

**EFEITO DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA AO COBRE SOBRE A INTEGRIDADE DO
DNA EM ESPERMATOZOIDES DE *Poecilia vivipara***

**FREITAS, Clarissa da Silva*; ABOU ANNI, Iuri Salim; BIANCHINI, Adalto; SILVA,
Estela Fernandes; CARDOSO, Tainã Figueiredo; SILVA; Janaína Camacho;
CORCINI, Carine Dahl; VARELA Junior, Antonio Sergio
clarissafreitas93@gmailcom**

**Evento: Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Reprodução Animal**

Palavras-chave: DNA, toxicologia reprodutiva, toxicologia aquática.

1 INTRODUÇÃO

O cobre (Cu) é um metal essencial por atuar como cofator de diversas enzimas (WOOD et al., 2012), porém torna-se tóxico para organismos aquáticos quando em concentrações elevadas, as quais são decorrentes das crescentes descargas de efluentes domésticos e industriais no meio ambiente, bem como a queima de combustíveis fósseis (NETO et al., 2008). A integridade do DNA espermático é fundamental para a correta transmissão da informação genética e os metais podem afetar o DNA através de alterações na replicação e no reparo dessa molécula (SMART & HODGSON, 2008). O teleósteo *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) pode ser considerado com um potencial modelo para estudos ecotoxicológicos na América do Sul (MACHADO et al., 2013). Portanto, no presente estudo foi avaliado o efeito da exposição crônica (345 dias) de *P. vivipara* a diferentes concentrações de Cu em água salgada sobre a integridade de DNA espermático.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Devido às sua capacidade reativa, os metais podem gerar espécies reativas de oxigênio que induzem efeitos oxidativos em diversas biomoléculas, incluindo o DNA. Em *P. vivipara*, uma espécie endêmica e presente ao longo de toda a costa brasileira, já foram relatados danos ao DNA após exposição aguda ao Cu em água salina (MACHADO et al., 2013). Portanto, avaliar os efeitos da exposição crônica ao Cu sobre a integridade do DNA espermático é fundamental importância para a compreensão dos potenciais efeitos do Cu na fisiologia reprodutiva, bem como prever possíveis impactos na ecologia da espécie.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Filhotes de *P. vivipara* recém-nascidos (24 h após o nascimento) ($0,0063 \pm 0,0001$ g; $7,16 \pm 0,13$ mm), oriundos de adultos não expostos ao Cu, foram mantidos sob condição controle (sem adição de Cu na água) ou expostos a duas concentrações de Cu (5 e 9 µg/L), as quais foram selecionadas com base em valores determinados pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente para águas doces e salobras (CONAMA, 2005). Os peixes foram mantidos em aquários de vidro (10 L) contendo água salgada (salinidade 24), sob condições controladas de temperatura (28°C) e fotoperíodo (12 claro:12 h escuro) e aeração constante. Os peixes foram alimentados *ad libitum* diariamente com ração comercial para peixes. Após o período de exposição (345 dias), os animais foram anestesiados e eutanasiados com benzocaína e as gônadas dos machos dissecadas e mantidas em *Betsville Thawing Solution* (BTS) para liberação dos espermatozóides. Posteriormente, foi avaliadaa

integridade do DNA espermático, conforme descrito por Varela Jr et al. (2012) usando o corante fluorescente laranja de acridina em microscopia de epifluorescência. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão. Visto que os dados apresentaram distribuição não-paramétrica (teste de Shapiro-Wilk), as médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. O nível mínimo de significância adotado foi de 0,05%.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Foi observada diferença estatística ($P < 0,001$) na integridade do DNA dos espermatozoides de *P. vivipara* expostos cronicamente (345 dias) aos tratamentos com Cu quando comparados àqueles mantidos sob condição normal/controle (Tabela 1).

Tabela 1 - Integridade de DNA (IDNA) espermático do teleósteo *Poecilia vivipara* exposto cronicamente (345 dias) ao Cu em água salgada (salinidade 24).

Concentração de Cu ($\mu\text{g/L}$)	IDNA (%)
0	97.6 ± 0.7^a
5	67.0 ± 5.3^b
9	67.6 ± 6.3^b

O efeito do Cu sobre a integridade do DNA no presente estudo pode estar associado a o dano direto no material genético, dificultando a fertilização, desenvolvimento embrionário e conseqüentemente a reprodução da espécie. Além disto, seria interessante avaliar outras variáveis relacionadas à capacidade fertilizante do espermatozoide para uma melhor compreensão dos efeitos crônicos do Cu na fisiologia reprodutiva de *P. vivipara*.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A exposição crônica ao Cu nas concentrações testadas (5 e 9 $\mu\text{g/L}$) alterou a integridade do DNA em espermatozoides de *P. vivipara*.

REFERÊNCIAS

- CONAMA. 2005. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. Brasília: Ministério do Meio Ambiente.
- MACHADO, A.A.S. 2013. Biomarkers of waterborne copper exposure in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to salt water. **Aquatic Toxicology** 138-139, 60-69.
- VARELA JUNIOR, A.S., CORCINI, C.D., GHELLER, S.M., JARDIM, R.D., LUCIA, T. JR., STREIT, D.P. JR, FIGUEIREDO, M.R. Use of amides as cryoprotectants in extenders for frozen sperm of tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Theriogenology**, v.78, p. 244-251, 2012.
- NETO, J., WALLNER-KERSANACH, M., PATCHINEELAM, S. *Poluição Marinha*. Rio de Janeiro: Interciência. 2008.
- SMART, R.C., HODGSON, E. *Molecular and Biochemical Toxicology*. Hoboken: Wiley. 2008.
- WOOD, C.M., FARRELL, A.P., BRAUNER, C.J. 2012. *Homeostasis and Toxicology of Essential Metals*. London: Elsevier.