopia óptica revelou resultados de acordo com o esperado, em que os bulbos germinados em efluente mostraram um alto teor de mitoses se comparados aos grupos controle assim como algumas aberrações nas fases de metáfase e anáfase, mostrando que a técnica apresenta boa sensibilidade para o estudo dos pontos-problema escolhidos.

Nos resultados observados no lago dos Bosques dos Buritis, constatou-se o seguinte:

No primeiro grupo, (48 horas de água deionizada e 24 horas de efluente), houve uma média de 15 mitoses a cada 5000 células, não sendo encontradas alterações nas mesmas.

No segundo grupo, (48 horas de água deionizada e 48 horas de efluente), o resultado foi semelhante, com cerca de 15 mitoses a cada 5000 células e

ausência de alterações cromossômicas.

No terceiro grupo, ( 24 horas de efluente), a taxa de mitoses foi acentuadamente maior, cerca de 40 a cada 5000 células. Elas apresentaram uma média de 15 cromossomos adiantados durante a metáfase, 10 cromossomos atrasados na metáfase e cerca de 3 casos de cromossomos em ponte.

No quarto grupo (48 horas de efluente), o número de células mitóticas foi maior, cerca de 50 a cada 5000 células contadas. As alterações cromossômicas foram da mesma forma mais numerosa, apresentando uma média de 23 cromossomos adiantados na metáfase, 14 cromossomos atrasados na metáfase e 6 casos de cromossomos em ponte.

O grupo controle (48 horas em água deionizada) apresentou uma média de 7 mitoses a cada 5000 células e nenhuma alteração cromossômica.

Esses resultados sugerem que as águas do efluente apresentam potencial mitótico, levando os bulbos submetidos à sua presença a um maior número de divisões. A presença de alterações cromossômicas na metáfase sugerem que o teste de *Allium cepa* apresenta sensibilidade suficiente para a análise da genotoxicidade das regiões alvo, o Rio meia Ponte e Ribeirão João Leite.

#### **4. CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos na fase de padronização da técnica se mostraram satisfatórios, permitindo que o projeto agora entre em sua segunda fase, a da análise genotóxica das águas fluviais a Bacia hidrográfica do Rio Meia ponte e do Ribeirão João Leite.

#### **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

RANK, J.; NIELSEN, M.H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research**, 418, p.113-119, agosto. 1998.

---

<sup>1</sup>Aluna voluntária de Iniciação Científica – Laboratório de Diagnóstico Genético e Molecular [lilindabio@hotmail.com](mailto:lilindabio@hotmail.com)

<sup>2</sup> Bolsista IC/PIBIC de Diagnóstico Genético e Molecular/ UFG. [hugo\\_bioufg@yahoo.com.br](mailto:hugo_bioufg@yahoo.com.br).

<sup>3</sup>IC/PIVIC - Laboratório de Diagnóstico Genético e Molecular/ UFG. [ludicida@yahoo.com.br](mailto:ludicida@yahoo.com.br).

<sup>4</sup>Orientador/Instituto de Biologia/UFG, [carloset@icb.ufg.br](mailto:carloset@icb.ufg.br)