

AVALIAÇÃO DE ESPÉCIES MODELO DA FAMÍLIA HYLIDAE DO MUNICÍPIO DE BARRO ALTO

Wanessa Fernandes Carvalho, Macks Wendhell Gonçalves, Rogério Pereira Bastos,
Aparecido Divino da Cruz, Daniela de Melo e Silva
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM GENÉTICA

Introdução

Os anfíbios atuam como componentes de muitas comunidades ecológicas, tanto por consumir uma infinidade de insetos, quanto por servir como presas para outros animais, podendo também ser utilizados como indicadores de qualidade ambiental. Estudos relacionados à biodiversidade de anfíbios são importantes para detectar espécies que possam indicar mudanças ambientais (Blaustein and Wake, 1995) e sua sensibilidade talvez explique porque muitas vezes declínios populacionais ocorrem sem quaisquer alterações perceptíveis da paisagem. O objetivo deste estudo foi avaliar a sensibilidade de anfíbios anuros da família Hylidae em áreas antropizadas utilizando o Teste Cometa e identificar uma possível espécie modelo, para ser utilizado em programas de biomonitoramento ambiental.

Métodos, procedimentos e materiais

Para o teste do cometa, 10 µL de sangue de cada espécime coletado foi diluído em 1ml de tampão PBS (pH 7,4). A partir desta suspensão se retirou 10 µL que foram embebidos em 120 µL de agarose Low Melting Point (0,5%). Essa mistura foi colocada em lâmina de microscopia contendo uma pré-cobertura de agarose normal a 1%. Depois da solidificação em geladeira, as lâminas foram colocadas em tampão de lise, por 24 horas. As lâminas foram então incubadas em tampão alcalino, por 30 minutos. Procedeu-se a eletroforese por 25 minutos, a 25 volts e 300 Amps, e a alcalinidade foi neutralizada com tampão de neutralização (pH 7,5). Finalmente, o DNA foi corado com 25 µL brometo de etídeo (10 ng/ul). Foram alisadas duas lâminas por indivíduo, com 50 células em cada, totalizando 100 células por indivíduo. Para a avaliação dos danos genômicos foi utilizado o programa TriTek Comet Score™, versão 1.5. As células com o núcleo completamente fragmentado, ou seja, em processo de apoptose, não foram contabilizadas durante a análise. Este software analisa a intensidade de pixels para fornecer os valores respectivos às estimativas de danos genômicos que são dados em unidades arbitrárias (UA). Dos dezessete parâmetros fornecidos pelo programa foram selecionados apenas quatro, sendo eles: comprimento do cometa, porcentagem de DNA na cauda, momento da cauda e momento da cauda de Ólive.

Resultados e discussão

A espécie *S. fuscomarginatus* apresentou a maior extensão do comprimento da cauda, com um valor médio de 20.01 + 20.86 (Figura 1), diferindo significativamente ($p < 0.05$) pelo teste de Tukey a posteriori de *D. multifasciatus* (15.91 + 23.25), *D. nanus* (14.90 + 18.83), *D. jimi* (14.62 + 14.26), *D. rubicundulus* (11.22 + 13.39) e *P. azurea* (9.39 + 10.41). A porcentagem de DNA na cauda (Figura 2) demonstrou que as espécies *H. albopunctatus* (9.47 + 8.67) e *H. multifasciatus* (8.60 + 10.61) apresentaram maiores danos no DNA e principalmente em relação à *D. rubicundulus* (3.97 + 6.36) e *P. azurea* (2.20 + 3.35) são estatisticamente diferentes ($p < 0.05$). Considerando a estimativa do momento da cauda (Figura 3), *H. albopunctatus* e *H. multifasciatus* novamente apresentaram maiores médias de lesões genômicas, sendo os valores de 1.94 + 3.33 e 1.93 + 5.71 respectivamente. Estes diferiram significativamente ($p < 0.05$) especialmente em *D. rubicundulus* (0.64 + 3.12) e *P. azurea* (0.13 + 0.56). *H. albopunctatus* também apresentou a maior estimativa do momento da cauda de Olive (Figura 4), com média de danos no DNA de 2.88 + 3.57. Quanto ao teste de Tukey a posteriori, foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0.05$) quando comparado à *D. rubicundulus* (0.69 + 2.49) e *P. azurea* (0.45 + 1.03), que novamente apresentaram as menores estimativas de danos genômicos.

Conclusão e referências

No entanto, para estes resultados sejam confirmados, mais estudos envolvendo estas espécies serão necessários.

Albertini R J, Anderson D, Douglas G R, Hagmar L et al. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research*, 463: 111-172. Aquino L, Bastos R, Kwet A, Reichle S, et al. (2010). *Hypsiboas albopunctatus*. In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2. Available at [<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/55378/0>]. Accessed March, 26, 2012. Azevedo-Ramos C, La Marca E, Andrade G, Hoogmoed M (2004). *Hypsiboas multifasciatus*. In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2. Available [<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/55571/0>]. Accessed March, 26, 2012. Blaustein AR and Wake DB (1995). The puzzle of declining amphibian populations. *Scien. Amer.* 52-57p. Beiswenger RE

(1988). Integrating anuran amphibian species into environmental assessment programs. Proc. Symp. Man. of Amphib., Rept., and Small Mammals in N. Am. 159-165p.

Palavras-chave: Anuros; ensaio cometa; bioindicadores

Fomento: Bolsista CAPES / CNPq

Contato: wanessa.biologia@hotmail.com