

15. LIGIA MARIA SALVO**Defesa de Tese: 28/11/97****TÍTULO: “ESTUDO DA CITOTOXICIDADE IN VITRO DE CLOROFENOXIACETATO COM CÉLULAS HEPÁTICAS EM CULTIVO DE *Metynnis roosevelti* (PISCES, CHARACIDAE), EIGENMANN, 1915”.**

Estudos de citotoxicidade “in vitro” utilizando-se culturas de células de peixes, tem sido desenvolvidos para identificar os agressores químicos que causam impacto no meio ambiente. O presente trabalho tem como objetivo, estabelecer técnicas de cultivo celular primário com células hepáticas de *Metynnis roosevelti*, e através dessas realizar testes de citotoxicidade “in vitro” com os princípios ativos 2,4-D+MCPA. Foram realizadas três metodologias de cultivo celular primário, sendo que a técnica com dissociação celular enzimática e a adição de L-glutamina, fibronectina e insulina no meio de cultivo, proporcionaram excelentes resultados de confluência da monocamada. As células iniciaram seu processo de diferenciação celular em fibroblásticas após 4 dias de cultivo, e uma confluência de 90% na monocamada após 15 dias. Estabelecidas as técnicas de cultivo celular primário, as células foram semeadas na densidade de 3×10^4 de células por ml, em microplacas, e realizados os testes de citotoxicidade. Os testes para determinação do CL50, foram realizados por período de 24 horas nas seguintes concentrações do herbicida 2,4-D+MCPA: 0,0275 g/ml; 0,00275 g/ml e 0,000275 g/ml. Em ambos os testes realizados, a concentração letal média do herbicida ficou em torno de 0,0275 g/ml, para as células hepáticas de *Metynnis roosevelti* em cultivo primário. Para a determinação da velocidade de oxigênio consumido foi utilizada densidade de 4×10^6 células por ml. Além da respiração endógena foram feitos experimentos com três substratos: glicose, succinato e α -cetoglutarato. nas mesmas concentrações do 2,4-D+MCPA citadas anteriormente. Observamos uma nítida inibição na velocidade de consumo de oxigênio na respiração endógena quanto com os substratos, comprovando a toxicidade dos princípios ativos tanto utilizados em maior ou menor intensidade, dependendo do substrato.