

POLUIÇÃO DO RIO SANTA CATARINA NO MUNICÍPIO DE VAZANTE (MG) DETECTADA POR MEIO DO TESTE DO MICRONÚCLEO EM PEIXES

Gilberto dos Reis Ferreira*

Júlio César Nepomuceno**

RESUMO

Nos últimos anos, diversos estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a genotoxicidade de poluentes do meio ambiente. O teste do micronúcleo possibilita a detecção de efeitos genotóxicos provocados por vários agentes químicos e físicos, podendo ser utilizado para avaliação das condições ambientais. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os possíveis efeitos genotóxicos da poluição aquática, em peixes do Rio Santa Catarina, região de Vazante – MG, por meio do teste do micronúcleo. O peixe utilizado neste estudo foi a Bicuda (*Boulengerella spp*), por ser comum na região, de fácil captura, além de ser consumido pela população ribeirinha. Os peixes foram capturados e as amostras de sangue foram obtidas por meio de punção branquial mediante o uso de seringa e agulha. O número de eritrócitos micronucleados (MN) foi determinado a partir de 1.000 eritrócitos contados por lâmina, perfazendo um total de 2.000 eritrócitos por peixe. Os resultados demonstram que os peixes avaliados à jusante da cidade de Vazante encontram-se, possivelmente, expostos a substâncias ou condições ambientais de potencial genotóxico, devido ao aumento na frequência de micronúcleos, encontrados nestes, quando comparados ao controle negativo.

PALAVRAS-CHAVE: Rio Santa Catarina. Vazante – MG. Genotoxicidade. Micronúcleos. *Boulengerella spp*.

ABSTRACT

In recent years, diverse studies have been carried out to evaluate environment genotoxicity pollutants. The micronucleus test (MNT) is used in these researches and can estimate the ambient genotoxicity provoked by chemical and physical agents. The present work aims at

* Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Patos de Minas – MG. E-mail: gilbertodosreisferreira@gmail.com

** Professor Adjunto do Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia – MG/ Professor Titular do Centro Universitário de Patos de Minas – MG. E-mail: nepomuceno@ufu.br

evaluating the possible aquatic genotoxicity effect by means of MNT in the fishes of Santa Catarina River, localized in Vazante, MG. The fish species used in this study was the Bicuda (*Boulengerella spp*), because it is commonly found in that region, it is easily captured and has been consumed by the marginal population. The number of micronuclei structures (MN) was determined from 1.000 Eritrocites per sample, in a total of 2.000 Eritrocites per fish. The results found in this work show that the fishes localized in that region have a high micronuclei frequency when compared with the negative control. This indicates the presence of environmental genotoxicity conditions in that river.

KEY-WORDS: Rio Santa Catarina. Vazante – MG. Genotoxicity. Micronuclei. *Boulengerella Spp*.

1 INTRODUÇÃO

A poluição ambiental é provocada pelas ações humanas associadas à urbanização, à agricultura e à indústria, sem observância das normas ambientais. Em consequência dessas ações, têm ocorrido mudanças climáticas, diminuição da camada de ozônio, eutrofização das águas, extinção de seres vivos de determinadas áreas, além de colocar em risco a qualidade de vida de todos os seres vivos, causando, também, a diminuição da biodiversidade e a variabilidade das espécies naturais (AMARAL, 2001).

Danos ao DNA são considerados os principais eventos causados por agentes genotóxicos, que levam às mudanças hereditárias e ao desenvolvimento de doenças. Estes danos podem induzir à morte celular ou a eventos mutacionais e, também, iniciar uma transformação maligna (MOUSTACCHI, 2000).

O lançamento de efluentes industriais em curso hídrico impõe significativo risco aos ecossistemas, devido principalmente à sua composição química, contendo, em alguns casos, toxinas, que pode ser genotóxicas (VARGAS et al., 2001).

Nos últimos anos, muitos ensaios foram realizados com o objetivo de avaliar a genotoxicidade de poluentes lançados no ambiente, como, estudos ecológicos, toxicológicos e químicos, avaliando a poluição por metais pesados em Le an River (Chima) (MENGCHANG et al., 1998); avaliação de genotoxicidade em ambientes aquáticos sob a influência de metais pesados e contaminantes orgânicos (VARGAS et al., 2001); monitoramento de metais pesados no meio ambiente em peixe do lago Nasser (Egito) (RASHED, 2001).

Os peixes receberam uma atenção especial, como um possível monitor de ambientes poluídos, objetivando assim a detecção da atividade dos agentes genotóxicos no ambiente aquático.

O MNT em peixes é de curta duração e tem se mostrado efetivo no monitoramento de ambientes aquáticos poluídos (NEPOMUCENO et al., 1997). É usado para monitoramento da qualidade de água doce (GRISOLIA; STARLING, 2001). O peixe é um organismo adequado para monitoramento de genotoxinas aquáticas, por ser capaz de metabolizar xenobióticos e poluentes acumulados (DE FLORA et al., 1993).

O Rio Santa Catarina nasce no Estado de Minas Gerais e percorre grande parte do noroeste do estado. Vários outros rios deságuam no Santa Catarina, entre eles, o Ribeirão Escurinho e o Córrego Rico. O rio percorre um trecho de aproximadamente 80 km até as imediações da cidade de Vazante.

Estas águas recebem diariamente rejeitos de laticínio, indústria de mineração, agrotóxicos provenientes das lavouras próximas, resíduos de hospitais, de postos de gasolina, de lava-jatos, de mecânicas e de esgotos domésticos, o que põe em risco a vida e a biodiversidade das águas do rio.

Em função desse crescente aumento de resíduos químicos nos mananciais de água, por resíduos urbanos (esgotos) e industriais, procurou-se, neste estudo, avaliar a possível ação genotóxica deste ambiente aquático, por meio do teste de micronúcleos, em peixes Bicuda (*Boulengerella spp*) do Rio Santa Catarina, nas proximidades da cidade de Vazante - MG.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 COLETAS

Os peixes foram coletados em locais com níveis aparentes de poluição mais críticos, no Rio Santa Catarina. No Rio Santa Catarina, mais precisamente no trecho que margeia/banha a cidade de Vazante-MG, foram feitas quatro coletas: Ponto 1 (controle negativo) antes da entrada da cidade de Vazante 18°00'01.50"S e 46°53'32.03"W; Ponto 2 (17°59'55.74"S e 46°53'17.94"W), logo abaixo do primeiro ponto de lançamento de efluentes líquidos no rio; Ponto 3 (17°59'58.57"S e 46°53.88"W), entre o primeiro ponto e o último ponto de lançamento de efluentes; Ponto 4 (17°58'16.83"S e 46°48'45.23"W), abaixo da represa de tratamento dos rejeitos de uma empresa de mineração.

2.2 ESPÉCIMES E PREPARAÇÃO DE LÂMINAS

O peixe utilizado neste estudo foi o Bicuda (*Boulengerella spp*), por ser um peixe comum na região e de fácil captura.

Foram capturados 10 peixes por ponto/local e, para cada animal, foi feita uma coleta de sangue, seguindo-se a sua soltura. Logo após, foram preparadas e codificadas duas lâminas por peixe em cada ponto de coleta.

O sangue foi obtido conforme metodologia descrita por Nepomuceno et al. (1997). Esta consiste em fazer uma punção na região branquial, rica em vasos sanguíneos. O toque com biseu da agulha nas lâminas branquiais provoca um pequeno sangramento, onde se obtém uma gota de sangue, necessária para a confecção do esfregaço sanguíneo.

Foi utilizado anticoagulante, pois as lâminas foram observadas no laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas.

O MNT consiste na contagem de células com um ou vários núcleos citoplasmáticos (micronúcleos) de tamanho reduzido associado ao núcleo celular. Os micronúcleos são pequenas massas intracitoplasmáticas de cromatina, resultante da quebra cromossomal ou aneuploidia durante a divisão celular (GRISOLIA; STARLING, 2001), fragmentos acêntricos (ou cromossomo inteiro), formados no final da divisão celular, são encontrados ao redor da cromatina, por não terem sido integrados aos núcleos das células filhas. Eles fornecem evidência de quebra da cromatina ou disfunção do fuso acromático (MERSCH; BEAUVAIS, 1997).

O teste de micronúcleos em peixes é semelhante ao teste para mamíferos (SCHMID, 1995), com algumas modificações:

- 1 - Para cada animal, foram preparadas duas lâminas por esfregaço de sangue periférico, deixadas overnight e, após, fixadas em metanol absoluto, por 5 minutos.
- 2 – Os esfregaços foram corados com Giemsa e tampão fosfato de sódio (pH – 6,8) na proporção 1:20, por 10 minutos.
- 3 – A análise foi realizada em microscopia óptica de luz, usando objetiva de imersão, contando-se 1000 células por lâmina e totalizando 2000 células por animal.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As frequências de micronúcleos encontradas nos peixes coletados nos pontos 2, 3 e 4 foram comparadas com as do ponto 1 (controle) pelo Teste *U* de Mann-Whitney, teste não paramétrico, com níveis de significância de $\alpha = 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, foram analisadas as incidências de micronúcleos nos peixes do Rio Santa Catarina. As freqüências de micronúcleos (MN) avaliadas nos peixes coletados nos pontos 2, 3 e 4 foram estatisticamente maiores, quando comparadas com o controle negativo (Tabela 1).

Tabela-1 Freqüência de micronúcleos (MN) %o em eritrócitos periféricos de *Boulengerella sp*, coletados no Rio Santa Catarina, a montante e a jusante da cidade de Vazante – MG, e de local de referência.

Local	Nº de		Total de	
	indivíduos	Total de células	micronúcleos	X (%o) ± SD
Ponto 1 (Controle)	10	40.000	19	0,475 ± 0,737
Ponto 2	10	40.000	81*	2,025 ± 1,912
Ponto 3	10	40.000	103*	2,575 ± 4,295
Ponto 4	10	40.000	146*	3,650 ± 3,864

* Diferença estatisticamente significativa quando comparada com o controle negativo de acordo com o Teste *U* (**Mann-Whitney**), com nível de significância $\alpha = 0,05$.

Neste trabalho, não foi feita a distinção entre o sexo dos animais para a contagem da freqüência de micronúcleos (MN).

Os eritrócitos de *Boulengerella sp* analisados são, em sua maioria, de forma circular, com núcleos ovalados e centralizados no citoplasma, o que tornou mais fácil a contagem de MN.

A identificação de substâncias potencialmente genotóxicas não foi objeto deste estudo, mas, sabendo das condições do rio, podemos apontar as prováveis causas da contaminação dos peixes. O índice de qualidade da água (IQA) reflete a contaminação por esgotos e outros materiais orgânicos, por nutrientes e por sólidos.

No Rio Santa Catarina, constatamos a ausência da vegetação ciliar em vários pontos, a presença de lixo de maneira esparsa no leito do rio, espumas amarelas e brancas não naturais e existência de microorganismos indicadores de poluição fecal (bactérias do grupo coliforme).

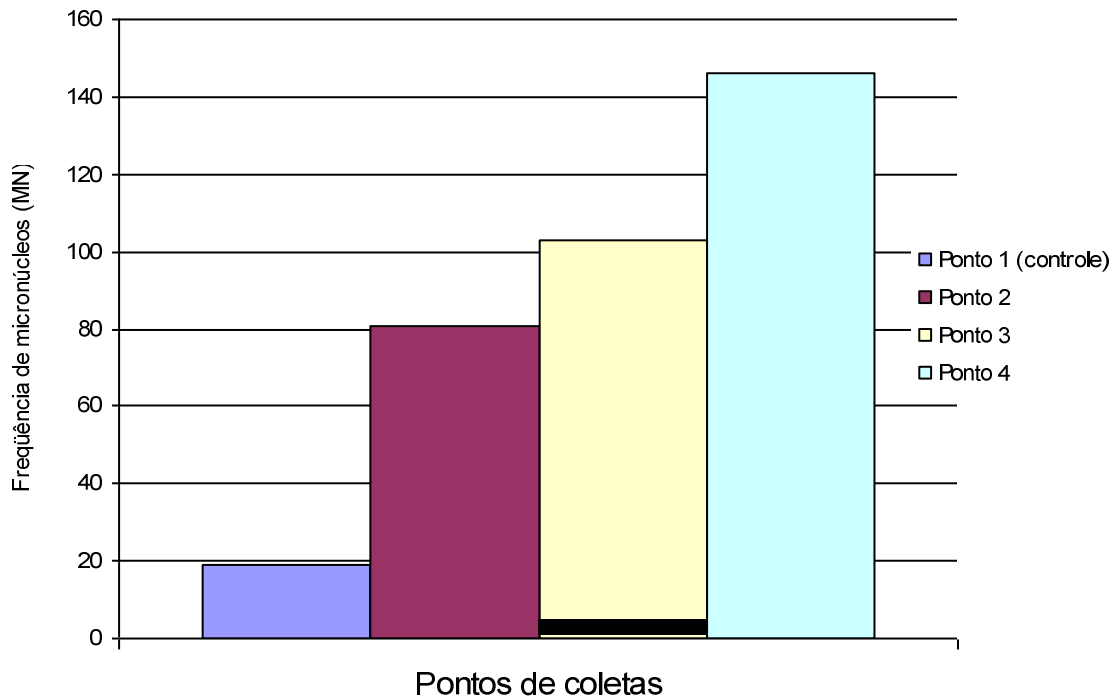


Figura 1 Frequência de MN em eritrócitos periféricos de *Boulengerella sp*, observada no controle e demais pontos de coleta.

Uma outra fonte de contaminação do rio que pode ter um efeito genotóxico sobre os peixes seria a contaminação por agrotóxicos em função de seu uso indiscriminado.

Devido aos resultados verificados neste estudo, podemos considerar que a concentração de agentes clastogênicos e aneugênicos, presentes na água do rio Santa Catarina, é alta, induzindo frequências de micronúcleos estatisticamente significativas, quando comparadas com as frequências obtidas no grupo controle. (Figura 1).

Assim como HOSE et al. (1987) observaram, em sua pesquisa com peixes no Sul da Califórnia, um aumento significativo na frequência de MN dos peixes coletados em ambiente contaminado, comparado com peixes coletados em locais de referência, também, obtivemos resultados positivos com peixes vivendo em águas poluídas do rio Santa Catarina.

Os resultados obtidos neste estudo nos permitem concluir que o teste do micronúcleo, utilizando o peixe (*Boulengerella sp*) é um método rápido e prático para o monitoramento da poluição aquática. A poluição aquática por esgotos urbanos e industriais, no rio Santa Catarina, região de Vazante, é, provavelmente, a responsável por causar efeitos genotóxicos em *Boulengerella sp*, conforme foi verificado pela alta frequência de MN quando comparados ao do grupo controle negativo.

REFERÊNCIAS

AMARAL VS . **Monitoramento do impacto de dejetos industriais em amostras de água do Rio Caí através do teste SMART em *Drosophila melanogaster***. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio grande do Sul, Porto Alegre RS, 2001

DE FLORA S, VIGÁRIO L, D'AGOSTINI E, CAMOIRANO A, BAGNASCO, M BENNICELLI C, MELODIA F, ARILLO A. Multiple genotoxicity biomarkers in fish exposed in situ to polluted river water. **Mut. Res.** 319:167-177, 1993.

GRISOLIA CK, STARLING FLRM. Micronuclei monitoring of fishes from Lake Paranoá, under influence of sewage treatment plant discharges. **Mut. Res.** 491:39-44, 2001.

HOSE, J.E., CROS, J.N., SMITH, S.G. & DIEHL, D. (1987). Elevated circulating erythrocytes micronuclei in fish from contaminated sites off Southern California. **Mar. Environ . Res.** 22:167-176.

MENGCHANG HE, ZIJILAN WANG, HONGXIAO TANG. The chemical, toxicological and ecological studies in assessing the heavy metal pollution in Le an river, China. **Wat Res** 32(2):510-518, 1998.

MERSCH J, BEAUVAIS MN. The micronucleus assay in the *Zebra mussel*, *Dreissena polymorpha*, to in situ monitor genotoxicity in freshwater environments. **Mut. Res.** 393:141-149, 1997.

MOUSTACCHI E. DNA damage and repair: consequences on dose-response. **Mut. Res.** 464:35-40, 2000.

NEPOMUCENO, J.C., FERRARI, I., SPANÓ, M.A. & CENTENO, A.J. (1997). Detection of Micronuclei in Peripheral Erythrocytes of *cyprinus carpio* Exposed to Metallic Mercury. **Env. and Mol. Mut.**, 30:293-297 (1997).

RASHED MN. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser lake.

Environment International 27:27-33, 2001.

SCHMID, W. The micronucleus test. **Mut. Res.** 31:09-15, 1975.

VARGAS VMF, MIGLIAVACCA SB, MELO AC, HORN RC, GUIDOBONO RR, FERREIRA ICFS, PESTANA MHD. Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. **Mut. Res.** 490:141-158, 2001