



## Padronização do Ensaio Cometa em *Allium cepa*

Jorge Luiz Cerqueira dos Santos, Bárbara Santos da Silva Oliveira, Guilherme Botelho Mendes, Marcos Murata, Manildo Marcião de Oiveira

A Ecotoxicologia apresenta-se como ferramenta fundamental para o monitoramento ambiental, pois possibilita analisar ecossistemas contaminados por poluentes de origem natural ou sintética produzidos pela atividade humana. Esse campo do conhecimento passou a ter importância crucial após o processo de industrialização e urbanização mundial quando o descarte de agentes xenobiontes nos ecossistemas, principalmente aquáticos, foi intensificado. Dessa forma, a aplicação dos conhecimentos da ecotoxicologia permitem uma análise confiável da ação dos agentes químicos nos organismos expostos ao mesmo. Para a avaliação de efeitos genotóxicos muitos ensaios foram desenvolvidos, dentre eles destaca-se o Ensaio Cometa alcalino, um biomarcador com a capacidade de identificar lesões potencialmente mutagênicas avaliando a genotoxicidade de determinada substância. O presente trabalho tem como objetivo realizar a padronização do Ensaio Cometa com células de *Allium cepa* para efetuar o monitoramento ambiental. A coleta, preservação e o preparo da água foram feitos em 4 pontos específicos (dois extremos, nascente e foz e dois intermediários) do rio Una, sendo realizado segundo a norma ABNT NBR 15469 (Ecotoxicologia aquática - preservação e preparo de amostras). Em laboratório 5 cebolas são expostas a cada ponto, a fim de apresentarem crescimento radicular, após 48 horas de exposição possuem suas raízes coletadas com o auxílio de placa de petri, tesoura e pinça, em seguida foram dispostas em microtubos. Cada grupo foi exposto a 1 minuto em ácido láctico, e lavado posteriormente com tampão fosfato-salino (PBS), após a lavagem as raízes de cada ponto são homogeneizadas em PBS, visando principalmente a lise dos tecidos e quebra da parede celular. Após o processo de maceração cada amostra é misturada com agarose de baixo ponto de fusão, obedecendo a razão: 75% agarose e 25% amostra, obtendo um volume final de 100 microlitros que é despejado sob a lâmina previamente revestida com agarose de ponto de fusão normal e em seguida coberta por uma lamínula (24x50). Esta etapa foi repetida 5 vezes por ponto. Ao término deste processo com a agarose endurecida é feita a retirada da lamínula, deixando o material pronto para dar sequência ao ensaio cometa (SILVA.J,2007). Após alguns testes utilizando xilol 1%, dmsol 10%, triton, ácido acético e ácido láctico observou-se um melhor resultado nas células tratadas com ácido láctico, obtendo também um menor custo em relação a tratamentos enzimáticos, sendo possível observar um bom aproveitamento das células no ensaio, porém ainda com ajustes a serem realizados de maneira a otimizar a técnica para tal finalidade.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG:  
Fomento da bolsa (quando aplicável):

