



ANÁLISE PRELIMINAR DO POTENCIAL GENOTÓXICO DA ÁGUA DO LAGO DOS BURITIS DE GOIATUBA – GO

Renata Kikuda ¹
Junilson Augusto de Paula Silva ²
Débora de Jesus Pires ³

ANÁLISE PRELIMINAR DO POTENCIAL GENOTÓXICO DA ÁGUA DO LAGO DOS BURITIS DE GOIATUBA – GO

RESUMO:

A mutagenicidade pode estar associada a quebras cromossômicas provocadas por poluentes ambientais. O objetivo deste estudo foi analisar o potencial mutagênico dos poluentes presentes na água do Lago dos Buritis, cidade de Goiatuba - GO, analisando alterações cromossômicas em células meristemáticas de *Allium cepa* da coleta realizada no mês de junho de 2017. Dentre os bioensaios, o teste *Allium* é bastante utilizado em laboratórios de todo o mundo para análise de várias substâncias das quais se deseja conhecer o possível potencial mutagênico, indicando importante função como bioindicador para monitoramento ambiental. Os resultados indicam que os efluentes de origem variada estão exercendo efeitos nocivos no bioindicador utilizado, sendo importante realizar novos teste uma melhor caracterização físico-química, microbiológica somada a implantação de um biomonitoramento constante da água do Lago dos Buritis, bem como adotar medidas de controle e conversação do ambiente.

Palavras-Chave: Citotoxicidade; Genotoxicidade; Monitoramento Ambiental.

¹Mestranda (Pós Graduação Stricto Sensu em Ambiente e Sociedade, Universidade Estadual de Goiás. *Campus* Morrinhos, Brasil). E-mail rntkikuda@gmail.com

² Graduando (Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Goiás. *Campus* Morrinhos, Brasil). E-mail junilsomaugusto@gmail.com

³Doutora (Docente na Pós Graduação Stricto Sensu em Ambiente e Sociedade, Universidade Estadual de Goiás, *Campus* Morrinhos, Brasil). E-mail djbo_ueg@yahoo.com.br

A poluição ambiental, que gera danos ao ambiente e à saúde humana, por esta razão vem sendo assunto de discussão mundial desde os anos 70 do século passado. A poluição do ambiente em que vivemos afeta não só a população humana, mas também outros organismos tais como as plantas, os animais e os microrganismos (BIANCHI, 2008, p.6). Um ecossistema sadio garante que populações atuais e futuras se mantenham sem prejuízos, assegurando a sua preservação. Neste sentido é indispensável estabelecer e aplicar técnicas que possam indicar o modo de ação de agentes externos sobre os organismos expostos, além de definir estratégias que previnam a indução de mutações, principalmente, as causadas pelas atividades humanas (AZEVEDO, 2003).

Resíduos industriais, urbanos e agrícolas são lançados indiscriminadamente nos cursos d'água contaminando águas superficiais e sedimentos (EGITO et al., 2007). A poluição dos recursos hídricos pode provocar danos genéticos, como mutação, aos organismos. Uma mutação é definida como uma modificação na sequência de DNA, que resulta uma alteração herdável da função gênica. As substâncias que podem provocar alterações na sequência do DNA são considerados tóxicos para os genes e são, então, chamados de genotóxicos (RIBEIRO, 2003).

A disseminação de agentes químicos introduzidos no ambiente, que podem gerar possíveis alterações genéticas nos organismos, motivou o desenvolvimento de metodologias de avaliação de genotoxicidade de substâncias químicas (BRUSICK, 1987). Dentre os bioensaios, o teste *Allium* é bastante utilizado em laboratórios de todo o mundo para análise de várias substâncias das quais se deseja conhecer o possível potencial mutagênico, estimado pela frequência de aberrações e quebras cromossômicas expressando valiosas informações em relação à avaliação de amostras ambientais (RANK e NIELSEN, 1993). Para Bianchi (2008, p.25) análises de mutagenicidade em plantas são importantes pois podem indicar efeitos nocivos da poluição para a saúde humana, principalmente em países e regiões que passaram por um rápido desenvolvimento e que apresentam um aumento na carga poluidora ambiental, devido à urbanização e industrialização.

Diante este cenário, de crescente degradação dos corpos hídricos, aumento e diversificação das fontes de poluição, se faz necessário um acompanhamento das alterações da qualidade de água de um rio ou bacia hidrográfica, de maneira a embasar ações de proteção e recuperação ambiental, com vistas à garantia dos usos atuais e futuros (WEINBERG, 2013 p.2).

O estudo dos efeitos mutagênicos de *A. cepa* é de suma relevância, uma vez que os dados obtidos por meio da avaliação dos danos induzidos neste organismo modelo podem ser aplicados como parâmetro para a comparação com modelos animais, permitindo assim, a inferência dos perigos aos ecossistemas e à população que está exposta a esse contaminante (FRANCISCO, 2011, p.7).

Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo realizar uma análise preliminar do potencial genotóxico da água da nascente urbana, presente no Lago dos Buritis da cidade de Goiatuba - GO, utilizando *Allium cepa* como organismo-teste, afim de detectar possíveis danos genéticos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O município de Goiatuba pertence a microrregião homogênea, vertente Goiana do *Paranaíba*, localizando-se entre o paralelo 17° 46' 48" e os meridianos 49° 10' 00" e 50° 18' 00" de longitude oeste. A sede do município localiza-se a 18° 00' 48" de latitude sul por 49° 21' 30" longitude oeste, a uma altura média de 783 metros acima do nível do mar. No município, as costas altimétricas variam de 400 a 850 metros com altura média de 475 metros acima do nível do mar (Prefeitura Municipal de Goiatuba). A população do município é estimada em 34,312 habitantes, destes cerca de 84% vivendo na área urbana e 16% vivendo em área rural. A densidade populacional é estimada em 13,13 habitantes por km² (IBGE, 2010).

O Lago dos Buritis localiza-se no setor Gobato, e serve de lazer para a população local. É composto por uma área cercada onde abriga a mata ciliar que protege a nascente, e uma área aberta composta pelo lago. Ambos são circundados por uma pista de caminhada bastante utilizada por populares.

Análise

Foram coletadas amostras de água em seis pontos, do Lago dos Buritis, entre poço artesiano, nascente e lago, conforme Figura 1. Para a coleta das amostras, foram utilizados frascos esterilizados, as amostras foram identificadas e acondicionadas em bolsa térmica para o transporte até o Laboratório de Biologia da Universidade Estadual de Goiás *Campus* Morrinhos, não ultrapassando o limite de 24h para realização das análises. Para a realização deste estudo foi realizado o teste *Allium cepa*, conforme protocolos descritos por Fiskejo (1985) com algumas modificações. Foram adquiridas cebolas de uma

fonte comercial e colocadas para enraizar em frascos com água destilada (controle negativo), à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), por seis dias, o mesmo procedimento foi realizado para as amostras de água coletada. Antes de iniciar o experimento, retirou-se as raízes dos bulbos e, também, higienizou-se os mesmos com água destilada.

Figura 01. Imagem de satélite do Lago dos Buritis, na cidade de Goiatuba, GO. Em destaque os pontos de coleta para as seis amostras analisadas. **Fonte:** Google Earth, 2016



Após 6 dias de tratamento, retirou-se as raízes com maior crescimento de cada cebola e fez a fixação em solução Carnoy (3:1 álcool e ácido acético) por aproximadamente 12 a 14 horas. Respeitando o horário de maior atividade mitótica, as lâminas foram preparadas no período da manhã entre 6h e 9h. Após a fixação, as raízes foram submetidas à coloração, cada raiz foi adicionada a um frasco contendo orceína acética a 2% por alguns segundos. Após, com o auxílio de um bisturi, foi seccionado a região meristemática apical, colocados sobre a lâmina, cobertos com a lamínula e levemente macerados.

O material foi observado em microscópio óptico binocular com magnitude de 40X e 100X. Foram preparadas três lâminas para cada amostra, em cada uma das lâminas foram contadas 5000 células, observando quantas estavam em mitose para obtenção do fuso mitótico. A citotoxicidade foi verificada pela análise do índice mitótico (IM), segundo a equação: $\text{IM} = (\text{número de células em divisão} / \text{número total de células observadas}) \times 100$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Lago dos Buritis apresenta uma série de problemas ambientais, como despejo de lixo doméstico, resíduos orgânicos e inorgânicos provenientes de uma feira de produtos alimentícios localizada a aproximadamente 160 metros da nascente e da qual os resíduos descartados indevidamente por populares escoam para as galerias pluviais e, de lá, para a nascente do lago, demonstrando a má conversação deste curso d'água.

A análise do índice mitótico nas células meristemáticas de *A. cepa* possibilitam a avaliação do efeito citotóxico. Este índice é considerado um dado importante para identificar poluentes citotóxicos presentes no ambiente (RADIĆ et al., 2010). Segundo Leme e Marin-Morales (2008), quando o IM da amostra é menor do que o controle, o crescimento e desenvolvimento do organismo exposto àquele ambiente podem ser modificados pelos poluentes presentes na água, porém, quando o IM apresenta valores maiores do que os do controle pode levar a proliferação descontrolada das células, resultando na formação de tumores (CARITÀ; MARIN – MORALES, 2008).

Os resultados das análises para avaliação da citotoxicidade através do crescimento radicular das células meristemáticas e do Índice Mitótico (IM) estão sumarizados na Tabela 1, onde observamos que a média do crescimento radicular (CR) de *A. cepa* de todas as amostras foram superiores ao CR do controle negativo. Neste teste, o IM de todos os pontos apresentaram-se menores que o controle negativo, sendo o ponto 2 ($\mu = 11.58$) e o ponto 6 ($\mu = 27.16$) os que apresentaram maior diferença em relação ao controle negativo ($\mu = 52.38$).

De acordo com Turkoglu (2008), a redução do IM pode acontecer em razão a uma inibição da síntese do DNA ou a um bloqueio da Fase G2 do ciclo celular, impedindo que a célula entre em mitose, indicando citotoxicidade daquela concentração. Ainda nesta perspectiva, Lúcio Neto (2011) afirma que a redução do IM em relação ao controle negativo pode indicar alterações que podem ser oriundas de ação química sobre o crescimento e desenvolvimento do organismo exposto.

Neste sentido, e diante o resultado apresentado sugere-se o potencial citotóxico de duas amostras (2 e 6) de água avaliadas, podendo ser corroboradas pelo fato de as condições ambientais encontradas neste local serem precárias. Durante a coleta das amostras observou-se grande quantidade de resíduos sólidos e material orgânico dispersos no curso d'água.

Tabela 01. Média e desvio padrão (DP) do crescimento radicular e índice mitótico (IM) observados nas células meristemáticas de *A. cepa*.

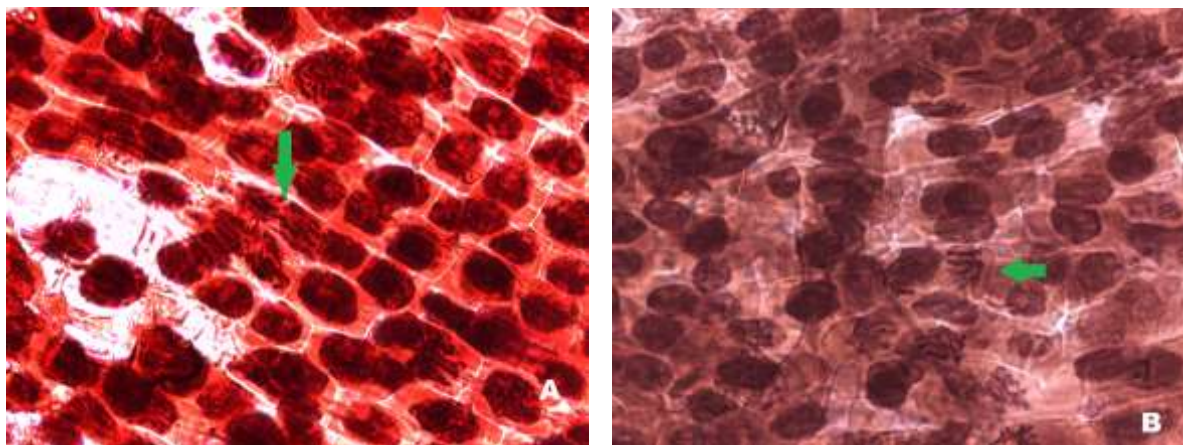
Tratamentos	Crescimento Radicular	IM (%)
-------------	-----------------------	--------

ANÁLISE PRELIMINAR DO POTENCIAL GENOTÓXICO DA ÁGUA DO LAGO DOS BURITIS DE GOIATUBA – GO

	Média (cm)	DP)
Amostra 1	6,43	1,33	33.6
Amostra 2	5,6	0,83	11.58
Amostra 3	6,08	0,4	43.16
Amostra 4	6,10	1,02	47.94
Amostra 5	7,15	0,18	52.1
Amostra 6	7,01	1,06	27.16
Controle Negativo	4,48	0,2	52.38

Para Leme e Marin-Morales (2009), as anormalidades cromossômicas em células de *Allium cepa* são parâmetros eficientes para a investigação do potencial genotóxico águas contaminadas, pois fornecem informações importantes que devem ser consideradas no biomonitoramento ambiental. Conforme Natarajan (2002), alterações cromossômicas são resultantes de ações genotóxicas de substâncias químicas, que os organismos, inclusive o homem, estão expostos. Estudos epidemiológicos têm indicado que pessoas com grandes frequências de danos citogenéticos expõem maiores riscos de desenvolvimento de câncer (OBE et al., 2004). Sendo assim, as anomalias cromossômicas encontradas nas amostras 4 e 5 (Figura 2), podem indicar atividade genotóxica da água do Lago dos Buritis.

Figura 2 - Alterações observadas em células meristemáticas radiculares de cebola submetidas a amostras de água do Lago dos Buritis em Goiatuba - GO. Formação de ponte



anafásica. Aumento de 100X.

Legenda1 – Células provenientes do crescimento de *A. cepa* cultivadas na amostra 4 (Imagem A) e amostra 5 (Imagem B).

CONCLUSÕES

Embora os resultados obtidos referem-se à apenas uma amostragem, os efeitos observados apontam atividade potencialmente genotóxica e/ou citotóxicas da água, assim, faz-se necessária uma melhor caracterização físico-química, microbiológica somada a implantação de um biomonitoramento constante da água do Lago dos Buritis. É importante salientar que, o despejo indiscriminado de resíduos diversos lançados aos corpos d'água, observado neste estudo, mostra a condição degradada do ambiente promovida pela ação antropogênica; sugerimos que os órgãos competentes promovam campanhas de conscientização à conservação ambiental, ressaltamos a importância da preservação/conservação da água para o ambiente.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J.L. A importância da Mutagênese ambiental: Prefácio. In: RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. (Orgs.) **Mutagênese Ambiental**. Canoas: Ulbra, 2003, 356p.

BIANCHI, J. **Análise dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do inseticida malation, utilizando o sistema teste de Allium cepa em células de mamíferos**. 2008. 165 F. Dissertação de mestrado. Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular. Universidade Estadual Paulista de Rio Claro, SP.

BRUSICK, D.J. **Principles of Genetic Toxicology**. New York: Plenum Press, 1987, 284p.

EGITO, L. C. M.; MEDEIROS, M. G.; DE MEDEIROS, S. R. B.; AGNEZ-LIMA, L. F. Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 2, p. 435-441, 2007.

FRANCISCO, A. **Avaliação da toxicidade do cloreto de níquel utilizando Allium cepa como organismo teste**. 2011. 64 f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/119118>>.

FISKESJO, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, n.1, p.99-112. 1985.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **PAS - Pesquisa Anual de Serviços, 2010.** [online] Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=520910&search=goias|goiatuba>

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**, Amsterdam, v. 650, p.80-86, 2008.

LÚCIO NETO, M. P., **Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica do composto 3-(2-cloro-6-fluorobenzil) – imidazolidina-2,4-diona em células eucarióticas.** UFPI, Teresina, 2011.

NATARAJAN, A.T. Chromosome aberration: past, present and future. **Mutation Research**, v.504, n.6, p. 3-16, 2002.

OBE, G. et al. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. **Mutation Research**, v.504, n.5, p. 17-36, 2004.

RADIĆ, S.; STIPANICER, D.; VUJCIĆ, V.; RAJCIĆ, M. M.; SIRAC, S.; PEVALEKKOZLINA, B. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 1228-1233, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.055>

RANK, J.; NIELSEN, M. H. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, New Jersey, v. 118, n. 1, p. 49-53, 1993.

RIBEIRO, L. R. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. (Orgs.). **Mutagenese Ambiental.** Canoas: Ulbra, 2003, p.173-200.

TURKOGLU, S. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Food and Chemical Toxicology** v.10, n.2, p.123-9, 2008.

WEINBERG, A. **Uso de índices de qualidade de água para a caracterização da bacia hidrográfica do Rio Guandu.** 2013. 166 f. Projeto de Graduação (Bacharelado em Engenharia Ambiental) - Escola Politécnica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

PRELIMINARY ANALYSIS OF THE GENOTOXIC POTENTIAL OF THE WATER OF
LAKE DOS BURITIS DE GOIATUBA - GO

RESUMO (OU ABSTRACT) Mutagenicity may be associated with chromosomal breaks caused by environmental pollutants. The objective of this study was to analyze the mutagenic potential of the pollutants present in the water of Lake Buritis, Goiatuba city, GO, analyzing chromosomal changes in meristematic cells of *Allium cepa* collected in the month of June, 2017. Among the bioassays, the test *Allium* is widely used in laboratories around the world for the analysis of various substances from which it is desired to know the possible mutagenic potential, indicating important role as bioindicator for environmental monitoring. The results indicate that the effluents of varied origin are exerting harmful effects on the bioindicator used, being important to carry out new tests a better physical-chemical, microbiological characterization together with the implantation of a constant biomonitoring of the water of the Lake of the Buritis, as well as to adopt measures of control and environment conversation.

Palavras Chave (ou Keywords): Cytotoxicity; Genotoxicity; Environmental monitoring