

Gabriela Geremia^{1,2}, Emerson André Casali^{1,2,3}

¹Laboratório de Estudos Sobre as Alterações Celulares e Teciduais, Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS, UFRGS;

²Centro de Estudos em Estresse Oxidativo, Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS;

³Laboratório de Mutagênese e Toxicologia, Centro Universitário Metodista - IPA.

Introdução

O Litoral Norte do Rio Grande do Sul reúne ecossistemas de grande vulnerabilidade ambiental. Este ecossistema é parada para descanso e alimentação de vários mamíferos marinhos e aves migratórias. A região apresenta um vasto complexo de lagoas, e devido ao expressivo crescimento demográfico está sujeito a vários impactos de origem antrópica. O esgoto proveniente de centros urbanos, além dos efluentes agrícolas e industriais são responsáveis pela introdução de diversos compostos químicos no oceano. A contaminação química do ambiente marinho, além de gerar risco a saúde humana, pode causar danos sérios as espécies presentes no local. Os organismos quando submetidos a alterações ambientais tem sua fisiologia modificada podendo gerar danos sobre a situação do ambiente onde foram coletados. O monitoramento das respostas biológicas pode indicar o nível de poluição e permitir uma maior eficácia na fiscalização dos despejos agrícolas, domésticos e industriais. No ambiente aquático, moluscos bivalves estão entre os melhores biomonitoradores. A espécie *Perna perna* está presente nos locais de coleta durante todo o ano. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos mutagênicos, verificando as alterações na variação da frequência de hemócitos micronucleados em mexilhões *Perna perna*, utilizando para isso o Ensaio de Micronúcleos para indicar se há danos no DNA e nos cromossomos.

Materiais e Métodos

Amostras: Os mexilhões adultos da espécie *Perna perna* (MOLLUSCA: BIVALVIA) foram coletados nas Plataformas de Pesca de Atlântida, Tramandaí e Cidreira no período de Setembro de 2013, durante o inverno e rapidamente transportados até o Centro de estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos (CECLIMAR) em recipientes com água marinha aerada em temperatura ambiente, até o momento do sacrifício. Foram seguidos os protocolos de acordo com o COBEA. Os indivíduos selecionados para o experimento tinham de 5 a 8cm de comprimento, o que é considerado por Narchi e Galvão-Bueno (1997) como o comprimento médio para a espécie.

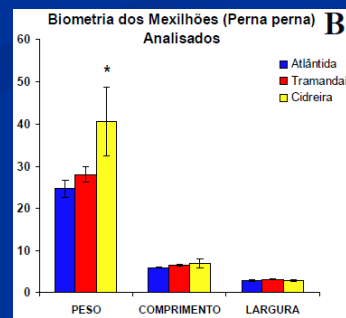
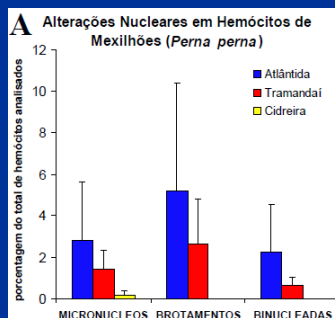
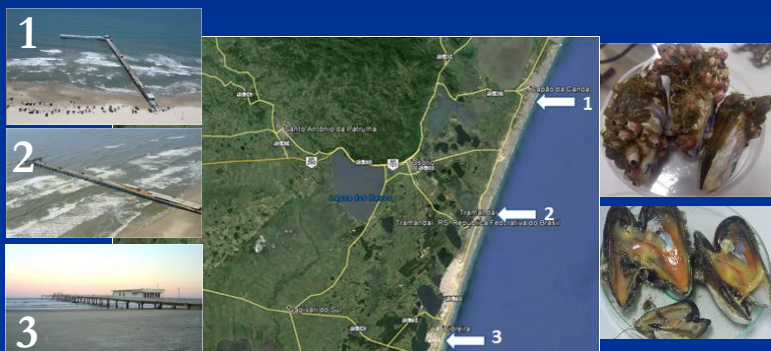
Teste de Micronúcleos: Para a obtenção dos hemócitos foi utilizada a técnica descrita por Silva *et al.* (2001). As conchas foram mantidas abertas com auxílio de uma pinça e utilizando uma seringa hipodérmica de 5ml foi injetado 1ml de Carnoy no músculo adutor posterior e, em seguida removido 1ml de hemolinfa. O material foi fixado na seringa por 7 minutos e, então foram feitos esfregaços em lâminas para análise microscópica. Após as lâminas foram secas, e então fixadas em uma solução de metanol por 10 minutos. As lâminas foram coradas com Giensa por 4 minutos, lavadas e deixadas secar em temperatura ambiente. Para determinação da frequência de hemócitos micronucleados (HMN) foram analisados 2000 hemócitos por indivíduo coletado. A análise das diferenças estatísticas foi realizada através de teste ANOVA de uma via com "post-hoc" de DUNCAN. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão médio. O nível de significância estabelecido foi de um $p < 0,05$.



Imagem: Alterações nucleares analisadas em hemócitos de mexilhões *Perna perna*: A-Micronúcleo; B-Núcleo com Brotamento; C-Célula binucleada. (aumento de 1000X)

Resultados

Os dados obtidos pela biometria indicam que os mexilhões coletados na Plataforma de Pesca de Cidreira são mais pesados que os demais, apesar de não diferirem em relação ao comprimento de concha. Análises histológicas poderão responder essas diferenças. Os resultados das contagens preliminares das análises de alterações nucleares não indicam diferenças estatísticas entre as áreas estudadas, porém há uns maiores índices de células micronucleadas, brotamentos e células binucleadas nos indivíduos coletados em Atlântida, seguido de Tramandaí. Em Cidreira houve somente ocorrência de micronúcleos apenas em um indivíduo analisado. Foram encontradas 37,5% células micronucleadas dos indivíduos analisados em Tramandaí. E 66,6% células micronucleadas dos indivíduos analisados em Atlântida e uma frequência de 20% células micronucleadas em indivíduos coletados em Cidreira.



Discussão

Os dados obtidos no projeto até o momento, acrescentados a mais análises, inclusive em outras estações do ano, podem auxiliar no biomonitoramento a longo prazo já que este vem se mostrando uma ferramenta importante no combate à poluição. Com os resultados obtidos podemos pressupor que há uma relação entre o número de alterações nucleares encontradas e a frequência com que essas alterações aparecem com a urbanização dos locais amostrados, que sofrem com o aumento demográfico desordenado em alguns meses do ano, bem como com a falta de tratamento de esgoto. O monitoramento ao longo do ano também poderá demonstrar a diferença do potencial mutagênico dos meses de inverno para os meses de verão, onde a população aumenta exponencialmente.

Conclusão

Trabalhos envolvendo esses organismos ainda são escassos ou ausentes nesta região, é muito importante realizar pesquisas nessa área e gerar dados para monitorar as possíveis mudanças no ambiente através dos organismos bioindicadores como o Mexilhão *Perna perna*. O teste do micronúcleo, utilizando mexilhões *Perna perna*, mostrou-se um teste rápido e prático para o monitoramento da poluição de ambientes marinhos. Um monitoramento passivo contínuo fazendo uso de organismos biomonitoradores nesta área é imprescindível para observar e identificar os efeitos da ação antrópica e talvez, com os resultados obtidos, associá-los com as atividades econômicas existentes na região.