

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DE ÁGUAS DE RIOS QUE RECEBEM EFLUENTES DE REFINARIA DE PETRÓLEO, POR MEIO DO SISTEMA TESTE DE *Allium cepa*. Matheus Mantuanelli Roberto, Maria Aparecida Marin Morales, Thaís Cristina Casimiro Fernandes. - Genética - Ciências Biológicas - Departamento de Biologia - Instituto de Biociências - Campus de Rio Claro.

O ambiente aquático tem sido o destino de vários tipos de efluentes industriais. Devido ao possível potencial mutagênico e carcinogênico dos químicos contidos nesses efluentes, eles têm sido foco de atenção de pesquisadores preocupados com a poluição da água doce e marinha (PAIN, 1995; JONHSON, 1998; ALZIEU, 2000; GODWIN, 2001).

A toxicologia estuda a ação de compostos químicos e outros xenobióticos sobre os organismos, com ênfase especial nos efeitos adversos ou danosos (RAND & PETROCELLI, 1985). A genética toxicológica tem por finalidade identificar e analisar a ação desses compostos, quanto a sua capacidade de interação com o material genético dos organismos (AL-SABTI & METCALFE, 1995).

O uso de bioensaios é indicado para a identificação de possíveis ações tóxicas e mutagênicas. Uma das mais antigas e utilizadas ferramentas para a realização de estudos de bioensaios é o teste de aberrações cromossômicas. Esse teste é um dos poucos métodos diretos usados para mensurar mutações em sistemas expostos a substâncias potencialmente mutagênicas ou carcinogênicas (RANK et al., 2002).

Bioensaios utilizando plantas têm sido considerados bastantes sensíveis e simples, sendo validados por instituições internacionais como a "United Nations Environmental Program" (UNEP), a "World Health Organization" (WHO) e a "US Environmental Protection Agency" (USEPA), que provaram a eficiência destes organismos para o monitoramento de mutagenicidade causada por poluentes ambientais (MENKE et al., 2001; GRANT, 1999). A espécie *Allium cepa* tem sido, freqüentemente, utilizada para se determinar efeitos citotóxico, mutagênico e genotóxico de várias substâncias (GRANT, 1982; FISKEJÖ, 1985; MATSUMOTO, 2004), sendo utilizada como um organismo padrão para testes rápidos (SMAKA-KINCL et al., 1996), por apresentar boa correlação com sistemas teste de mamífero (GRANT, 1982; RANK & NIELSEN, 1993; CHAUHAN et al., 1999; MATSUMOTO et al., 2006).

Segundo Fiskejö (1985), resultados positivos obtidos pelo teste de *Allium cepa* devem ser considerados como uma indicação de que o químico testado também pode causar danos biológicos em outros organismos.

O objetivo deste projeto foi avaliar o potencial mutagênico dos efluentes da refinaria de petróleo (REPLAN - Paulínia-SP). A técnica utilizada para essa avaliação foi o teste de aberrações cromossômicas, utilizando sistema teste *Allium cepa* (cebola).

A coleta foi realizada no mês de março de 2006, em sete pontos pré-estabelecidos, relacionados e representados abaixo:

- 1) Montante do Rio Jaguarí, município de Paulínia-SP (acima da captação da água a ser utilizada pela refinaria);
- 2) Entrada da lagoa de estabilização da REPLAN;
- 3) Saída da lagoa de estabilização (água destinada aos despejos no Rio Atibaia, município de Paulínia-SP);
- 4) 1Km a montante do ponto 3, no Rio Atibaia;
- 5) 1 Km a jusante do ponto 3, também no Rio Atibaia;
- 6) Após o tratamento físico-químico e antes do tratamento bacteriológico;
- 7) 400m do ponto 3 (ponto de emissão de esgoto doméstico) no Rio Atibaia.

Sementes de *Allium cepa* foram colocadas em condições de germinação nas águas derivadas dos pontos de coleta. Todos os ensaios foram realizados em placa de Petri, contendo 50 sementes cada e sempre à temperatura ambiente, sendo uma placa para cada ponto. Para o controle negativo, as sementes foram submetidas apenas à água destilada. Posteriormente, todas as raízes foram fixadas em Carnoy 3:1 (3 partes de etanol para 1 de ácido acético), para serem, posteriormente, processadas.

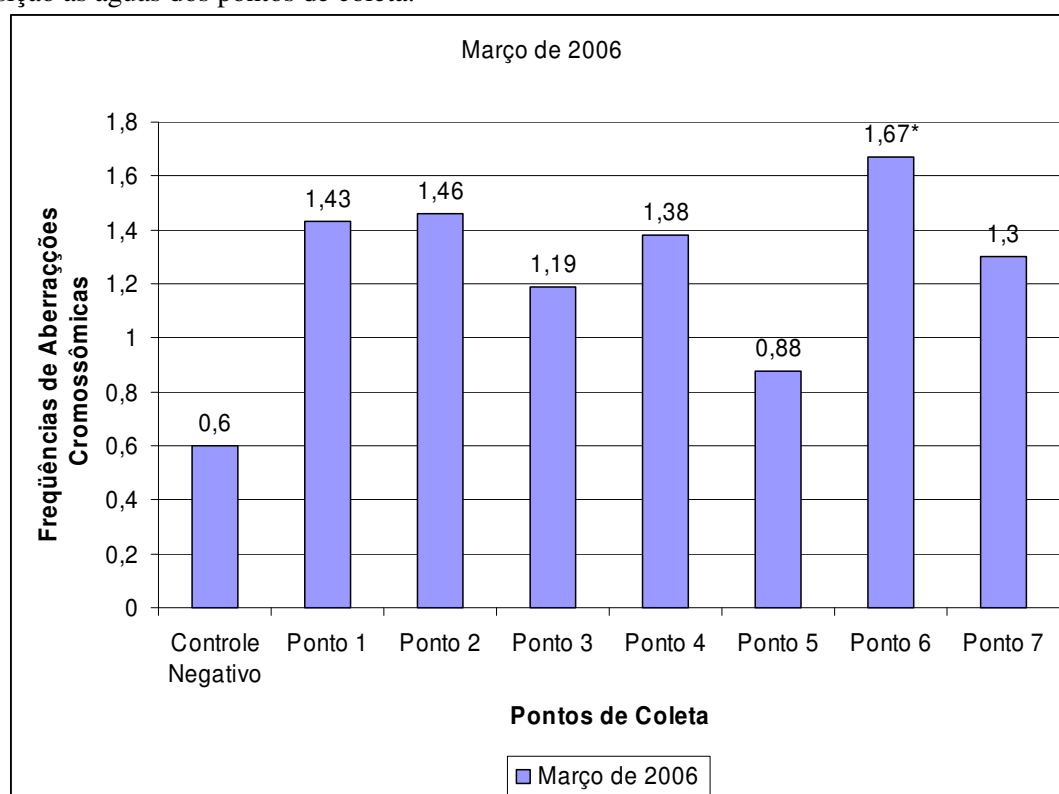
Para as análises citológicas, todas as lâminas foram confeccionadas pela técnica comum de esmagamento suave e submetidas à coloração pela reação de Feulgen. Para o preparo das lâminas, o material foi levemente esmagado em uma gota de carmim acético 2% e recoberto com lamínula. As lamínulas foram retiradas em nitrogênio líquido e as lâminas montadas em resina sintética.

Células meristemáticas de *Allium cepa*, em divisão, foram analisadas para se avaliar a possível ação mutagênica das águas dos pontos de coleta. Para essa avaliação, foi levada em consideração a frequência de células portadoras de anormalidades mitóticas, como presença de micronúcleos, de quebras cromossômicas, de perdas, de atrasos, de pontes e aderências cromossômicas, de anáfases multipolares, de células poliploides e de células polinucleadas.

Após a obtenção dos resultados do estudo, foi realizada a análise estatística pelo método Kruskal-Wallis.

O resultado observado mostrou que houve uma indução significativa de danos genéticos ao material exposto, para o ponto 6, onde houve apenas um tratamento físico-químico das águas residuais da empresa. Entretanto, o tratamento completo executado pela empresa parece ter sido eficiente no restabelecimento das condições da água utilizada, uma vez que seu efluente não mostrou frequências significativas de aberrações cromossômicas, para o organismo-teste utilizado, quanto às amostras dos pontos 5 e 7 (figura 1). Desta maneira, o efluente da REPLAN parece não apresentar substâncias com potencial mutagênico para a espécie *Allium cepa*, para as amostras de coleta do mês de março de 2006.

Figura 1: Frequência de aberrações cromossômicas observadas em raízes de *Allium cepa* após a exposição às águas dos pontos de coleta.



*significativo $p < 0,05$

Referências Bibliográficas

AL-SABTI, K.; METCALFE, C. D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. **Mutation Research**, Amsterdan, v. 343, p. 121-135, 1995.

ALZIEU, C., Environmental impact of TBT: the French experience. **Sci Total Environ.**, v. 258, p. 99-102. 2000.

CHAUHAN, L. K. S.; SAVENA, P. M.; GUPTA, S. K. Cytogenetics effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *A. cepa*. **Environment and Experiment Botany**, [S.l.], v. 42, p. 181-9. 1999.

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

GODWIN, A. H., The biological chemistry of lead. **Curr Poin Chem Biol.**, v. 5, p. 223-227, 2001.

GRANT, W. F., Chromosome aberration assays in *Allium*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 99. p. 273-291, 1982.

GRANT, W. F. Higher plant assays for the detection od chromosomal aberrations and gene mutations-a brief historical background on their use for screening and monitoring envirnmental chemicals. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 426, p. 107-112. 1999.

JOHNSON, F. M., The genetic effects on environmental lead. **Mutation Research**, v. 410, p. 123-140, 1998.

MATSUMOTO, S. T; MANTOVANI, M.S.; MALAGUTTI, M.I.A; DIAS, A.L.; FONSECA, I.C.; MARIN-MORALES, M. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosomes aberrationsin onion root-tips, **Genetics and Molecular Biology**, v.29 (1). 2006.

MATSUMOTO, S. T.; MARIN-MORALES, M. A. Mutagenic potencial evalutation of the water river that receives effluents using the *Allium cepa* system. **Cytologia**, Tokyo, v. 69, n. 4, p. 399-408. 2004.

MENKE, M.; CHEN, I. P.; ANGELIS, K. J.; SCHUBERT, I. DNA damage and repair in *Arabidopsis thaliana* as measured by the comet assay after treatment with different classes of genotoxins. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 493, p. 87-93. 2001.

PAIN, D. J., Lead in the environment. In: Hoffman D. J. et al. (eds) **Handbook of Ecotoxicology**, Lewis, Boca Raton, Chap 16, 1995.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. Introduction. In: RAND, G. M. & PETROCELLI, S. R., (Ed.). Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications, New York: **Chemosphere**, p. 1-28, 1985.

RANK, J., LOPEZ, L. C.; NIELSEN, M. H.; MORETTON, J. Genotoxicity of maleic hydrazine, acridine and DEHP in *Allium cepa* root cells perfomed by two different laboratories. **Hereditas**, Lundskrona, v. 136, p. 13-18. 2002.

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

SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 368, p. 171-179. 1996.

Bolsa: REPLAN/FUNDUNESP