

ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE NA CONSTRUÇÃO DE CONHECIMENTO TÉCNICO-CIENTÍFICO

PAMELA LAIS CABRAL SILVA¹; MATEUS TORRES NAZARI²; JULIANA CARRICONDE HERNANDES³; GABRIEL AFONSO MARTINS⁴; LUCIARA BILHALVA CORRÊA²; ÉRICO KUNDE CORRÊA³

¹*Universidade Federal de Pelotas / Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - NEPERS – pamela_lais@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas / Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - NEPERS – nazari.eas@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas / Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - NEPERS – julianacarrconde@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas / Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - NEPERS – gabrimartins1@hotmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas / Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - NEPERS – luciarabc@gmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas / Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade – NEPERS – ericokundecorrea@yahoo.com.br*

1. INTRODUÇÃO

Os seres humanos sempre buscaram compreender as propriedades e as conjunturas do ambiente em que estão inseridos, à vista disso a investigação e a procura por novos objetos de pesquisa está intrínseco ao homem. A procura por aquisição de conhecimento resulta na possibilidade de solução problemas teóricos e práticos.

Em conformidade com Jolibert (1994) as condições mais favoráveis ao aprendizado são criadas em um ambiente no qual se pode agir, discutir, realizar e avaliar. Neste contexto se insere o Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade (NEPERS) que propicia um ambiente com condições promissoras para a construção de saberes.

O NEPERS utiliza-se da pesquisa como mecanismo de aprendizagem através de práticas analíticas. Dentre estas práticas, encontra-se a análise de citotoxicidade.

O teste *in vitro* de citotoxicidade é aplicado para analisar a capacidade de um determinado material em promover distúrbios metabólicos nas células em cultura, em vista disso, o método baseia-se na identificação de alteração durante a fase *M* do ciclo celular eucariótico.

De acordo com Alberts *et al* (2010), a fase *M* é constituída por processos com gatilhos bioquímicos que resultam na reprodução das células. O primeiro estágio é a chamada prófase, no qual há a desintegração do envelope nuclear. Em seguida, se inicia prometáfase, estágio esse onde os microtúbulos do fuso são submetidos a movimentos ativos, posteriormente a metáfase, em que os cromossomos são alinhados no equador do fuso. Logo após, a anáfase na qual as cromátides-irmãs se separam, e a telófase, onde um novo envelope celular é remontado. E por fim, a citocinese, em que as células finalmente se dividem, dando origem a duas.

Tendo estes processos em mente, ao fazer a observação das células em microscópio é possível detectar anomalias e associados a outros testes, relacionar a possíveis causas.

Deste modo, o objetivo deste trabalho é retratar a prática de citotoxicidade realizadas no laboratório do NEPERS como dispositivo de construção de conhecimento.

2. METODOLOGIA

A metodologia utilizada foi respaldada na revisão bibliográfica a respeito de ensaios de citotoxicidade e sua aplicação na área ambiental conjuntamente com observações e práticas, realizadas sob orientação de pós-graduandos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para realizar a análise de citotoxicidade, utiliza-se como material permanente, placas de Petry, agitador magnético, barra magnética, bêquer de 250 mL, balança analítica, incubadora BOD, erlenmeyer de 500 mL, funil de vidro, lâmina para navalha, pinça bico fino, pipeta graduada, lâmina de vidro para microscopia, lamínula para microscopia, pipeta de Pasteur e microscópio. O material de consumo consiste em sementes de Cebola (*Allium cepa*), água destilada, solução 5N de Ácido Clorídrico, Solução fixadora de Carnoy I (3 partes de etanol para 1 de ácido acético), corante Orceína acética 2%, papel filtro e parafilm.

Pesa-se em um bêquer, 10g da amostra a ser analisada, adiciona-se 100 mL de água destilada e uma barra magnética para manter a agitação da solução. Em seguida, coloca-se o bêquer em um agitador magnético e agita-se por 1 hora. Após esse período, filtra-se a mistura usando um funil de vidro com papel filtro e um erlenmeyer de 500 mL.

Do extrato obtido são transferidos 5 mL para placas de petry forradas com papel filtro, cada uma contendo 10 sementes da cultura utilizada. Essas placas são fechadas e envoltas em papel parafilm e submetidas à incubadora biológica à 25°C por 48h (ZUCCONI, 1988).

Após o período de incubação, as radículas que atingiram tamanho a partir de 2 cm são imersas em solução fixadora Carnoy 3:1 por no mínimo 1h e no máximo 24 horas. A seguir, as raízes são retiradas da solução, imersas em água destilada por 5 minutos, transferidas para solução de Ácido Clorídrico 5N por 10 minutos e novamente para a água destilada por mais 5 minutos e dispostas sobre uma lâmina de vidro. Utilizando uma lâmina de navalha, o tecido meristemático é seccionado. Nesse tecido é adicionada uma gota do corante Orceína acética 2% e recoberto por uma lamínula de vidro para proceder ao esmagamento (MELLO&VIDAL, 1978).

O material é levado ao microscópio para fazer a contagem de células. Nessa etapa é observado um total de 500 células por lâmina com o auxílio de um contador de células, fazendo uma triagem das células que se apresentam nas diferentes etapas do processo de divisão celular.

Ao chegar num total de 1500 células observadas é feito então o cálculo do índice mitótico através da Equação 1.

$$In = (NCD/NTC) \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

In – Índice mitótico (%)

NCD – Número de células em divisão (Prófase, Metáfase, Anáfase e Telófase)

NTC – Número total de células (Interfase, Prófase, Metáfase, Anáfase e Telófase)

O resultado é comparado com um teste em branco (controle) e então é observado se a amostra em questão possui ação citotóxica ou não.

O teste de citotoxicidade é importante, pois ele permite que se tenha um diagnóstico mais detalhado do impacto causado no ambiente por um determinado resíduo.

4. CONCLUSÕES

As atividades práticas auxiliam na compreensão da teoria, além disso os ensaios de citotoxicidade contribuem para a construção e agregação do conhecimento científico acerca de diferentes tipos de compostos biológicos potencialmente tóxicos para o cultivo de plantas e instiga a busca pelo conhecimento em pesquisa entre os acadêmicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; JOHNSON A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia Molecular da Célula.** 5^a edição – Porto Alegre: Artmed. pp 1054-1073, 2010.

JOLIBERT, Jossete. **Formando crianças leitoras.** Porto Alegre: Artmed, 1994. 219 p.

MELLO, M. L. S.; VIDAL, B. C. **A reação de Feulgen.** Ciência e Cultura, Campinas, v. 30, p. 665-676, 1978.

ZUCCONI, F. et al. **Evaluating toxicity in immature compost.** Biocycle, Emmaus, v. 22, p.54-57, 1988.