

## **ADAPTAÇÃO DA METODOLOGIA DE EXPOSIÇÃO DA LINHAGEM V79 À AMOSTRAS DO RIO DOS SINOS PARA AVALIAÇÃO GENOTÓXICA ATRAVÉS DO ENSAIO COMETA.**

Emilene A. Nunes<sup>1,2</sup> e Clarice T. de Lemos<sup>1</sup> (orient.)

<sup>1</sup>Divisão de Biologia da Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luís Roessler,

<sup>2</sup>Universidade Luterana do Brasil; emilenenunes@aol.com; claricetl@fepam.rs.gov.br.

A ação direta ou a resultante das interações de resíduos xenobióticos e os componentes bióticos e abióticos do ecossistema podem produzir efeitos tóxicos e/ou genotóxicos nestes ambientes. Para avaliar estes efeitos diversos protocolos incluem em suas etapas iniciais a avaliação “*in vitro*” utilizando culturas celulares. A linhagem V79, estabelecida a partir de células de pulmão de hamster chinês, vem sendo amplamente utilizada na avaliação do potencial indutor de danos ao material genético causados por substâncias químicas puras ou amostras ambientais. O ensaio cometa é uma técnica simples, rápida e sensível para analisar e quantificar lesões no DNA como quebras simples ou duplas e danos álcali-lábeis. Este trabalho apresenta a 1ª etapa de testes realizados para avaliar o efeito genotóxico pelo Ensaio Cometa em 3 amostragens (Jun/05, Ago/05 e Out/2005) do rio dos Sinos que recebe influência de fontes poluidoras resultantes de atividades agrícolas, industriais, domésticas e hospitalares. Foram escolhidos 5 locais: SI188, SI121, localizados à montante, escolhidos como referência e SI048, SI028 e SI008, na área com maior influência de poluentes. A metodologia de exposição de V79 a amostras de água bruta foi testada iniciando-se com uma concentração de 50% da amostra no volume total de meio. Aliquotas contendo  $1 \times 10^6$  células em 400µl de meio foram inoculadas em ependorfs e expostas a 200µl da amostra de água bruta filtrada de cada local de amostragem e incubadas (37° C) por 3 horas, protegidas da luz paralelamente ao controle negativo (água destilada estéril-200µl) e positivo (bleomicina 2µg/ml). Após a lise (1:30h), a eletroforese foi conduzida em pH >13, 25V e 300mA, durante 20 minutos. Foram analisadas 100 células por amostra para avaliar porcentagens (%D) e índices de dano (ID). As amostras dos locais SI008 e SI028 nos meses de junho e outubro induziram maiores ID e/ou %D. As médias de ID e %D das 3 amostragens dos locais SI008 e SI028 foram estatisticamente maiores que as dos locais de referência, demonstrando um decréscimo na qualidade ambiental nesses 2 locais. O volume de amostra usado para exposição das células permitiu a detecção de efeito genotóxico, porém, diferentes concentrações de amostra devem ser testadas visando a construção de uma curva de respostas para avaliar seu efeito nos resultados e para a escolha da melhor proporção a ser usada nos testes.

(Apoio: FEPAM).