

CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE ENDRO AVALIADAS ATRAVÉS DE UM SISTEMA BIOINDICADOR VEGETAL

JESSICA SANTOS¹, EDUARDA NATCHIGALL², REJANE PETER³, IVANDRA
SANTI⁴; VERA LUCIA BOBROWSKI⁵

¹ Universidade Federal de Pelotas – jessicaeksantos@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – duda.nachtigal@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – anne.sovage@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – ivandra.santi@yahoo.com.br

⁵ Universidade Federal de Pelotas- Orientador – vera.bobrowski@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A contaminação por patógenos em alimentos é um problema de Saúde Pública e o uso de conservantes sintéticos visa inibir ou retardar o processo de oxidação e decomposição dos produtos. Porém, tais substâncias podem causar efeitos negativos à saúde e assim, crescem alternativas para reduzir o uso de aditivos químicos por compostos naturais com potencial antioxidante (PERES et al., 2014).

Porém as plantas das quais são extraídos estes compostos naturais também podem apresentar efeitos tóxicos, assim a utilização de bioensaios vegetais tem sido incorporada ao monitoramento da bioatividade tóxica destes extratos, seja pela análise do potencial genotóxico e citotóxico sobre os cromossomos, ou pelo efeito dos compostos químicos interferindo no metabolismo celular (PERES et al., 2014; FONSECA et al., 2015). O *Allium Test* é um deles, apresentando uma similaridade satisfatória de 75 a 91,5% com os resultados obtidos em outros biotestes, como os realizados em animais e cultura de células, sendo frequentemente utilizado como alerta à população sobre o uso de plantas medicinais (BELCAVELLO et al., 2012; CARDOSO et al., 2014).

O endro ou dill (*Anethum graveolens* L.) é uma planta condimentar que tem se popularizado no Brasil nos últimos anos, porém em outros países como a Índia, o Egito e algumas regiões da Europa e da Ásia é utilizado há muito tempo. Suas sementes e folhas são usadas na culinária e na medicina popular para tratar cólicas, má digestão, entre outras indisposições. Contudo, apesar dos benefícios, se utilizado de forma incorreta pode trazer consequências negativas aos seus apreciadores.

O objetivo deste trabalho foi identificar efeitos citotóxico e genotóxico do óleo essencial de endro e do paracetamol, como controle positivo, sobre o bioindicador vegetal *Allium cepa* L. (cebola).

2. METODOLOGIA

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Genética (LabGen) do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas – RS. Para tanto, foram utilizadas 50 sementes de cebola comerciais isentas de produtos químicos, cv Baia periforme precoce, as quais foram acondicionadas em caixas gerbox forradas com papel germiteste umedecido, com oito repetições para cada tratamento.

Os tratamentos consistiram em água destilada como controle negativo (T1), duas concentrações do óleo essencial de endro diluído em água e 5% de Tween (T2 400 mg/L; T3 800mg/L) e duas concentrações de paracetamol (T4 400 mg/L;

T5 800mg/L) como controle positivo. Foram utilizados 2 mL de cada solução sobre os papéis umedecidos e então mantidas em câmara de germinação a uma temperatura controlada de $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Durante o período do experimento realizou-se o monitoramento de água para manter o substrato umedecido, adicionando 2mL quando necessário.

Os efeitos citotóxico e genotóxico dos tratamentos foram verificados pela análise da divisão mitótica e calculados os índices mitótico (IM), metafásico (IMf) e anafásico (IAf), e das anormalidades cromossômicas (AC) (micronúcleos, pontes anafásicas, cromossomos retardatários e metáfases desorganizadas).

Para tanto, as radículas foram coletadas aos quatro dias após a semeadura na presença dos diferentes tratamentos e fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético glacial) e mantidas em freezer até a análise. Para proceder a análise das lâminas foi utilizada a técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002), hidrolisados em HCL 5 N durante quinze minutos, lavados em água destilada e coradas com orceína acética 2%.

Para cada tratamento foram analisadas dez lâminas e observadas 200 células/lâmina pela técnica de varredura, totalizando 2000 células. Para todas as variáveis foi realizada a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tuckey 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado um efeito antiproliferativo significativo, através do IM, do óleo de endro e do paracetamol na concentração de 400mg/L (T2 e T4) em relação ao controle negativo (T1) e a concentração de 800mg/L do óleo de endro e do paracetamol (T3 e T5), indicando citotoxicidade. Resultados similares foram observados também para o IMf e o IAf para o óleo de endro, não diferindo do paracetamol 400mg/L no IAf (Tabela 1). O paracetamol nas dosagens de 400 e 800mg/L foi utilizado como controle positivo no *Allium* teste por PINHO et al. (2010) e STURBELLE et al. (2010) respectivamente, sendo que neste trabalho a concentração de 400mg/L apresentou maior citotoxicidade.

Tabela 1 - Médias observadas para as variáveis índice mitótico (IM), índice metafásico (IMf), índice anafásico (IAf) e aberrações cromossômicas (IAC) em células meristemáticas radiculares de cebola tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de endro (*Anethum graveolens* L.), acetaminofeno e água destilada.

Tratamentos	IM	IMt	IAf	IAC
1	55,6a	9,6 a	5,3 ab	2,4 a
2	1,8 b	0,17 b	0,4 c	23,4 a
3	70,1a	10,2 a	7,2 a	3,2 a
4	21,5 b	1,9 b	2,2 bc	18,4 a
5	68,8a	12,9 a	7,7 a	1,9 a
CV%	36.49	55.43	57,54	190.95

T1= água destilada como controle negativo, T2= 400mg/L e T3= 800mg/L óleo de endro dissolvido em água e Tween a 5%, T4= 400mg/L e T5= 800mg/L acetaminofeno como controle positivo. Médias com letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ($P < 0,01$).

MAIA et al. (2014) estudando o uso de óleo essencial de alecrim sobre doenças da videira e parâmetros de produtividade, verificaram que em

concentrações mais baixas (500; 1000; 2000 μ L.L-1) de óleo os resultados foram melhores que na concentração de 4000 μ L.L-1.

Aberrações cromossômicas como cromossomos retardatários, pontes anafásicas e micronúcleos (Figura 1) foram observadas nos cinco tratamentos, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 1).

LAZUTKA et al. (2001) e HEAMALATHA et al. (2011) relataram que o óleo essencial de endro em concentrações de 0,20 e 0,25 μ L/mL apresentou atividade genotóxica nos testes de aberrações cromossômicas e trocas de cromátides irmãs em linfócitos humanos *in vitro* (teste SCE), mas as mesmas concentrações foram quase inativa no teste de mutações somáticas em *Drosophila melanogaster* (teste SMART), diferentemente do observado neste trabalho, indicando para a necessidade de mais estudos em concentrações intermediárias a deste trabalho.

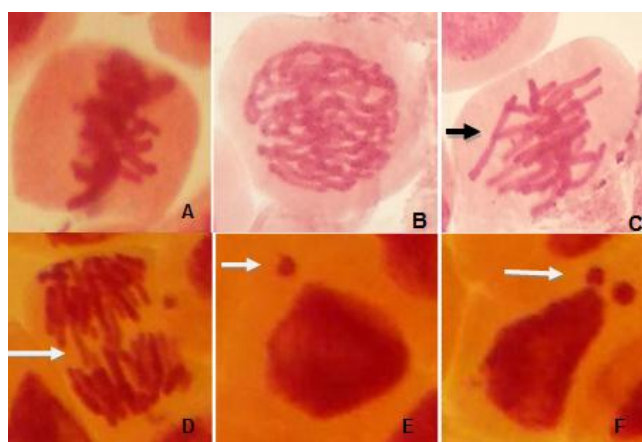


Figura 1 – Células meristemáticas radiculares de cebola. A - Metáfase normal. B - Prófase normal. C - Cromossomo retardatário. D - Ponte anafásica. E.e F - Micronúcleo. Microscópio Olympus CX30 com aumento de 400x.

A citotoxicidade e a genotoxicidade de substâncias podem ser avaliadas, respectivamente, através de alterações no processo de divisão celular sobre o organismo-teste e pela incidência de mutações cromossômicas, como quebras cromatídicas, pontes anafásicas, perda de cromossomos inteiros ou formação de micronúcleos (PERES et al., 2014).

FISKESJO (1993, 1994) citado por BAGATINI et al. (2007), ressaltou a importância e a utilidade de sistemas testes vegetais na avaliação de riscos de genotoxicidade e enfatizou que apesar das diferenças entre os metabolismos de plantas e animais, há também similaridades, e que a ativação de pró-mutagênicos em plantas possui alta relevância, pois seres humanos consomem plantas tratadas com agentes químicos ou produtoras de aleloquímicos.

4. CONCLUSÕES

Este estudo evidencia um efeito citotóxico e genotóxico do óleo de endro e do paracetamol nas concentrações mais baixas em células radiculares de *Allium cepa*, e que a concentração de 400mg/L de paracetamol pode ser utilizada como controle positivo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAGATINI, M.D.; SILVA, A.C.F DA; TEDESCO, S.B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Braz. J. of Pharmacognosy**, v.17, n.3, p. 444-447, Jul./Set. 2007.

BELCAVELLO, L., CUNHA, M.R., ANDRADE, M.; BATITUCCI, M.C., Citotoxicidade e danos induzidos pelo extrato de *Zornia diphylla*, uma planta medicinal. **Natureza on line**, v. 10, no. 3, p. 140-145, 2012.

CARDOSO, G.H.S., DANTAS, E.B.S., SOUSA, F.R.C., PERON, A.P. Citotoxicidade de extratos aquosos de *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) em sistema-teste vegetal. **Brazilian Journal of Biology**, v.74, n.4, p.886-889. 2014.

FONSECA, V. B., SILVA TAVARES, V. R. da, MORAES GONÇALVES, V. de, FREITAG, R. A., BOBROWSKI, V. L. Allelopathic potential of leaves and flowers extracts of *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Científica**, 44(1), 35-39., 2015.

HEAMALATHA, S., SWARNALATHA, S., DIVYA, M., GANDHI-LAKSHMI, R., GANGA-DEVI, A., GOMATHI, E.. Pharmacognostical, Pharmacological, Investigation on *Anethum graveolens* Linn: A Review. **R. J. of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.2, n.4, p. 564-574, 2011.

MAIA, A. J., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., FARIA, C. M. D. R., OLIVEIRA, J. S. B., JARDINETTI, V. A. E BATISTA, B. N.. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução de resistência em videira. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.49, n.5, p.330-339, maio 2014.

PINHO, D. S. DE; STURBELLE, R. T.; MARTINO-ROTH, M. da G., GARCIAS, G. L.. Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em teste de *Allium cepa* e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos. **Rev. bras. farmacogn.** [online]. vol.20, n.2, p.165-170, 2010.

SOUZA, S.A.M.; STEIN, V.C.; CATTELAN, L.V.; BOBROWSKI, V.L.; ROCHA, B.H.G. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.5, n.1, p.3-9, 2005.

STURBELLE, R. T.; PINHO, D. P.; RESTANI, R. G.; OLIVEIRA, G. R.; GARCIAS, G. L.; MARTINO-ROTH, M. G. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. **Rev. bras. farmacogn**, v. 20, n. 3, p. 409-415, 2010.