

## Protocolo experimental

### Genotoxicidade: o teste de micronúcleos

#### Enquadramento Teórico

A presença de poluentes no meio aquático induz efeitos não desejados nos organismos. Alguns contaminantes têm capacidades carcinogénicas e mutagénicas induzindo danos ao nível do DNA do núcleo celular, que podem passar para as gerações seguintes. Em particular, os micronúcleos são formados durante o processo de divisão celular. O teste de micronúcleos, devido à sua simplicidade, é uma das técnicas mais usadas para avaliar alterações genómicas. Em regra após coloração histológica das preparações procede-se à observação no microscópio ótico de 1000 células por lâmina, registando-se os tipos de alterações que estas apresentam. Em peixes o teste de micronúcleos é aplicado nos eritrócitos, avaliando a frequência de micronúcleos e outras alterações da forma do núcleo.

#### Objetivos

Esta atividade proporciona a observação e identificação de eritrócitos de espécies de peixe estuarinas e marinhas com núcleos normais e eritrócitos com micronúcleos, indicativos da ocorrência de danos no DNA. Com base nas observações efetuadas os alunos poderão avaliar a frequência dos diferentes tipos celulares identificados. Este protocolo enquadra-se nas Áreas Curriculares de Biologia e Geologia (11º ano) e de Biologia (12º ano) do Ensino Secundário. Insere-se no Princípio Essencial 6 “O Oceano e a humanidade estão fortemente interligados” sobre a cultura científica do Oceano fomentada pelo projeto Conhecer o Oceano<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> <http://www.cienciaviva.pt/oceano/home/>

[www.ciimar.up.pt/oCIIMARnaEscola/](http://www.ciimar.up.pt/oCIIMARnaEscola/)

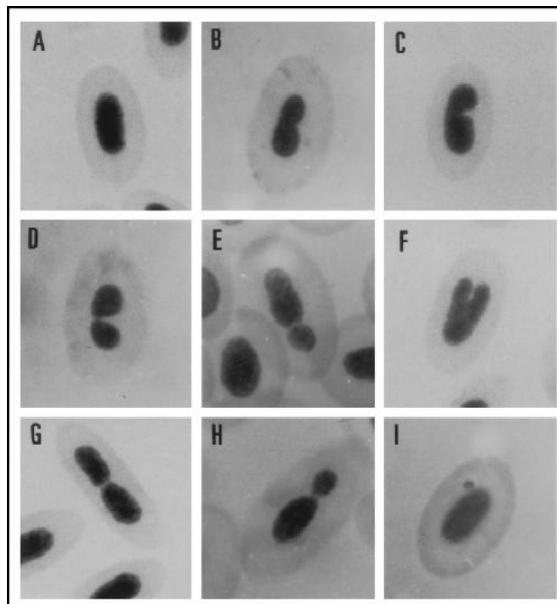
Material abrangido por licença Creative Commons

## Material

- Preparações histológicas (fornecidas pelo CIIMAR para o período da experiência)
- Óleo de imersão
- Microscópio ótico

## Procedimento

1. Escolher aleatoriamente algumas lâminas para analisar.
2. Colocar uma lâmina no microscópio, focar com a objetiva de menor ampliação, escolher um campo de observação, e focar com a objetiva de 40x.
3. Colocar uma gota de óleo de imersão na preparação.
4. Observar a preparação com a objetiva de maior ampliação, 100x.
5. Observar e contar 100 eritrócitos registando os que apresentam núcleos com anomalias e micronúcleos (figura 1) na folha de registo da atividade.



**Figura 1:** Eritrócitos maduros de peixe<sup>2</sup> com núcleo normal (A), e núcleos com anomalias: núcleo em forma de rim (B e D), núcleo lobulado (E e F), núcleo segmentado (G e H), e micronúcleo (I).

<sup>2</sup> Pacheco M. e Santos M.A. 1997. Induction of EROD activity and genotoxic effects by polycyclic aromatic hydrocarbons and resin acids on the juvenile eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38: 252-259.

## Genotoxicidade: o teste de micronúcleos

### Registo de Resultados

1. Indica quais os objetivos desta atividade experimental.
2. Quantas lâminas observaste? \_\_\_\_\_
3. Identifica as lâminas observadas: \_\_\_\_\_
4. Em face do observado ao microscópio preenche a seguinte tabela e calcula a percentagem de cada tipo de anomalia observada nas lâminas estudadas.

**Tabela 1:** Registo das observações preparações histológicas

Nº da Lâmina	Micronúcleos	Núcleo em forma Rim	Núcleo lobulado	Núcleo Segmentado	Total de alteração nucleares	Total de eritrócitos