



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**BIOMONITORAMENTO EM ÁREAS POLUÍDAS E NÃO POLUÍDAS DO RIO  
UBERABINHA, REGIÃO DE UBERLÂNDIA - MINAS GERAIS, POR MEIO DE  
ANÁLISE DE MICRONÚCLEOS E FREQUÊNCIA DE CROMOSSOMOS B EM  
BAGRE (*Rhamdia quelen*).**

EDIMAR OLEGÁRIO DE CAMPOS JÚNIOR

ORIENTADORA: Profa. Dra. Sandra Morelli

UBERLÂNDIA – MG  
2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**BIOMONITORAMENTO EM ÁREAS POLUÍDAS E NÃO POLUÍDAS DO RIO  
UBERABINHA, REGIÃO DE UBERLÂNDIA - MINAS GERAIS, POR MEIO DE  
ANÁLISE DE MICRONÚCLEOS E FREQUÊNCIA DE CROMOSSOMOS B EM  
BAGRE (*Rhamdia quelen*).**

EDIMAR OLEGÁRIO DE CAMPOS JÚNIOR

ORIENTADORA: Profa. Dra. Sandra Morelli / UFU

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Genética e Bioquímica (Área Genética).

UBERLÂNDIA – MG

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

C198b Campos Júnior, Edimar Olegário de, 1986-  
Biomonitoramento em áreas poluídas e não poluídas do Rio  
Uberabinha, região de Uberlândia – Minas Gerais, por meio de  
análise de micronúcleos e frequência de cromossomos B em  
bagre (*Rhamdia quelen*) [manuscrito] / Edimar Olegário de Campos  
Júnior . – 2011.  
58 f. : il

Orientador: Sandra Morelli.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.  
Inclui bibliografia.

1. Peixe - Genética - Teses. I. Morelli, Sandra. II. Universidade  
Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Genética  
e Bioquímica. III. Título.

CDU: 597-115

---



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**BIOMONITORAMENTO EM ÁREAS POLUÍDAS E NÃO POLUÍDAS DO RIO  
UBERABINHA, REGIÃO DE UBERLÂNDIA- MINAS GERAIS, POR MEIO DE  
ANÁLISE DE MICRONÚCLEOS E FREQUÊNCIA DE CROMOSSOMOS B EM  
BAGRE (*Rhamdia quelen*).**

EDIMAR OLEGÁRIO DE CAMPOS JÚNIOR

#### **COMISSÃO EXAMINADORA**

**Presidente:** Profa. Dra. Sandra Morelli (Orientadora)

**Examinadores:** Prof. Dr. Mário Antônio Spanó  
Prof. Dr. Edson Luis Maistro

**Data da defesa:** 02/ 07/ 2011

As sugestões da Comissão Examinadora e as normas PGGB para o formato da dissertação foram contempladas.

---

Profa. Dra. Sandra Morell

“O homem inteligente  
aprende com seus  
próprios sofrimentos;  
O homem sábio aprende  
com os sofrimentos alheios”

*(Platão)*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço e dedico esse trabalho a todos os que contribuíram direta ou indiretamente para que obtivesse sucesso nessa jornada.

Em especial para meus amigos mais próximos, que sempre colaboraram na realização da pesquisa e acompanhamento nas coletas. A minha família, que sempre apoiou meu crescimento e desenvolvimento de novas idéias.

À minha saudosa mãe, que veio a falecer no decorrer do processo de desenvolvimento do meu trabalho, mas que sempre lutou e buscou forças para que meus estudos se completassem.

À minha Orientadora, que sempre se preocupou com o direcionamento do trabalho, e sempre proporcionou estratégias para que o trabalho fosse realizado de maneira correta.

Aos colegas de Laboratório, e ao profissional José Clidenor, que sempre esteve disponível para realização das pescas e para tudo que fosse necessário.

Ao Instituto de Genética e Bioquímica e a parceria com o Instituto de Química, ambos pertencentes à Universidade Federal de Uberlândia, da qual serei sempre grato.

## SUMÁRIO

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA Biomonitoramento: estratégias para gestão e conservação dos recursos hídricos.....	4
1. Utilização dos Recursos Hídricos .....	5
2. Biomonitoramento da Mutagenicidade.....	8
3. Bioindicadores .....	11
4, Caracterização Citogenética do gênero <i>Rhamdia</i> .....	13
REFERÊNCIAS .....	15
Biomonitoramento em áreas poluídas e não poluídas do Rio Uberabinha, região de Uberlândia - Minas Gerais - por meio de análise de micronúcleos e frequência de Cromossomos B em bagre ( <i>Rhamdia quelen</i> ). .....	21
RESUMO .....	22
ABSTRACT .....	23
INTRODUÇÃO.....	24
OBJETIVOS.....	25
MATERIAL E MÉTODOS .....	26
Local de Estudo.....	26
Parâmetros Físico-químicos .....	27
Teste do Micronúcleo (TMN) .....	29
Caracterização Cariotípica .....	29
Análise Estatística .....	29
RESULTADOS.....	30
Análise química da água .....	30
Qualidade de Água.....	32
Teste do Micronúcleo .....	32
Cromossomos B (Supranumerários) .....	35
DISCUSSÃO.....	39
CONCLUSÃO .....	43
REFERÊNCIAS .....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
IGAM	Instituto Mineiro de Gestão das Águas
L	Litro
IQA	Índice de qualidade de água
<i>R. quelen</i>	<i>Rhamdia quelen</i>
DQO	Demanda química de Oxigênio
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
°C	Graus Celsius
mL	Mililitro
H	Hora
MN	Micronúcleo
mM	Milimolar
pH	Potencial hidrogeniônico
UpH	Unidades de Potencial Hidrogeniônico
Min	Minuto
DESVPAD	Desvio Padrão
mg	Miligrama

---



## LISTA DE TABELAS

### Capítulo II

TABELA I: Índice de qualidade de água de acordo com IQA-NSF.....	28
TABELA II: Avaliação dos Parâmetros químicos dos Pontos do Rio Uberabinha, de acordo com a Resolução CONAMA nº 357 de 2005 .....	31
TABELA III: Avaliação do índice de qualidade de água do Rio Uberabinha, de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo CONAMA .....	32
TABELA IV: Frequência de Micronúcleos (MN) e de células micronucleadas (CMN) em eritrócitos periféricos de <i>Rhamdia quelen</i> coletados no Rio Uberabinha, no trecho da cidade de Uberlândia - MG, de Fevereiro à Setembro de 2010 .....	34
TABELA V: Frequência de cromossomos supranumerários (Cromossomos B) de cada indivíduo da espécie <i>Rhamdia quelen</i> no Rio Uberabinha .....	36
TABELA VI: Frequência Média da presença de Cromossomos B, em relação aos 3 Pontos de coleta das amostras de <i>Rhamdia quelen</i> no Rio Uberabinha, trecho da Cidade de Uberlândia-MG.....	38

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1: Locais de coleta, Rio Uberabinha, Uberlândia-MG. P1= Ponto 1; P2= Ponto 2; P3= Ponto 3. Fonte: DSG, 1984; LIMA, 2000; UBERLÂNDIA CITYHALL, 2005.....26
- FIGURA 2: A Observação de Células de eritrócito de *Rhamdia quelen*, com magnificação de 1000x, evidenciando presença de micronúcleos indicados pelas setas.....33
- FIGURA 3: Gráfico da porcentagem de cromossomos em cada um dos Pontos de coleta.....37

---

---

# APRESENTAÇÃO

---

---

Os fatores relacionados à interferência da qualidade dos ecossistemas, como atividades industriais ou domésticas acarretam em poluição do tipo química, física ou biológica. Em virtude do papel que a água representa, são necessários programas de controle de monitoramento dos ambientes aquáticos. Na cidade de Uberlândia, região do Triângulo Mineiro de Minas Gerais, problemas associados com a gestão das águas são caracterizados por fatores químicos e biológicos, de considerável potencial mutagênico que alteram de maneira significativa a qualidade da água em alguns trechos do seu principal rio.

O Rio Uberabinha é um tributário da Bacia do Rio Araguari, suas nascentes estão localizadas no município de Uberaba, à cerca de 100 km ao sul da Cidade de Uberlândia. O trecho do Rio que engloba a cidade de Uberlândia é o principal responsável pelo abastecimento da população do município em questão, suas águas são usadas para o abastecimento público, para irrigação e geração de energia. O clima regional é tropical, caracterizado por um período de seca (entre maio e outubro) e outro úmido (entre novembro e abril). O monitoramento da qualidade das águas do rio é realizado desde 1998 pelo IGAM (Instituto Mineiro de Gestão das Águas).

Peixes são organismos sensíveis em resposta ao meio em que vivem. Muitas espécies alteram seu desenvolvimento e respostas bioquímicas em presença de certos compostos estranhos ao meio, característico de bacias poluídas. Representantes da família Heptateridae podem se enquadrar na especificação de organismos Bioindicadores, visto que as espécies referentes a essa família apresentam um padrão cromossômico bastante variável devido o aparecimento de cromossomos anexos, dos quais aparentemente não se sabe função ou importância definida para os organismos que os possuem.

O presente trabalho foi desenvolvido em dois capítulos, o Primeiro Capítulo caracteriza os aspectos gerais sobre a gestão dos recursos hídricos, e as práticas de Biomonitoramento da qualidade de águas, assim como a análise descritiva de Bioindicadores, como o peixe teleósteo *Rhamdia quelen*, o qual é caracterizado

por diversas mudanças em sua estrutura cromossômica. No Segundo Capítulo encontram-se os resultados obtidos referentes à análise citogenética exemplares coletados nas áreas poluídas e não poluídas do Rio Uberabinha e respectivas alterações no cariótipo da espécie *Rhamdia quelen*. O objetivo do estudo foi analisar a formação de micronúcleos e também a presença e frequência de cromossomos acessórios (cromossomos B) dos indivíduos amostrados em trecho poluído e não poluído do Rio Uberabinha, região de Uberlândia- MG.

---

---

# CAPÍTULO I

---

---

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

**Biomonitoramento: estratégias para gestão e conservação dos recursos hídricos.**

## 1. Utilização dos Recursos Hídricos

A poluição de águas naturais por contaminantes tanto biológicos quanto químicos representa um problema no âmbito da preservação do meio ambiente (TELLES, 1999). As alterações na qualidade da água podem ser causadas por atividades naturais, que acontecem de maneira lenta, diferentemente das atividades de natureza antrópica, que são induzidas rapidamente nos ecossistemas (ESTEVES, 1998).

Compostos orgânicos Naturais e antrópicos estranhos ao meio, conhecidos por xenobióticos entram e se encontram dispersos nos ecossistemas aquáticos por diversas vias, incluindo a descarga direta e circulação abiótica e biótica. Xenobióticos naturais incluem uma vasta gama de produtos químicos, incluindo produtos vegetais, animais, toxinas naturais e hidrocarbonetos, enquanto que a produção antrópica de xenobióticos (contaminantes) aumenta diariamente em variedade e quantidade. A poluição resulta da introdução direta ou indireta pelo homem, de moléculas ou energia que induz efeitos deteriorantes para os recursos vitais e mesmo para a saúde humana (LIVINGSTONE, 1993, 1998).

No Brasil, rios, lagos ou mesmo um aquífero próximo a uma cidade de médio ou grande porte apresentam algum grau de contaminação das águas, causando enormes prejuízos econômicos, referentes aos gastos com tratamento dos efluentes para distribuição doméstica e industrial (MACHADO, 2004). A solução mais utilizada para o destino final de resíduos é a estocagem em lixões ou o despejo direto em cursos d'água, o que implica na ocorrência de impactos ambientais significativos. Os resíduos domésticos e industriais são grandes responsáveis pelos efeitos advindos da má utilização das águas (COSTA, 2004).

O Lançamento de esgotos ou mesmo despejos industriais orgânicos nos rios aumenta a concentração de matéria orgânica no meio, ocasionando proliferação de organismos do tipo bactérias, que aumentam a taxa de respiração e, por conseguinte a demanda de oxigênio (ORSSATTO, 2008). O ambiente

aquático se contamina por produtos químicos tóxicos oriundos de atividades industriais, agrícolas e domésticas. Quando um produto tóxico, afeta um organismo, as várias respostas fisiológicas e bioquímicas que ocorrem podem ser adaptáveis ou podem levar à toxicidade (BEGUM, 2004).

Os efluentes domésticos possuem alta taxa de carbono orgânico, cloreto, nitrogênio, sódio, magnésio, sulfato e metais, incluindo ferro, zinco, cobre e cromo, assim como patógenos, representados pelos microorganismos (HIRATA, 2001). Metais pesados, caracterizados por sua estabilidade, comportamento cumulativo e capacidade de conversão para compostos mais tóxicos representam problema aos ambientes aquáticos (JAIN, 2004). Estes compostos assim como outros com potencial mutagênico, mesmo que em pequenas concentrações podem afetar o desenvolvimento dos organismos, já que eles causam danos em células e tecidos, clinicamente indetectáveis a princípio (WHITE; RASMUSSEM, 1998). Os sedimentos também funcionam como reservatórios para mutágenos hidrofóbicos ambientais, devido os movimentos pós-emissão e o parcionamento de compostos hidrofóbicos (CHEN; WHITE, 2004).

Dentre os compostos que apresentam potencial mutagênico e carcinogênico, os grupos de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e de metais pesados são os que recebem mais atenção. Além destes, bifenil policlorinado, pesticidas orgânicos, pentaclorodibenzofuranos e dibenzeno-p-dioxinas policlorinadas se particionam no sedimento, formando reservatórios de risco mutagênico (CESTARI et al., 2004).

Ambientes aquáticos são caracterizados pela intensa variação dos parâmetros físico-químicos da água, como pH, temperatura, alcalinidade e demanda de oxigênio, as quais podem alterar a bioavaliação e subsequente toxicidade dos poluentes (WITTERS, 1998; MONSERRAT et al., 2007). O CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente (2005) determina que, qualquer modificação das propriedades físicas, químicas ou biológicas da água, que possa afetar direta ou indiretamente a saúde, a segurança e o bem estar das populações, causando prejuízos a estas, vem a ser poluição aquática. Este



mesmo conselho regulamenta desde 2005 a gestão dos corpos de água superficiais, assim como seu padrão de qualidade (RESOLUÇÃO CONAMA N ° 357).

O Índice de qualidade de água (IQA), da National Sanitation Foundation, é muito utilizado como indicador para caracterização das águas de abastecimento público no Brasil. Esse índice é um método simples que, de forma resumida, pondera diversos parâmetros químicos, com função de monitorar a deterioração dos recursos hídricos (BOLLMANN; EDWIGES, 2008)

A concentração de poluentes pode impedir o desenvolvimento de muitos organismos, ocasionando desordem na cadeia alimentar. Alguns dos componentes acumulados nos níveis mais altos da cadeia trófica podem atingir o homem, e de acordo com seu grau podem levar à formação de algum tipo de câncer (RIBEIRO et al., 2003). O estudo das inter-relações de fatores químicos e biológicos do ambiente contribui para controle, conservação da qualidade da água e medidas de preservação relacionadas ao gerenciamento dos mananciais (SANT'ANNA; AZEVEDO, 1995).

A utilização de monitores genotóxicos, principalmente em organismos aquáticos são ferramentas importantes para a avaliação da qualidade hídrica, já que detectam e avaliam o efeito dos poluentes no ecossistema aquático, e consequentes alterações de seu potencial tóxico após interação com o ambiente (JESUS e CARVALHO, 2008).

## 2. Biomonitoramento da Mutagenicidade

A toxicologia ambiental analisa os efeitos adversos de substâncias químicas presentes em determinada espécie biológica e suas implicações negativas à saúde do homem e ao meio em que se enquadram (SILVA, 2005).

A utilização de indicadores biológicos é mais vantajosa em relação aos parâmetros químicos e físicos, devido a eficiência e rapidez nos resultados; monitoramento em larga escala; e resposta mais sensível em relação à estressores diversos (QUEIROZ et al., 2000). Os programas de Biomonitoramento devem apresentar Pontos controle, os quais devem apresentar impacto ambiental mínimo para que seja possível comparar com outros Pontos teste (SILVEIRA, 2004)

No que diz respeito a organismos expostos a poluentes (Bioindicadores), faz-se a necessidade do Biomonitoramento; utilizando testes em sistemas biológicos (biomarcadores), suscitando promissoras ferramentas para a identificação de poluentes capazes de causar dano à saúde humana e ao ambiente (DA SILVA et al., 2003). Dentre os organismos utilizados como Bioindicadores ambientais, estão as espécies aquáticas, tais como moluscos, peixes, anfíbios, mamíferos (COTELLE; FERARD, 1999), algas (AOYAMA et al., 2003) e planárias (GUECHEVA et al., 2001). O amplo uso de peixes é explicado pela sua capacidade de responder a tóxicos como os grandes vertebrados, podendo assim, serem Bioindicadores dos potenciais carcinogênicos e teratogênicos em humanos.

Algumas das consequências de agentes tóxicos em organismos aquáticos incluem defeitos de hereditariedade devido a mutações, declínio populacional, efeitos carcinogênicos (MICTHELMORE; CHIPMAN, 1998), redução de crescimento, desenvolvimento anormal e redução da sobrevivência de embriões, larvas e adultos (LEE; STEINERT, 2003). Em humanos são citados, além da toxicidade que pode levar ao câncer, doenças como aterosclerose, doenças cardiovasculares e velhice prematura (GROVER; KAUR, 1999).

A indução de mutações em células germinativas pode resultar em um aumento das frequências de enfermidades genéticas. Os testes de toxicidade genética são utilizados para avaliar o espectro toxicológico de compostos químicos (RIBEIRO et al., 2003). Bioensaios desempenham importância para avaliação do funcionamento dos ecossistemas, mas apenas como uma ferramenta. Sendo assim, estudos de sítios contaminados devem ser realizados para compreender a influência da especiação química e de fatores ambientais sobre a toxicidade de poluentes ambientais (WITTERS, 1998).

A escolha do teste de toxicidade irá depender do tipo de efeito, substância e organismo utilizado. Também podem ser utilizados múltiplos métodos para aumentar o grau de confiança dos testes (SILVA, 2005). Dentre os testes utilizados para investigar mutagenicidade o Teste de micronúcleos (MN) tem se mostrado um indicador sensível a danos do cromossomo e tem sido utilizado com sucesso (AL-SABIT; METCALFE, 1995). O teste do micronúcleo é o ensaio *in vitro* mais amplamente utilizado para a detecção de agentes clastogênicos (que quebram cromossomos), e de agentes aneugênicos, que são aqueles que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal (RIBEIRO et al., 2003). Micronúcleos resultam de lesões no DNA ou cromossomos, ou no nível das proteínas direta ou indiretamente envolvidas na segregação cromossômica. Formação de micronúcleos depende da perda de fragmentos cromossômicos ou de cromossomos inteiros, e requer divisão mitótica ou meiótica (KIRSCH-VOLDERS et al., 2003).

O teste com utilização de eritrócitos é uma alternativa para diagnóstico de aberrações cromossômicas. Uma gota de sangue produz milhares de células viáveis para o teste, com eficiência na contagem microscópica garantida pela uniformidade das células e treinamento simples (HOOFMAN; RAAT, 1982).

O Teste de Micronúcleo foi aplicado por Hose et al. (1987) na detecção de fragmentos em eritrócitos de peixes de ambientes poluídos no Sul da Califórnia, e de acordo com o Ponto controle foi encontrado frequência irregular de micronúcleos nos Pontos mais poluídos. A ação de agentes tóxicos pode originar

um ou vários micronúcleos por célula, que formam fragmentos acêntricos ou cromossomos que se atrasam em relação aos demais no estágio de migração para os pólos celulares durante a anáfase, que representa uma fase característica dos processos de divisão celular (SHIMID, 1975; AL-SABTI, 1995; FENECH, 2000).

Os micronúcleos são estruturalmente pequenos núcleos representando o material genético que foi perdido pelo núcleo principal, ocasionado por dano genético que pode ser causado por agentes físicos, químicos ou biológicos, capazes de interferir no processo de ligação do cromossomo as fibras do fuso, ou que possam induzir a perda do material genético (cromossomos inteiros ou fragmentados). O teste de micronúcleos, portanto, detecta mutagênese cromossômica em eucariotos do tipo clastogênese, aneugênese e danos no fuso mitótico (VILLELA et al., 2003). O teste do micronúcleo é amplamente utilizado no Biomonitoramento de danos genotóxicos, aplicado para populações expostas direta ou indiretamente às substâncias mutagênicas. A frequência de Micronúcleos representa também a eficiência do mecanismo de defesa dos organismos indicadores (MERSCH et al., 1996).

O monitoramento deve ser visto como um processo essencial para a gestão dos recursos hídricos, já que permite a obtenção de informações estratégicas, acompanhamentos das medidas efetivas e atualização do banco de dados para melhor gerenciamento das águas superficiais (MAGALHÃES JÚNIOR, 2000).

### 3. Bioindicadores

Organismos expostos a poluentes aquáticos sofrem alterações a nível operacional e estrutural de suas células, resultando em alterações, as quais podem afetar a integridade não só de indivíduos isolados, mas sim de uma população e do ecossistema (PARVEZ; RAISUDDIN, 2005).

O termo biomarcador não pode ser confundido com bioindicador, nem com indicador ecológico. O primeiro representa qualquer variável de resposta biológica para uma substância química presente no ambiente. Já bioindicador representa o organismo do qual se está obtendo as informações das condições ambientais do seu habitat, enquanto indicadores ecológicos é o parâmetro ecológico que descreve a estrutura e o funcionamento do ecossistema (VAN GASTEL; BRUMMELLEN, 1996).

Organismos Bioindicadores são aqueles de origem animal ou vegetal sensíveis à poluição. Estes indivíduos ou comunidades, quando expostos a alguma alteração no ambiente, podem reagir alterando seus processos vitais. As respostas fisiológicas, bioquímicas, genéticas e comportamentais ocasionadas pela influência do meio podem interferir no desenvolvimento desses indivíduos de maneira irreversível (LARCHER, 2000).

Os bioensaios com peixes, sob condições controladas, analisam variáveis como mortalidade, alterações comportamentais e danos nos tecidos ou células, com possibilidade de estabelecer ou mesmo prever alguns efeitos de contaminantes em ecossistemas aquáticos naturais (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 1996).

Os peixes que estão passíveis de contaminação, ao ingerir substâncias contaminadas desenvolvem, posteriormente, alterações devidas a bioacumulação (KJORSVIG et al., 1989). Dessa forma são utilizados como modelo para a avaliação de contaminação em ambientes aquáticos (MITCHELL; KENNEDY, 1992). Peixes teleósteos são bons indicadores de contaminação de poluentes,

devido à similaridade de resposta bioquímica com os mamíferos (SANCHO et al., 2000).

O gênero *Rhamdia* esta distribuído praticamente em todas as bacias hidrográficas brasileiras (BOCKMANN, 2007), fato que colabora para utilização das espécies desse gênero como bioindicadores, visto que estudos com esses indivíduos podem ser reproduzidos em outros lugares.

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um teleósteo nativo da América do Sul, com grande importância econômica (LAZZARI et al., 2006). Esta espécie do gênero *Rhamdia*, pertencente à família Heptapteridae, ordem Siluriformes, grupo Teleostei, tem preferência de viver em águas profundas, calmas com fundo de areia e lama, próximos às margens e vegetação, e possui hábitos noturnos (BALDISSEROTTO, 2004). Estas espécies normalmente escondem-se entre pedras e troncos, de onde eles saem à noite para procurar alimento. O hábito alimentar é preferencialmente onívoro, porém possuem uma clara tendência a ser carnívoro. O crescimento máximo das fêmeas pode alcançar 66,5 cm, e tempo de vida de cerca de 20 anos. Já os machos podem chegar aos 52,0 cm com tempo médio de vida de 11 anos (GOMES et al., 2000).

#### **4, Caracterização Citogenética do gênero *Rhamdia***

O crescimento expressivo dos trabalhos desenvolvidos em peixes neotropicais, associado com a necessidade de descoberta de organização cromossômica desses indivíduos, fez com que a citogenética clássica e molecular passassem por importantes avanços. Técnicas para obtenção de cromossomos mitóticos, como a proposta por Bertollo *et al.* (1978) alavancaram os estudos citogenéticos de peixes neotropicais, como o *Rhamdia*.

O gênero *Rhamdia*, pertence ao grupo dos Siluriformes, a grande variabilidade cariotípica desses indivíduos sugere a presença de rearranjos cromossômicos envolvidos na especiação (SWARÇA *et al.*, 2000). Este gênero apresenta um número diplóide  $2n = 58$  cromossomos, com variações numéricas de 58 a 63 cromossomos, as quais são atribuídas à presença de cromossomos supranumerários ou cromossomos B (STIVARI; MARTINS-SANTOS, 2004).

Genomas de espécies eucarióticas são compostos não somente por genes encontrados em cromossomos normais, conhecidos por Cromossomos A, mas também em elementos genéticos que não obedecem a leis Mendelianas de herança, como: segregações distorcidas, diversos fatores citoplasmáticos e Cromossomos B, também conhecidos por cromossomos acessórios (CAMACHO *et al.*, 1999).

O termo cromossomo pode ser utilizado para casos em que os cromossomos supranumerários apresentam uma frequência elevada dentro da população (JONES; REES, 1982). Existem mecanismos capazes de controlar o número de cromossomo B em determinados órgãos do indivíduo ou de favorecer a sua transmissão gamética. Os cromossomos B podem de outro modo, interferir em características críticas para as espécies, como no processo de pareamento de homólogos do complemento A. Em tais casos, considera-se que tais cromossomos poderiam conferir uma vantagem adaptativa para a espécie (GUERRA, 1988).

De acordo com as características gerais destes cromossomos alguns autores descrevem a existência de diferentes comportamentos em relação à sua ocorrência e papel nos organismos. Camacho (1993) diz que a distribuição geográfica dos indivíduos portadores de cromossomos supranumerários pode estar relacionada a fatores ecológicos e históricos.

Em *Rhamdia quelen* Hochberg; Edtman (1988) observaram variação cromossômica de 58 a 60 cromossomos. Em estudos posteriores, Fenocchio et al. (2003) descreveram a variação de 1 a 4 cromossomos anexos. Já em estudo com população de *Rhamdia quelen* do Rio Uberabinha, Uberlândia - MG foi encontrado variação máxima de sete cromossomos supranumerários, com fórmula cariotípica  $26M + 20SM + 8ST + 4A$  (GUILHERME, 2005).

De acordo com Camacho (1993), cromossomos B, ou supranumerários são considerados adicionais e não-essenciais, que estão presentes em alguns indivíduos e, provavelmente, são originários de um cromossomo A, mas seguem sua própria evolução. Dessa forma, cromossomos B não são elementos importantes para o crescimento, o desenvolvimento ou a reprodução de organismos. Cromossomos B são normalmente compostos de heterocromatina, uma característica que atrasa a replicação (VOLOBUJEV, 1981).



## REFERÊNCIAS

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

AOYAMA, K.; IWAHORI, K.; MIYATA, N. Application of *Euglena gracilis* cells to comet assay: evaluation of DNA damage and repair. **Mutation Research**. v. 538, p.155-162, 2003. Obs.; Padronizar a forma de citar os nomes dos periódicos. Citar todos os nomes por extenso ou todos abreviados.

BALDISSEROTTO, B.; SILVA, L.V.F. **Qualidade da água**. In: BALDISSEROTTO, B.; RADUNZ NETO, J. Criação de Jundiá. Rio Grande do Sul: Universidade Federal de Santa Maria, 2004. P. 73-94

BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHI, C.S.; MOREIRA FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Genetic**, v.1, n. 2, p. 103-120, 1978.

BEGUM, G. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (Linn) and recovery response. **Aquat. Toxicol.**v. 66, p. 83-92, 2004.

BOCKMANN, F.A. **Família Heptapteridae**. In: Buckup, P.A; Menezes, N.A; Ghazzi, M.S. Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Museu Nacional, Rio de Janeiro, p. 104 -109, 2007.

BOLLMANN, H.A.; EDWIGES, T. Avaliação da qualidade das águas do rio Belém, Curitiba – PR, com o emprego de indicadores quantitativos e perceptivos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 13, n.4, p. 443-452, 2008.

CAMACHO, J.P.M. **Polymorphisms and geographic distribution**. In: Firt B - Chromosome conference. Universidade Autonoma de. Madrid. Spain, 1993.

CAMACHO, J.P.M., SHARBEL, T. F.; BEUKEBOOM, L. W. B chromosome evolution. **Phil Trans R Soc B**, 1999. 354 p..

CESTARI, M.M.; LEMOS, P. M.M.; RIBEIRO, C .A. O.; COSTA, J. R. M. A.; PELLETIER, E.; FERRARO, M.V.M.; MANTOVANI, M.S.; FENOCCHIO, A.S. Genetic damage induced by trophic doses of lead in the neotropical fish *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae) as revealed by the comet

assay and chromosomal aberrations. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, p.270-274, 2004.

CHEN, G.; WHITE, P.A. The mutagenic hazards of aquatic sediments: a review. **Mutation Research**, v.567, p.151-225, 2004.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, 2005.

COSTA, M. A. G. **Poluição ambiental: herança para gerações futuras**. Santa Maria, RS: Orium, 2004. 254 p.

COTELLE, S.; FERARD, J.F. Comet assay in genetic ecotoxicology: a review. **Environmental and Molecular Mutagenesis** v. 34 p. 246-255, 1999.

DA SILVA, J.; HEUSER, V.; ANDRADE, V. Biomonitoramento ambiental. **Genética toxicológica**, p.167-178, 2003.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. 2ª Ed: Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 1998. 602p.

FENECH, M. The cytokinesis-blockmicronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. **Mutation Research**, v. 285, p. 35-44, 1993.

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHO, C.S.; DIAS, ALL.; SWARÇA, A.C. Cytogenetic Studies and Correlate Considerations on Rhamdiinae Relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). **Cytologia**, v.68, n. 4, p. 363-368, 2003.

GOMES, L.C., GOLOMBIESKI, J.I., GOMES, A.R.C., BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v.30, p.7130-7139, 2000.

GROVER, I.S.; KAUR, S. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detect by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays. **Mutation Research**, v.426 p.183-188, 1999.

GUECHEVA, T.; HENRIQUES, J.A.P.; ERDTMANN, B. Genotoxic effects of copper sulphate in freshwater planarian *in vivo*, studied with the single-cell gel test (comet assay). **Mutation Research**, v.497 p.19-27, 2001.

GUERRA, M. **Introdução a Citogenética Geral**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1998.

GUILHERME, L.C. **Estudos reprodutivos, citogenéticos na população de *Rhamdia quelen* (Pisces, Rhamdiidae) do rio Uberabinha no município de Uberlândia – MG e desenvolvimento de sistema artesanal de recirculação d'água para criação de peixes**. Tese de doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, 2005.

HIRATA, R. Recursos Hídricos. In: TEIXEIRA, W.; TOLEDO, M. C. M.; FAIRCHILD, T. R.; TAIOLI, F. **Decifrando a Terra**. São Paulo: Oficina de Textos, cap.20, 2001. p. 421-444.

HOCHBERG, V.B.M.; ERDTMANN, B. Cytogenetical and morphological considerations on *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae) – The occurrence of B chromosomes polymorphic NOR regions. **Revista Brasileira de Genética**, v.11, n.3, p.563-576, 1998.

HOOFTMAN, R.N.; RAAT, W. K. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pygmae* by ethyl methanesulphonat. **Mutation Research**, v.104, p. 147-152, 1982.

HOSE, J.E., CROS, J.N., SMITH, S.G.; DIEHL, D. Erythrocytes micronuclei in fish from contaminated sites off Southern California. **Mar. Environ. Res.** v.22, p. 167-176, 1987.

JAIN, C.K. Metal fractionation study on bed sediments of river Yamuna, India. **Water Research**, v.38, p.569-578, 2004.

JESUS, T.B.; CARVALHO, C.E.V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, p. 680-693, 2008.

JONES, R.N. & Rees, H. **B Chromosomes**. New York: Academic press, 1982.

KIRSCH-VOLDERW, M.; SOFUNI, T.; ARDEMAR, M.; ALBERTINI, S.; EASTMOND, D.; FENECH, M.; ISHIDATE, M.; KIRCHNER, S.; LORGE, E.;

MORITA, T.; NORPPA, H.; SURRALLES, J.; VANHAUWAERT, A.; WAKATA, A. Report from the *in vitro* micronucleus assay working group. **Mutation Research**, v. 540 p.153-163, 2003.

KJORSVIG, E., MANGOR-JENSEN, A. & HOLMEFJORD, I. **Egg quality in marine fishes**. Fisk rapport 5, 1989. 29 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA. Trad. Carlos Henrique B. A. Prado. 2000. 532 p.

LAZZARI, R.; RADUNZ NETO, J; EMANUELLI, T.; PEDRON, F. A.; COSTA, M. L.; LOSEKARNN, M. E.; CORREIA, V.; BOCHI, V. C. Diferentes fontes protéicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n.1, p. 240-246, 2006.

LEE, R.F.; STEINERT, S. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. **Mutation Research**, v. 544 p. 43-64, 2003.

LIVINGSTONE, D.R. Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarker in the aquatic environment. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**v. 57, p. 195–211, 1993.

LIVINGSTONE, D.R. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 120, p. 43–49, 1998.

MACHADO, C.J.S. **Gestão de águas doces**. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2004. 372 p.

MAGALHÃES JUNIOR, A.P. **A situação do monitoramento das águas no Brasil: instituições e iniciativas**. Porto Alegre/RS: ABRH Revista Brasileira de Recursos Hídricos, vol.5, nº3, jul/set. 2000, p.113-115.

MERSCH, J.; BEAUVAIS, M-N; NAGEL, P. Induction of micronucleus in haemocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens. **Mutation Research**, v.371, p. 47-55, 1996.

MITCHELL, S. & KENNEDY, S. Tissue concentrations of organochlorine compounds in common seals from the coast of Northern Ireland. **Science of the Total Environment**, v. 115, p. 235-240, 1992.

MITCHELMORE, C.L.; CHIPPMAN, J.K. DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. **Mutation Research**, v.399, p.135-147, 1998.

MONSERRAT, J.M .; MARTINEZ, P. E. ; GERACITANO, L.A ; AMADO, L.L; MARTINS, C.M.G. ; PINHO, G.L.L.; CHAVES, I. S. ; FERREIRA-CRAVO, M; VENTURA-LIMA, J. ; BAINCHINI, A. Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology. C, Toxicology & Pharmacology*, v. 146, p. 221-234, 2007.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A.; GUIMARÃES, J.R.D.; PFEIFFER, W.C. Accumulation and distribution of inorganic mercury in a tropical fish (*Trichomycterus zonatus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 34, p. 190-195, 1996.

ORSSATTO, F. Avaliação do oxigênio dissolvido do Córrego Bezerra a montante e a jusante de uma estação de tratamento de esgoto sanitário, Cascavel, Paraná. **Revista Brasileira de Biociências**: Porto Alegre, v. 6, n. 1, p.27-28, 2008.

PARVEZ, S., RAISUDDIN, S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). **Environ. Toxicol. Pharmacol**, v. 20, p. 112–117, 2005.

QUEIROZ, J.F.; TRIVINO-STRIXINO,S.; NASCIMENTO, V.M.C. Organismos bentônicos bioindicadores da qualidade das águas da bacia do médio São Francisco. **Embrapa Meio Ambiente**, n.3, p. 1-4, 2000.

RIBEIRO, L.R., FÁVERO SALVADORI, D.M. & MARQUES, E.K. 2003. **Mutagênese ambiental**. Canoas: Ed. ULBRA, 356p.

SANCHO, E., CERÓN, J.J., FERRANDO, M.D. Cholinesterase activity and hematological parameters as biomarkers of sublethal molinate exposure in *Anguilla anguilla*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, p. 81–86, 2000.

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P. Oscillatoriaceae (Cyanophyceae) from São Paulo State, Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 60, n. 1-2, p. 19-58, 1995.

SCHMID, W. The micronuclei test. **Mutation Research**; v. 31, p.9-15, 1975.

SILVA, D.C. da. **Efeitos tóxicos e genéticos ocasionados por agrotóxicos**. 56 f. Monografia (Especialização em Gestão de Recursos Naturais) - Universidade

do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2005.

SILVEIRA, M.P. **Aplicação do Biomonitoramento para avaliação da qualidade da água em rios. Jaguariúna.** Embrapa, Meio Ambiente. v.36, p.68, 2004.

STIVARI, M. K.; MARTINS-SANTOS, I.C. Karyotype diversity in two populations of *Rhamdia quelen* (Pisces, Heptapteridae). **Cytologia**, v. 69, p. 25-34, 2004.

SWARÇA, A.C., GIULIANO-CAETANO, L. & DIAS, A.L. Cytogenetics of species of the families Pimelodidae and Rhamdiidae (Siluriformes). **Genetic and Molecular Biology**, v.23, n.3, p. 589-593, 2000.

TELLES, D. D. Água na agricultura e Pecuária. In REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. (Org. e coord. Cient.). **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação.** São Paulo: Escrituras Editora, 1999. p. 305-307

VAN GASTEL, C.A.M.; VAN BRUMMELEN, T.C. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. **Ecotoxicology**, v. 5, p. 217 – 225, 1996.

VILLELA L.; SUREDA A.; CANALS C.; SANZ M.A. JR.; MARTINO R.; VALCARCEL D.; ALTES A.; BRIONES J.; GOMEZ M.; BRUNET S.; SIERRA J. Low transplant related mortality in older patients with hematologic malignancies undergoing autologous stem cell transplantation. **Haematologica**, v. 88, n.3, p. 300-305, 2003.

VOLOBUJEV, V.T. The B-chromosome system of mammals. **Caryologia**, v.34, p.1-23, 1981.

WHITE, P.A.; RASMUSSEN, J.B. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. **Mutation, Research**, v. 410, p.223-226, 1998.

WITTERS, H.E. Chemical speciation dynamics and toxicity assessment in aquatic ecosystems. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 41, p. 90–95, 1998.

---

---

## **CAPÍTULO II**

---

---

**Biomonitoramento em áreas poluídas e não poluídas do Rio Uberabinha, região de Uberlândia - Minas Gerais - por meio de análise de micronúcleos e frequência de Cromossomos B em bagre (*Rhamdia quelen*).**

## RESUMO

O ambiente aquático está repleto de produtos químicos tóxicos oriundos de atividades industriais, agrícolas e domésticas. A toxicologia ambiental caracteriza os efeitos referentes às substâncias químicas presentes em determinada espécie biológica e suas implicações. O gênero *Rhamdia* apresenta cromossomos B, que parecem estar conservados em grande parte das espécies do gênero, sendo característica importante para o processo evolutivo. O trabalho objetivou avaliar os aspectos citogenéticos de 45 exemplares de uma população de *Rhamdia quelen*, coletados em três trechos com diferentes padrões de qualidade de água no Rio Uberabinha, região de Uberlândia, Minas Gerais. As espécies foram avaliadas pelo Teste do Micronúcleo Písceo, pela contagem de eritrócitos. Os resultados do TMN indicam significativo potencial mutagênico e citotóxico nos Pontos tratados, em concordância com os parâmetros químicos analisados. Sendo assim, a espécie *Rhamdia quelen* pode ser considerada como bioindicador eficiente. A contagem dos cromossomos apresentou número modal  $2n=58$ , com variação de um a sete cromossomos supranumerários. A maior frequência de cromossomos B e presença de metáfases com sete cromossomos supranumerários ocorreu no Ponto 3, referente ao Ponto de maior potencialidade mutagênica. Houve correlação positiva entre a presença de cromossomos B e a interferência da qualidade Ambiental.

Palavras-chaves: Supranumerário; Mutagênese; Citogenética.



## ABSTRACT

The aquatic environment is contaminated by toxic chemicals from industrial, agricultural and domestic activities. The environmental toxicology characterizes the effects related by chemical substances present in some species and their biological implications. The genus *Rhamdia* presents B chromosomes, which appear to be conserved in most species of the genus, and represents character important to the evolutionary process. The study aimed to evaluate the cytogenetic aspects of 45 copies of a population of *Rhamdia quelen* collected in three areas with different standards of water quality in Uberabinha River, the region of Uberlandia, Minas Gerais. The species were evaluated by the Micronucleus Test, by counting the erythrocytes. The TMN results indicate the significant genotoxic and cytotoxic potential in the points, in agreement with chemical analysis. This way the species *Rhamdia quelen* can be considered an efficient bioindicator. The chromosome counting showed the modal number  $2n=58$  with variance between none and one to seven B chromosomes. The higher frequency of B chromosomes and presence of the karyotype with seven chromosomes supernumerary occurred at Point 3, referring to the Local with the highest potentially mutagenic. There was positive correlation between the presence of B chromosomes and the interference on Environmental quality.

Key words: Supernumerary;; Mutagenesis; Cytogenetic.

## INTRODUÇÃO

Compostos químicos estranhos ao ambiente têm influenciado a dinâmica dos ecossistemas, alterando, dessa maneira, o desenvolvimento de todos os organismos presentes no meio e suas inter-relações (VAN DER OOST et al., 2003).

Os efeitos deletérios sobre os indivíduos de uma população não são percebidos com facilidade, visto que os efeitos maléficos tendem a se manifestar após longos períodos de tempo. A ação de poluentes pode ser examinada diretamente em vários organismos, normalmente através da análise de células, tecidos ou órgãos, mediante a utilização de biomarcadores, mas os efeitos mutagênicos destas substâncias podem não se manifestar por várias gerações (PADRANGI et al., 1995).

Schmid (1975) e Heddle (1973) caracterizaram um ensaio citogenético representativo da quantificação de corpúsculos de Howell-Jolly, estruturas citoplasmáticas, conhecidas como micronúcleos, oriundas de dano no DNA. Os micronúcleos são corpúsculos extranucleares formados durante o processo da mitose, resultado de fragmentos cromossômicos acêntricos ou de cromossomos inteiros que não ficaram incluídos em nenhum dos núcleos filhos, originados no processo de divisão celular, caracterizando eventos clastogênicos ou aneugênicos (ALBERTINI et al., 2000).

Alterações morfológicas nucleares são problemas recorrentes da segregação dos cromossomos eventualmente emaranhados e agregados ou ainda da amplificação gênica no ciclo ponte/quebra/fusão e a posterior eliminação do DNA com amplificação destes cromossomos (ERGENE et al. 2007).

O *Rhamdia quelen*, de nome popular Jundiá é um peixe teleósteo, da Ordem Siluriforme e família Heptapteridae, essa espécie apresenta cromossomos B, conhecidos como supranumerários. Tais cromossomos não possuem função definida e seu número na espécie *Rhamdia quelen* pode variar entre um e sete,

sendo mais frequente a presença de até dois desses elementos. Os supranumerários podem variar em tamanho, de micro a médios (GARCIA, 2005).

A População deste estudo pertence à área do Rio Uberabinha, a qual abrange 2000 Km<sup>2</sup>. Incluso em três municípios: Uberaba, Uberlândia e Tupaciguara, o rio flui através de áreas em que são cultivadas predominantemente soja e milho, bem como as zonas urbanas. O rio apresenta áreas particulares afetadas pela área urbana, além de áreas em que ocorre despejo de resíduos de atividades industriais e espaços em que são lançados resíduos oriundos da estação de tratamento de esgoto da Cidade de Uberlândia (BRITES; RANTIN, 2004). Sendo assim, poluentes aquáticos presentes em áreas específicas do Rio Uberabinha podem induzir respostas biológicas nos teleósteos em questão, de forma a originar cromossomos supranumerários, comparando com amostras de áreas não poluídas (Ponto controle).

## **OBJETIVOS**

Biomonitorar a qualidade das águas do Rio Uberabinha, na região da cidade de Uberlândia- Minas Gerais, utilizando como bioindicador o peixe *Rhamdia quelen*, assim como comparar a contaminação em diferentes áreas selecionadas ao longo do curso do rio, através dos parâmetros físico - químicos.

Avaliar mutagenicidade, utilizando o teste do micronúcleo (MN) em eritrócitos e evidenciar a presença de cromossomos acessórios (cromossomos B), através da contagem cromossômica dos indivíduos amostrados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local de Estudo

O material biológico foi coletado em 3 Pontos de amostragem (Figura 1) de características adversas (levando-se em conta o potencial genotóxico pontual) no

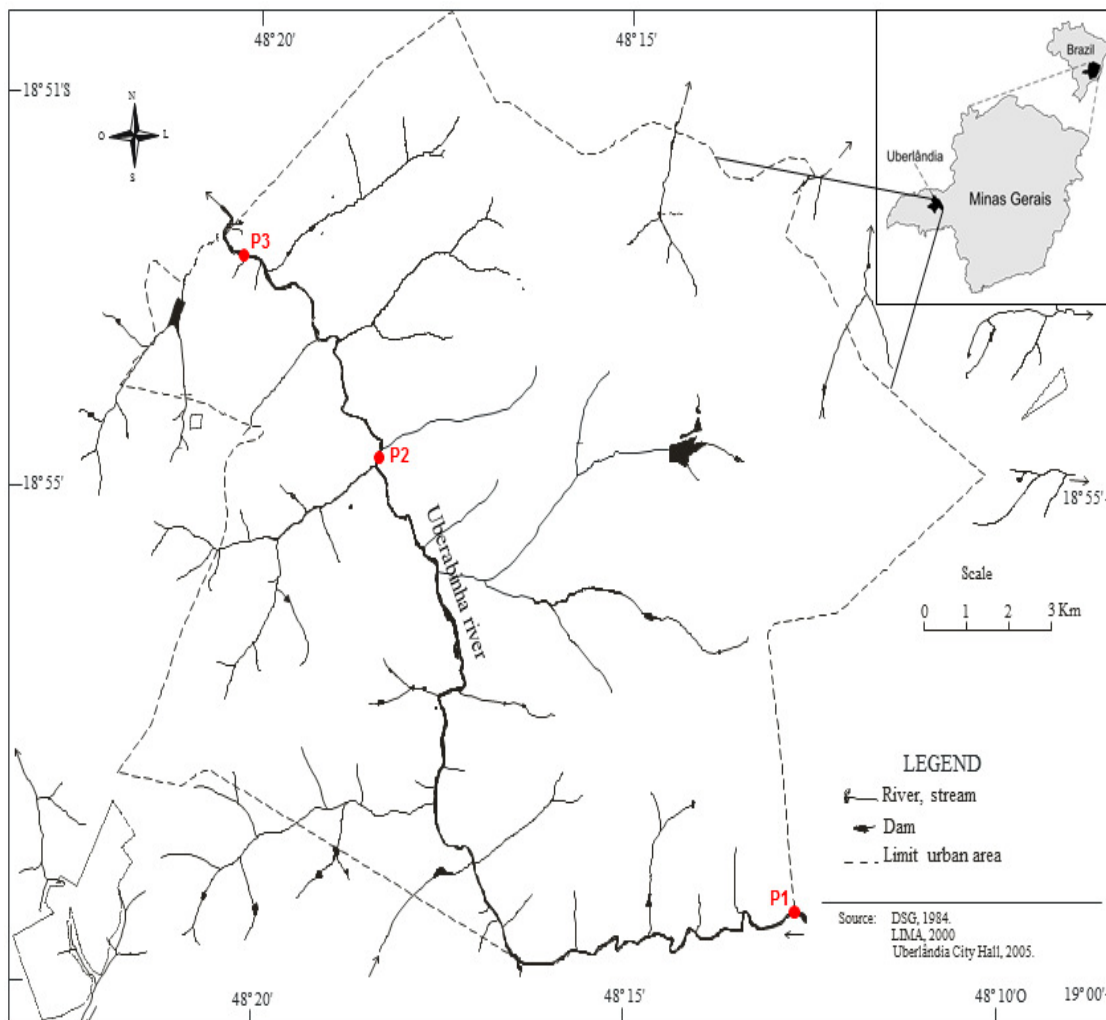


Figura 1: Locais de coleta, Rio Uberabinha, Uberlândia-MG. P1= Ponto 1; P2= Ponto 2; P3= Ponto 3. Fonte: DSG, 1984; LIMA, 2000; UBERLÂNDIA CITY HALL, 2005.

Ponto 1 - Ponto Controle localiza-se cerca 26 metros a montante da ponte da BR-050, na saída para a cidade de Uberaba. Neste Ponto ocorre a presença de mata ciliar. Coordenada geográfica do local 18°53'25.08"S e 48°13'32.41"O.

Ponto 2 - O Segundo Ponto de coleta está localizado a jusante do Ponto controle. Coordenada geográfica do local 18°54'11.21"S e 48°18'17.10"O.

Ponto 3 - O Terceiro Ponto de coleta está localizado na fazenda Capim Branco, propriedade da Universidade Federal de Uberlândia. Coordenadas geográfica do local 18°53'18.03"S e 48°20'11.16"O.

### **Material Biológico**

Foram realizadas 6 coletas durante o período de seca (maio, Junho, julho, Agosto e Setembro de 2010) e cheia (Fevereiro, março e abril de 2010). 45 exemplares de Bagre foram identificados pelo Laboratório de Ictiologia de Ribeirão Preto como *Rhamdia quelen* de ambos os sexos foram coletados e transportados vivos até o laboratório de Citogenética da Universidade Federal de Uberlândia. Nos parâmetros morfométricos do peixe foram incluídos o peso e o tamanho. As amostras foram capturadas utilizando anzol, molinete e isca viva (minhoca). Os peixes foram mantidos em isopor com água do local e aeração, e em seguida transportados até o Laboratório no período noturno.

### **Monitoramento das amostras**

Os peixes foram mantidos em aquários de vidro (24" x 20" x 20"), contendo 60 L de água sem cloro. Os peixes foram aclimatizados por 1 dia antes da sua utilização. A água do aquário foi mantida saturada de oxigênio por aeração e a temperatura controlada em ambiente de laboratório ( $25 \pm 2$ . °C).

### **Parâmetros Físico-químicos**

Foram realizadas 5 coletas de água, para garantir maior confiabilidade da técnica. As características físico-químicas da água nos 3 Pontos do Rio foram amostradas e analisadas de acordo com os procedimentos de Boyd and Tucken (1992), oxigênio dissolvido, temperatura, pH, Amônia não-ionizada, Taxa de nitrito, nitrato, Alcalinidade e dureza. Os parâmetros foram realizados em parceria com o instituto de química da Universidade Federal de Uberlândia.

## Índice de Qualidade de Água (IQA)

A determinação do IQA deste trabalho foi realizada de acordo com a metodologia do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM). Os cálculos foram analisados com auxílio do Software IQADATA, disponibilizado pela Universidade de Santa Cruz do Sul - Estado do Rio Grande do Sul. O IQA é determinado pelo produto ponderado das qualidades estabelecidas para cada parâmetro (oxigênio dissolvido, coliformes fecais, pH, demanda bioquímica de oxigênio, nitrato, fosfato total, temperatura da água, turbidez e sólidos totais). Os resultados para o índice final de qualidade de água (Tabela 1) podem ser Excelente, Bom, Médio, Ruim e Muito Ruim.

Tabela I: Índice de qualidade de água (IQA-NSF).

<u>CLASSIFICAÇÃO</u>	<u>Ponderação</u>
Excelente	$90 < IQA \leq 100$
Bom	$70 < IQA \leq 90$
Médio	$50 < IQA \leq 70$
Ruim	$25 < IQA \leq 50$
Muito Ruim	$0 < IQA \leq 25$

Fonte: IGAM (2005)

## Contaminação por Tóxicos

A Contaminação por Tóxicos de acordo com o IGAM (2000) avalia fontes poluentes de origem industrial, mineradoras, agropecuárias, entre outras. Nesse caso, foram analisadas as concentrações de parâmetros tóxicos como nitrogênio amoniacal, cádmio, chumbo, cromo, manganês e nitratos. A Contaminação por Tóxico pode ser caracterizada como Baixa; Média ou Alta.

## **Teste do Micronúcleo (TMN)**

O teste de micronúcleo foi realizado de acordo com o protocolo de Countryman; Heddle (1976) e Fenech (1993) com modificações. Após a coleta das amostras, fez-se a extração de sangue por punção venosa, com utilização de seringas heparinizadas, para realização de esfregaço em lâminas limpas (o procedimento foi realizado em duplicata), as mesmas foram secas à temperatura ambiente e após 12 horas foram fixadas em metanol 100% por 20 min. Posteriormente, as lâminas foram coradas com solução Giemsa 5% diluída em tampão fosfato (60 mM KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> e 60 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; pH 6.8) por 7 min. As lâminas foram lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente, estando assim preparada para uso. A análise citogenética foi feita em microscópio óptico (magnificação de 1000x). 2000 células por lâmina de eritrócitos mononucleados foram examinadas por peixe.

## **Caracterização Cariotípica**

As amostras foram sacrificadas para retirada de tecido para preparações Citogenéticas, extraíndo a porção anterior do rim (MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991). A preparação do material foi obtida através da técnica de suspensão celular (BERTOLLO *et al.*, 1978).

## **Análise Estatística**

Foram utilizados os testes estatísticos: Mann-Whitney. Os testes foram realizados com o programa estatístico AnalystSoft BioStat – Professional versão 2009 (AnalystSoft, BioStat - statistical analysis program). Todos os testes foram realizados com nível mínimo de significância de 0,01.

## **RESULTADOS**

### **Análise química da água**

De acordo com a Resolução n.357 de 17 de março de 2005 do CONAMA, o monitoramento das águas superficiais deve ser classificado de acordo com tolerância de cada parâmetro químico, referente às quantidades mínimas e máximas pré-estabelecidas. Na Tabela 2 são apresentados os valores médios com o desvio padrão dos parâmetros químicos analisados. É possível observar que os parâmetros apresentam variáveis de classe (classe 1, classe 2, classe 3), justificando, assim, a diferença em relação ao padrão de qualidade dos 3 Pontos.

No Ponto controle (ponto 1), foi confirmado a normalidade, já que em todos os parâmetros aferidos determinou-se a classificação de boa qualidade da água. O Ponto 2, caracterizou-se como um Ponto intermediário, por apresentar índices fora do padrão de classificação de águas do tipo 1, mas manteve-se distante dos altos valores encontrados no Ponto 3. O Local referente às coletas realizadas na Fazenda Capim Branco (ponto 3) demonstrou muitos índices fora do padrão de boa qualidade estabelecidos, como concentrações irregulares como a taxa de coliformes fecais termotolerantes e a alta concentração de DBO (demanda potencial de oxigênio dissolvido que pode ocorrer devido à estabilização dos compostos orgânicos biodegradáveis) determinando condições ruins de qualidade de água para o Ponto referido.

Os valores referentes à presença de compostos tóxicos, não evidenciou variabilidade na taxa de nitrogênio amoniacal, nem mesmo dos metais pesados cromo e manganês, mas apresentou valores de classe 2 para o composto chumbo nos dois Pontos tratados (Ponto 2 e Ponto 3), também evidenciou-se alto índice de cádmio, conferindo índice de toxicidade alto no Ponto 3.



Tabela II: Avaliação dos Parâmetros químicos do Rio Uberabinha, de acordo com a Resolução CONAMA nº 357 de 2005

Parâmetros Químicos (Unidade)	Ponto 1 (MÉDIA E DESVPAD)	Ponto 2 (MÉDIA E DESVPAD)	Ponto 3 (MÉDIA E DESVPAD)
pH (UpH)	6,51 ±1,14 *	6,01 ±2,34 *	6,03 ±1,33 *
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	0,67 ±0,56 *	0,75 ±0,65 *	1,47 ±1,86 *
Surfactantes (mg/L)	0,09 ±0,03 *	0,09 ±0,02 *	0,42 ±0,13 *
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	6,75 ±1,12 *	6,55 ±0,98*	4,11 ±1,07 **
Dqo (mg/L)	11,85 ±2,34 *	24,43 ±5,65 *	37,23 ±8,56 *
Dbo (mg/L)	2,75 ±0,21 *	6,2 ±1,15 ***	11,0 ±1,56 ***
Ferro total (mg/L)	0,232 ± 0,20 *	1,395 ±0,80 ***	1,465 ±1,03 ***
Coliformes Fecais (NMP/100 ml)	30,67 ±12,34 *	650 ±233 **	1350 ±256 ***
Nitrato (mg/L)	0,15 ±0,02 *	0,31 ±0,12 *	0,33 ±0,11 *
Sólidos totais (mg/L)	45 ±13*	57 ±18 *	98 ±29 *
Turbidez (UNT)	9,5 ±6,66 *	8,15 ±7,45 *	19,05 ±8,35 *
Temperatura (°C)	22,6 ±1,56 *	23,64 ±2,3 *	23,58 ±1,78 *
Sulfetos (mg/L)	0,001 ±0 *	0,002 ±0,07 *	0,36 ±0,11 ***
Chumbo Total (mg/L)	0,0002 ±0,0001 *	0,032 ±0,25 **	0,037 ±0,55 **
Cromo (mg/L)	0,01 ±0 *	0,01 ±0 *	0,02 ±0 *
Manganês (mg/L)	0,01 ±0,003 *	0,043 ±0,005 *	0,044 ±0,014 *
cádmio (mg/L)	0,0012 ±0,0002 *	0,0018 ±0,0011 *	0,02 ±0 ***

Classificação estabelecida pelo CONAMA: Classe 1\* (Boa qualidade); Classe 2 \*\* (qualidade Regular); Classe 3 \*\*\* (qualidade Ruim).

## Qualidade de Água

De acordo com os parâmetros estabelecidos pelo IGAM (valores médios de cada parâmetro analisados de forma quantitativa), foi possível avaliar um índice qualitativo (Tabela 3), referente a cada Ponto amostrado no Rio Uberabinha. Os dados foram analisados por meio da utilização do banco de dados IQADATA, que avalia os parâmetros, de acordo com a resolução do CONAMA. Na Tabela 3 é possível observar uma escala de qualidade de água do Ponto 1 ao Ponto 3, visto que o Ponto 1, representativo do trecho controle apresenta boa qualidade de água, seguido do Ponto 2, que possui parâmetros regulares na sua avaliação, e por fim o Ponto 3 que devido a suas irregularidades em relação ao padrão demonstra qualidade de água ruim.

Tabela III: Avaliação do índice de qualidade de água do Rio Uberabinha, de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo CONAMA.

<b>Localização</b>	<b>Ponderação</b>	<b>Classificação</b>
<b>Ponto 1</b>	80,67	Bom
<b>Ponto 2</b>	64,99	Médio
<b>Ponto 3</b>	49,53	Ruim

## Teste do Micronúcleo

As células micronucleadas (Figura 5) foram assim caracterizadas quando o fragmento apresentava proporção menor que um terço do núcleo, completamente separadas do núcleo principal; não-refratária, com mesma forma, coloração e intensidade do núcleo da célula, além de estar dentro do citoplasma celular.

De cada Ponto foram analisados 15 indivíduos, sendo que para cada indivíduo 2000 células foram avaliadas quanto à frequência de micronúcleo (Tabela 4). A frequência de micronúcleos no Ponto 2 apresentou índice intermediário, mas de relativa significância em relação a taxa espontânea normal.

O número de células micronucleadas no Ponto 3 representou taxa mais elevada quando comparado ao controle, o mesmo é observado para a frequência média de micronúcleos e número de células micronucleadas, expressa por mil. O teste estatístico Mann-Whitney, mostrou que houve diferença significativa entre os Pontos coletados ( $F= 261.17$ ). Portanto pode-se observar que os Pontos 2 e 3 diferem de forma significativa do controle, evidenciando o potencial mutagênico do meio ambiente aquático do rio.

Algumas células referentes aos Pontos 2 e 3 apresentaram mais de 1 micronúcleo, sendo assim nesses 2 sítios o número de micronúcleos foi maior que o número de células micronucleadas, diferentemente do Ponto controle.

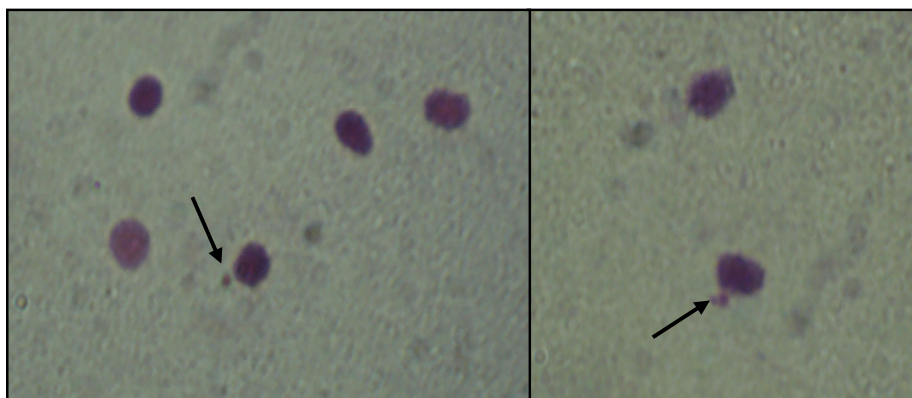


Figura 2: A: Observação de eritrócito de *Rhamdia quelen*, com magnificação de 1000x, evidenciando presença de micronúcleos indicados pelas setas.

Tabela IV: Frequência de Micronúcleos (MN) e de células micronucleadas (CMN) em eritrócitos periféricos de *Rhamdia quelen* coletados no Rio Uberabinha, no trecho da cidade de Uberlândia - MG, de Fevereiro à Setembro de 2010.

Pontos de coleta	N° de indivíduos	Total de células	Total de MN	Total de CMN	X(%) ± SD	
					<u>MN</u>	CMN
Sítio 1	15	30000	61	61	0,041 ± 3,672	0,041 ± 3,558
Sítio 2	15	30000	213	209	0,142 ± 8,590*	0,139* ± 8,832*
Sítio 3	15	30000	388	383	0,259 ± 7,555*	0,255* ± 7,769*

\*Diferença Significativa quando comparado com o Ponto controle (Sítio 1) de acordo com o teste U (Mann-Whitney), com nível de significância  $\alpha=0,05$ .

## **Cromossomos B (Supranumerários)**

A análise Citogenética para cada indivíduo (Tabela 5 e Figura 6) é representativa da Frequência Média (Tabela 6), mostra que os peixes analisados de todos os Pontos possuem um número diplóide modal de 58 cromossomos, e mostraram-se cariotipicamente diferentes entre si, em relação à variância numérica de cromossomos supranumerários. De acordo com a Tabela 6 a incidência de cromossomos B é mais frequente nos indivíduos do Ponto 3, visto que aproximadamente 65% das amostras representaram cariótipos com cromossomos B. A variação média de cromossomos B foi de 0 à 3, já que indivíduos dos Pontos 1 e 2 apresentaram tal resultado. Para todos os Pontos foi encontrada alta frequência dos citótipos  $2n=58$ , 59, 61 e exclusivamente no Ponto 3 foram encontrados citótipos do tipo  $2n=63$  e  $2n=65$ . No Ponto 1 a moda individual não variou, permanecendo com o número de cromossomos normais  $2n=58$ . O Ponto 2, foi caracterizado por variação citotípica em relação ao Ponto controle, apresentando moda do tipo  $2n=61$ . No Ponto 3, foram encontradas todas as possibilidades citotípicas descritas no trabalho, mesmo aquelas que ainda não haviam aparecido nos Pontos 1 e 2. Tais variáveis  $2n=63$  e  $2n=65$  presentes no Ponto 3 caracterizam a maior variabilidade máxima (variação de nenhum cromossomo supranumerário até 7 cromossomos supranumerários).

Tabela V: Frequência de cromossomos supranumerários (Cromossomos B) de cada indivíduo da espécie *Rhamdia quelen* no Rio Uberabinha.

	Indivíduos*	Sexo	Total de Células	Número de Cromossomos					Moda	
				58	59	61	63	65		
Ponto 1	1	M	18	14	-	4	-	-	58	
	2	F	5	5	-	-	-	-	58	
	3	F	11	7	1	3	-	-	58	
	4	M	8	5	-	3	-	-	58	
	5	F	23	17	3	3	-	-	58	
	7	F	22	21	1	-	-	-	58	
	8	M	16	12	2	2	-	-	58	
	9	M	26	21	-	5	-	-	58	
	10	F	10	5	3	2	-	-	58	
	11	F	21	13	3	5	-	-	58	
	13	M	19	14	1	4	-	-	58	
	14	F	12	9	1	2	-	-	58	
		Total		191	143	15	33			
	Ponto 2	16	M	11	6	1	4	-	-	58
17		F	9	4	2	3	-	-	58	
20		M	20	13	3	4	-	-	58	
22		M	15	10	2	3	-	-	58	
23		F	16	12	1	3	-	-	58	
24		M	14	8	3	3	-	-	58	
25		F	7	5	1	1	-	-	58	
26		M	9	2	3	4	-	-	61	
27		F	14	10	4	-	-	-	58	
28		M	12	4	2	6	-	-	61	
30		M	11	3	3	5	-	-	59	
	Total		138	77	25	36				
Ponto 3	32	F	22	11	2	3	6	-	58	
	33	M	15	8	-	4	2	1	58	
	34	F	17	4	1	2	8	2	63	
	35	M	23	13	-	4	3	3	58	
	36	F	7	2	-	4	-	1	61	
	37	F	13	6	2	3	-	2	58	
	38	M	13	4	2	-	3	5	65	
	41	F	10	2	2	5	-	1	61	
	42	M	12	2	3	1	4	2	63	
	43	F	11	6	2	1	-	2	58	
	44	F	21	5	4	1	5	6	65	
45	M	17	3	1	5	6	2	63		
	Total		182	66	19	33	37	27		

Os indivíduos 6 M, 12F e 15 M do Ponto 1; 18 M, 19F, 21 M e 29 F do Ponto 2 e 31F, 39F e 40F do Ponto 3, não forneceram resultados. M= macho e F= Fêmea

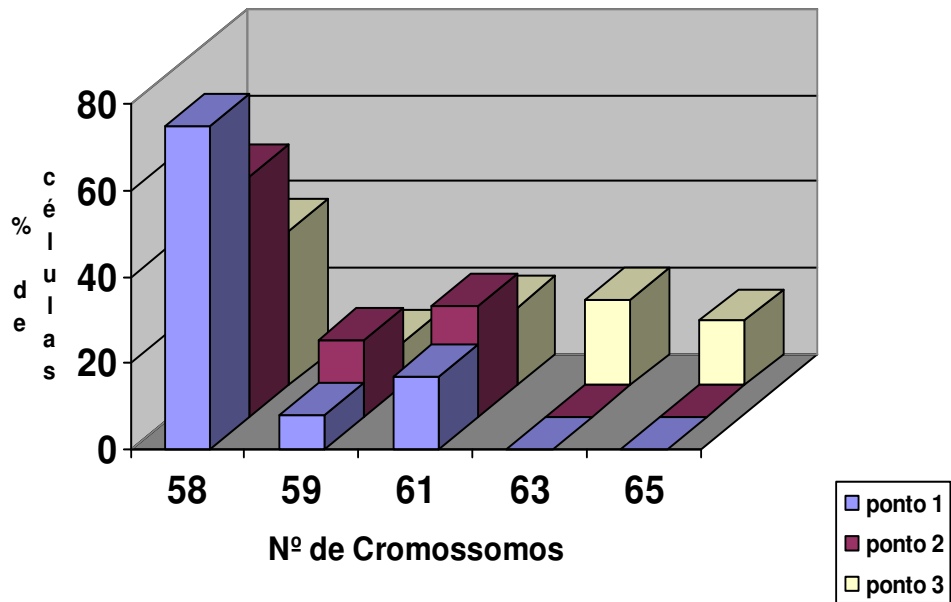


Figura 3: Gráfico da porcentagem de células em relação ao número de cromossomos em cada um dos Pontos de coleta. Sem B ( $2n=58$  cromossomos); com 1 B ( $2n=59$  cromossomos); com 3 B ( $2n= 61$  cromossomos); com 5 B ( $2n=63$  cromossomos) e com 7 B ( $2n= 65$  cromossomos).

Tabela VI: Frequência Média da presença de Cromossomos B, em relação aos 3 pontos de coleta das amostras de *Rhamdia quelen* no Rio Uberabinha, trecho da Cidade de Uberlândia-MG.

Locais de Coleta	Número de indivíduos	Nº de células	Variação Mín. e Máx. de Cromossomos B	Frequência(%) de cromossomos B				
				Nenhum	1 B	3 B	5 B	7 B
Sítio 1	12	191	0 - 3	0,7487	0,7850	0,1728	0	0
Sítio 2	11	138	0 - 3	0,5580	0,1811	0,2609	0	0
Sítio 3	12	182	0 - 7	0,3626	0,1044	0,1813	0,2034	0,1483



## DISCUSSÃO

Os corpos hídricos com finalidade para o abastecimento público, enquadrados em sistema de captação, necessitam de marcadores para estabelecer às condições mínimas de qualidade dessas águas. A ocupação descontrolada de uma bacia provoca alterações na qualidade desse recurso, devido às diversas atividades humanas, que normalmente desencadeiam processos de contaminação (GASPARINI, 2001).

De acordo com as características físico-químicas analisadas, houve variação em todos os parâmetros de um sítio para outro no mesmo período de coleta. No Ponto controle, o rio apresenta boa qualidade de água, visto que ainda não recebeu contribuições de esgoto, nem mesmo qualquer outro tipo de despejo doméstico ou industrial. Já no Ponto 2, o rio recebe a contribuição dos esgotos domésticos e industriais de praticamente toda a cidade, além da presença próximo a extração de basalto, portanto apresenta taxas além das recomendáveis. Mas em consideração ao valor de IQA intermediário, esse trecho do rio, referente ao sítio 2 apresenta qualidade regular. Já o Ponto 3, está localizado à jusante da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE), do aterro sanitário e do complexo industrial da cidade de Uberlândia, e por tal localização é o trecho que mais sofre pela ação antrópica, e dessa forma parâmetros ponderáveis para IQA ruins, e diferentemente do Ponto 1, esse trecho necessita de tratamento completo para utilização das águas.

O IQA reflete a contaminação por esgotos, outros compostos orgânicos, nutrientes e sólidos, sendo assim o Ponto 2 quando comparado ao referencial (Ponto 1) apresenta qualidade do tipo regular e não afeta de maneira intensa os indivíduos que ali vivem, como acontece no Ponto 3, de alto potencial mutagênico devido a carga significativa de compostos poluidores. Os valores encontrados acima do permitido pelo CONAMA demonstram algum grau de impacto no corpo hídrico relacionado à poluição orgânica, uma vez que estes fatores estão

relacionados com a produtividade do ecossistema e a indução de compostos orgânicos na bacia (ESTEVES, 1998).

Além do potencial mutagênico, relacionado com misturas complexas que acarretam problemas para os organismos presentes no habitat, outras variáveis como os altos índices de despejos de carga orgânica resultam na morte de várias espécies de peixes, visto que excedem a capacidade de autodepuração do corpo hídrico, com esgotamento da quantidade de oxigênio (DERISIO, 2000).

A citogenética é eficaz na análise de comparações de variações ocorridas no número e na estrutura cromossômica. O teste de micronúcleo aplicado ao biomonitoramento consiste em uma ferramenta prática para uso do Biomonitoramento Ambiental (RIBEIRO et al., 2003). O Teste do Micronúcleo Píscico é um biomarcador bastante utilizado em análises ambientais, já que estudos de mutagenicidade usando análises citogenéticas em peixes determinam a sensibilidade destes, de acordo com a influência do meio em que vivem (AL-SABTI; METCALFE, 1995)

O teste biológico (Teste do Micronúcleo) corrobora com os índices químicos de qualidade de água, visto que o meio influencia de forma significativa os organismos presentes nos Pontos 2 e 3, acarretando em incremento da taxa de micronúcleo para tais indivíduos. O aumento do nível de indução de Micronúcleos em eritrócitos nos Pontos tratados é determinado pela concentração da dose e o tempo exposto a compostos potencialmente mutagênicos, como o cádmio e os derivados de sulfeto. O cádmio é um metal que se encontra presente em águas contaminadas, podendo ser tóxico aos organismos deste ecossistema. Este metal desencadeia efeitos patológicos nos peixes, afetando o desenvolvimento, a atividade reprodutiva e os processos osmorregulatórios. A absorção desse metal ocorre de maneira direta (pelas brânquias), ou indireta por meio da cadeia alimentar (HAMILTON et al., 1998; WU et al., 2007). Já a taxa de sulfetos, do tipo dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ), hidrato bissulfito ( $\text{HSO}_3^-$ ) e sulfito demonstraram mutagenicidade em alguns mamíferos (YI; MENG, 2003). Assim como o metabissulfito de Sódio (SMB) que induziu aberrações cromossômicas,

com quebra de cromátides e cromossomos em diversas concentrações estudadas, para células humanas (RENCUZOGULLARI et al., 2001)

O Ponto 3, localizado na Br 050 com maior índice de Mn ( $0,259 \pm 7,755$ ) e células micronucleadas ( $0,255 \pm 7,769$ ) corrobora com a relação entre a frequência de micronúcleos e a proximidade com a fonte presumida de poluição, suportando a adequação da espécie em questão (*Rhamdia quelen*), como bioindicador viável. O resultado favorável ao gradiente de poluição se demonstrou contrário a experimentos similares realizados em mexilhões coletados na Grécia, em que os índices obtidos não foram consistentes aos diferentes graus de poluição (DAILIANIS et al., 2003). Tanto o Ponto 2, quanto o 3, quando comparadas ao Ponto controle (Ponto 1), diferenciaram significadamente ( $P < 0.01$ ) tanto no período de cheia, quanto no período de seca. A correlação positiva com os compostos tóxicos pode estar associada com o hábitat dos indivíduos dessa espécie, os quais são animais de fundo, e tem contato direto com o sedimento, amplificando os efeitos de potenciais mutagênicos em relação a outros peixes de superfície.

De acordo com Hewitt e Marvin (2005) nas descargas dos efluentes, certas misturas complexas são lançadas por ação antrópica, sem a compreensão da interação tóxica com outros componentes dos efluentes. Mas a correlação não pode estar diretamente ligada a um ou dois fatores de característica mutagênica. Sendo assim, Donback et al. (2005) discorrem que a causa de um dano genético não pode ser atribuída a um único agente devido à constituição da mistura complexa. Estudos de mutagenicidade de certos metais tóxicos e suas interações com outros compostos presentes nos efluentes são muito importantes, visto que colaboram para investigação de causa e efeito de tais combinações, assim como da tendência de Bioacumulação (FERRARO et al., 2004).

Os peixes do gênero *Rhamdia* representam um grupo com muitas espécies, como *R. hilarii* e *R. quelen* de importância econômica, e que apresentam número diplóide variável de  $2n=46$  a  $2n=72$ , com cariótipo básico composto por  $2n = 58$  e fórmula cariotípica  $26M+ 16SM + 8ST + 8 A$

(FENOCCHIO et al., 2003). Já Stivari; Martins-Santos (2004) avaliaram populações distintas de *R. quelen* e determinaram mudanças quanto a fórmula (26M+ 20SM+ 6ST+ 6A/ 26M+ 22SM+ 6T+ 4).

A herança dos cromossomos B pode ocorrer a partir de ampliações, rearranjos de certos segmentos cromossômicos do complemento A, ou mesmo por não disjunção (MAISTRO, 1996). A frequência de nenhum a três cromossomos supranumerários está presente em quase todas as populações do Gênero *Rhamdia* (FENOCCHIO, 1990; SWARÇA et al., 2000; ALBUCARMA; MARTINS-SANTOS, 1996; MAISTRO; 1996). Em relação ao número de cromossomos que foram relatados para a espécie *Rhamdia quelen*, são descritas variáveis de nenhum até quatro cromossomos ( $2n=58$  à  $2n=62$ ).

Em relação ao número diplóide básico do gênero *Rhamdia*, a determinação de  $2n=58$  neste trabalho confirma a frequência também encontrada por outros pesquisadores como Fenocchio (2003) e Stivari; Martins-Santos (2004). Já em relação ao número de cromossomos B houve concordância com o estabelecido por Guilherme (2005), com exceção da presença dos cariótipos  $2n=60$  e  $2n=62$  que não foram encontrados, mas que não influenciaram na determinação da variação máxima ( $2n=65$ ).

Em relação aos valores médios das modas obtidos é possível relacionar que o Ponto 1 (referência), apresenta característica modal ( $58\pm 0$ ), diferentemente dos outros Pontos. Quanto a correlação entre os Pontos tratados, sujeitos a maiores cargas de agentes tóxicos, foi possível avaliar que nestes locais houve acréscimo da variação máxima de cromossomos supranumerários, sugerindo que em tais Pontos, evidenciado pelo Ponto 3 de moda média  $60,92\pm 2,84$ , os fatores ambientais podem estar interferindo de maneira significativa para o aparecimento de cromossomos supranumerários ou mesmo na fixação deles na população. As importantes diferenças em relação à presença de cromossomos supranumerários em populações aquáticas podem ser explicadas como dependentes da presença de compostos poluentes (LEITÃO et al., 2008), assim como encontrado nesta referida pesquisa.

As características físico-químicas do ambiente afetam a composição da fauna de maneira direta e indireta, visto que os organismos teste refletem a condição ambiental, pela qual estão submetidos (LYTLE; PECKARSKY, 2001).

## **CONCLUSÃO**

O número cromossômico mais frequente para a população de *Rhamdia quelen* do Rio Uberabinha é constituído de  $2n=58$  cromossomos. Na população ocorre variabilidade com acréscimo de até sete cromossomos B, conhecidos por cromossomos supranumerários.

O incremento nas taxas de micronúcleo, assim como os parâmetros químicos, corroboram no fato do Ponto 3 (localizado em área com potencial mutagênico alto) apresentar maior variabilidade interindividual de cromossomos B, estando associada assim a presença de cromossomos B com fatores ambientais. Sendo assim, a espécie *Rhamdia quelen* se demonstrou como bom indicador de genotoxicidade, visto que as águas do rio Uberabinha recebem efluentes mutagênicos, sendo o sítio 3 o mais crítico, e o sítio 2 considerado intermediário.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Laboratório de Ictiologia de Ribeirão Preto - LIRP pela identificação das amostras de peixes. Ao Instituto de química da Universidade Federal de Uberlândia pela parceria na análise dos parâmetros químicos. Ao Instituto de Genética e Bioquímica da UFU por possibilitar a realização da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

AL-SABIT, K., METCALFE, C.D. 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. **Mutation Research** 343:121-135.

ALBUCARMA, M.; MARTINS-SANTOS, I .C. 1996. Karyotype and B chromosome of *Rhamdia* Species (Pisces, Pimelodidae) Endemic in the River Iguaçú Basin. **Cytologia** 66:299-306.

ALBERTINI, R.J.; ANDERSON, D.; DOUGLAS, G.R.; HAGMAR, L.; HEMMINK, K.; MERLO, F.; NATARAJAN, A.T.; NORPPA, H.; SHUKER, D.E.; TICE, R.; WATER, M.D.; AITIO, A. IPCS. 2000. Guideline for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans, International Programme on Chemical Safety. **Mutation Research** 463:111-172

APHA. In: Clesceri, L.S., GREENBERG, A.E., EATON, A.D. (Eds.), **Standard Methods for the Examination of Water and Waste-Water**, 20th ed. 1998. American Public Health Association, Washington, 317 p.

BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHI, C.S.; MOREIRA FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). 1978. **Brazil. J. Genet** 1:103-120.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. 1992. **Water Quality and pond Soil Analyses for aquaculture, Alabama Agricultural Experiment Station**, Auburn University, Alabama, USA, 183 p.

BRITES, V.L.D.& RANTIN, F.T. 2004. The influence of agricultural and urban contamination on leech infestation of freshwater turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha River. **Environmental Monitoring and Assessment** 96:273–281.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente.

COUNTRYMAN, P.I., HEDDLE, J.A. 1976. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. **Mutation Research** 41:321–332.

DAILIANIS, S.; DOMOUHTSIDOU, G.P.; RAFTOPOULOU, E.; KALOYIANNI, M.; DIMITRIADIS, V. K. 2003. Evaluation of neutral red retention assay, micronucleous test, acetylcholinesterase activity and signal transduction molecule (CAMP) in tissues of *Mytilus galloprovincialis* (L), in pollution monitoring. **Mar Environ Res** 56: 443-470.

DERISIO, J. C. **Introdução ao controle de poluição ambiental**. 2000. 2. ed. São Paulo: Signus Editora.

DE ZWART, D. 1995. Monitoring **water quality in the Future (Volume 3): Biomonitoring**. National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM). Bilthoven, the Netherlands

DONBAK, L, RENCUZOGULLARI, L., YAVUZ, A., TOPAKTAS, M. 2005. The Genotoxic risk of underground coal miners from Turkey. **Mutation Research** 588:82-87.

ERGENE, S.; ÇAVAS, T.; ÇELIK, A.; KÖLELI, N.; KAYA, F.; KARAHAN, A. 2007. Monitoring of nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of three fish species from the Goksu Delta (Turkey): genotoxic damage in relation to water pollution. **Ecotoxicology** 16:385-391.

FENECH, M. 1993. The cytokinesis-blockmicronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. **Mutat. Res** 285:35-44.

FENOCCHIO, A.S; BERTOLLO, L.A.C. 1990. Supernumerary chromosomes in a *Rhamdia hilarii* population (Pisces, Pimelodidae). **Genética** 81:193-198.

FENOCCHIO, A.S.; BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHO,C.S.; DIAS, ALL.; SWARÇA, A.C. 2003. Cytogenetic Studies and Correlate Considerations on Rhamdiinae Relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). **Cytologia** 68:363-368.

FERRARO, M.V, FENOCCHIO, A.S, MANTOVANI. M.S, RIBEIRO, C.O, CESTARI, M. M. 2004. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. **Genetics and Molecular Biology** 27:103-107.

HAMILTON, D.P.; MALIK, D. S.; SASTRY, K. V. 1998. Effects of zinc toxicity on biochemical composition of muscle and liver of murrel (*Channa punctatus*). **Environ Int** 24:433-438.

HEDDLE, J.A.A. 1993. Rapid in vivo test for chromosomal damage. **Mutation Research** 18:187-190

HEWITT, L.M, MARVIN, H. 2005. Analytical methods in environmental effects-directed investigations of effluents. **Mutation Research** 589:208-232.

IGAM - INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. 2000. **Qualidade das Águas Superficiais do Estado de Minas Gerais em 2000**. Belo Horizonte: FEAM.

IGAM - INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. 2005. **Qualidade das Águas Superficiais do Estado de Minas Gerais em 2005**. Belo Horizonte: FEAM.

LEITÃO A.; CHAVES R.; JOAQUIM S., MATIAS D.; RUANO F.; GUEDES-PINTO H. 2008. Supernumerary chromosomes on Southern European populations of the cockle *Cerastoderma edule*: Consequence of environmental pollution? *Estuarine Coastal and Shelf*, **Science** 79:152-156.

LYTLE, D.A.; PECKARSKY, B.L. 2001. Spatial and temporal impacts of a diesel fuel spill on stream invertebrates. **Freshwater Biology** 46:693-704.

MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L.A.C. 1991. Extraction and use of the cephalic kidney for chromosome studies in small fish. **Braz J Genet** 14:331-357

PADRANGI, R.; PETRAS, M.; RALPH, S.; VRZOC, M. 1995. Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bulheads and carp. **Environmental Molecular Mutagenesis** 26:345-356.

RENCUZOGULLARI E, LLA H.B, KAYRALDIZ A, TOPAKTAS M. 2001. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes treated with sodium metabisulfite, a food preservative. **Mutation Research** 490:107-112.

RIBEIRO, L.R., FÁVERO SALVADORI, D.M. & MARQUES, E.K. 2003. **Mutagênese ambiental**. Canoas: Ed. ULBRA, 356p.



- SCHMID, W. 1975. The micronuclei test. **Mutation Research** 31:9-15.
- STIVARI, M. K.; MARTINS-SANTOS, I.C. 2004. Karyotype diversity in two populations of *Rhamdia quelen* (Pisces, Heptapteridae). **Cytologia** 69:25-34.
- SWARÇA, A.C., GIULIANO-CAETANO, L. & DIAS, A.L. 2000. Cytogenetics of species of the families Pimelodidae and Rhamdiidae (Siluriformes). **Genetic and Molecular Biology** 23:589-593.
- VAN DER OOST, R. et al. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environm Toxicol Pharmacol** 13:57-149.
- WU, S.M.; SHIN, M.; HO, Y. 2007. Toxicological stress response and cadmium distribution in hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*) upon cadmium exposure. **Comp Biochem Physiol C** 145:218-226.
- YI H, MENG Z. 2003. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia Faba*. **Mutation Research** 537:223-226.