

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica
ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

GENOTOXICIDADE DOS EXTRATOS DE SYNGONANTHUS CHRYSANTHUS RUHLAND (ERIOCAULACEAE) EM SISTEMA TESTE VEGETAL.¹

GENOTOXICITY OF SYNGONANTHUS CHRYSANTHUS RUHLAND (ERIOCAULACEAE) ON VEGETAL TEST SYSTEM.

**Maicon da Silva Schreiber², Agatha do Canto Shubeita³, Anik Scherbach Fauerharmel⁴,
Flávia Mariza dos Santos Agertt⁵, Juliana Maria Fachinetto⁶**

¹ Pesquisa Institucional desenvolvida no Departamento Ciências da Vida, pertencente ao Grupo de Programa de Educação Tutorial (PET/MEC/SeSu).

² Estudantes do curso de Ciências Biológicas Bacharelado, UNIJUÍ. E-mail: maiconschreiber@gmail.com;

³ Estudantes do curso de Ciências Biológicas Bacharelado, UNIJUÍ. E-mail: agathacanto@yahoo.com.br;

⁴ Estudantes do curso de Ciências Biológicas Bacharelado, UNIJUÍ. E-mail: faueranik@gmail.com;

⁵ Estudantes do curso de Ciências Biológicas Bacharelado, UNIJUÍ. E-mail: flaaertt@hotmail.com;

⁶ Docente do Departamento de Ciências da Vida (DCVida) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), Grupo de Pesquisa Biodiversidade e Ambiente (AMBIO). juliana.fachinetto@unijui.edu.br.

INTRODUÇÃO

Eriocaulaceae Martinov engloba aproximadamente 1.200 espécies, e cerca de 14 gêneros endêmicos e micro endêmicos, entre eles, *Syngonanthus*. *Syngonanthus chrysanthus* Ruhland é uma das 400 espécies inseridas em seu gênero (GIULIETTI, 1996). Predomina na América do Sul (GIULIETTI e HENSOLD, 1990) e no Brasil distribui-se do Rio de Janeiro ao Rio Grande do sul (MOLDENKE e SMITH, 1976). *Syngonanthus* encontra-se em campos arenosos úmidos, beiras de lagoas e banhados rasos, e constitui uma parte importante da flora nativa (REITZ, 1961; MOLDENKE e SMITH, 1976).

O gênero apresenta uma predominância de flavonóides e flavonas como constituintes de seu metabolismo secundário, compostos que promovem ação antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora (ROSSA, 2013), principalmente glicosiladas (RICCI et al., 1996). Entretanto, estudos realizados por Arnhold et al. (2015) demonstram que flavonóides são ausentes ou se apresentam em baixa quantidade em raízes de *S. chrysanthus*, pois provavelmente não há função biológica direta destas substâncias.

Avaliar a atuação dos metabólitos secundários de plantas é importante para investigar seus aspectos tóxicos e mutagênicos. Isto pode contribuir na geração de informações para assegurar a saúde e bem estar da população, de acordo com um dos Objetivo do Desenvolvimento Sustentável, ODS 3. Para esse tipo de pesquisa, comumente são utilizados testes com raízes de *Allium cepa* L., que demonstra ser eficaz para análise e monitoramento in situ da genotoxicidade, e é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999; SILVA et al., 2004; FACHINETTO et al., 2007). Assim, o objetivo da pesquisa foi avaliar a genotoxicidade dos extratos de *S. chrysanthus*, a partir da interferência no índice mitótico de células meristemáticas de *A. cepa* submetidas a diferentes concentrações dos extratos.

Palavras-chave: mutagênico, toxicidade, proliferação celular.

Keywords: mutagenic, toxicity, celular proliferation.

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

METODOLOGIA

Exemplares da espécie *Syngonanthus chrysanthus* foram coletados em Atlântida Sul, RS, em 2016. Uma exsicata foi depositada no Herbário Rogério Bueno (HUIRB 3588). As folhas da planta foram colocadas para maceração em hexano, as quais permaneceram por cerca de 30 dias, para a extração dos compostos. Posteriormente, os extratos foram rotaevaporados e armazenados sob refrigeração.

O experimento foi conduzido utilizando 4 bulbos de *A. cepa* por tratamento, totalizando seis tratamentos. Os bulbos foram deixados em água destilada por 48 horas, e após esse período, foram submetidos aos extratos de *S. chrysanthus*, com concentrações de 0,1%, 0,5% e 1%, e DMSO 1% (dimetilsulfóxido) por 24 horas. A água destilada foi utilizada como controle negativo e o metanol, como controle positivo. O DMSO foi incluído nas análises, pois foi utilizado na diluição dos extratos (1:1). Posteriormente, estes extratos foram diluídos em água destilada nas concentrações citadas acima. Após, foi realizada a coleta das raízes, as quais foram fixadas em Carnoy 3:1 por 24 horas, e então armazenadas em etanol 70% sob refrigeração.

Para a análise das células, foram preparadas lâminas a partir da região meristemática das raízes. As mesmas foram hidrolisadas em HCl 1N por 5 minutos, coradas comorceína acética 2% seguindo a técnica de esmagamento (GUERRA e SOUZA 2002). Foi realizada a análise de 1000 células por tratamento, totalizando 6000 células. As lâminas foram avaliadas contando as células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Foi calculado o Índice Mitótico (número de células em divisão/número total de células x 100). A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste qui-quadrado (χ^2), considerando a probabilidade <0.05 como significativo, utilizando o software estatístico BioEstat (AYRES et al., 2007). A análise estatística foi realizada para comparar os valores do índice mitótico entre os tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os dados referentes ao número total de células observadas de *Allium cepa*, o número de células em interfase e em divisão, bem como o índice mitótico. Conforme observado, houve um aumento do índice mitótico em todos os tratamentos quando comparado com o grupo controle negativo, ou seja, em todos os tratamentos a proliferação celular aumentou. Todas as concentrações do extrato diferiram do grupo controle, ou seja, causaram um aumento da proliferação celular. As concentrações 0,1% e 0,5% não diferiram entre si e nem do controle positivo e do DMSO, representando pouca ou nenhuma atividade genotóxica. Já a concentração do extrato 1% diferiu de todos os demais tratamentos e apresentou os maiores valores de índice mitótico, demonstrando que o próprio extrato diluído em DMSO apresenta níveis significativos de toxicidade.

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica
ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

Tabela 1. Índice mitótico das raízes de *Allium cepa* submetidas aos extratos de *S. chrysanthus*.

Tratamento	Número total de células	Número de células em interfase	Índice mitótico %
Água destilada	6000	5793	3,45a
Metanol	6000	5671	5,48b
DMSO	6000	5666	5,57b
Extrato 0,1%	6000	5691	5,15b
Extrato 0,5%	6000	5681	5,32b
Extrato 1%	6000	5413	9,78c

Tabela 1. Médias seguidas com a mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5%, pelo teste de χ^2 .

A proliferação celular ocorrida é caracterizada pelo surgimento de uma nova célula no momento em que outra se divide. O ciclo celular de uma célula eucariótica é dividido em duas etapas: interfase, que é o período em que a célula sintetiza novas proteínas e duplica seu DNA e a conhecida por fase M (mitose), que é o período em que ocorre a divisão celular. Este processo é responsável pela reprodução dos organismos. A desregulação deste processo, podendo ser eles; erros durante a transcrição e síntese do DNA ou a desregulação do ciclo celular pode gerar uma produção demasiada e descontrolada de células formando tumores (câncer), sendo maléfico aos organismos. O índice mitótico e índice de replicação utilizados indicam a proliferação correta ou incorreta das células (GADANO et al., 2002), este pode ser medido através do sistema teste vegetal de *Allium cepa*.

A ausência ou aumento da proliferação estão relacionados a genotoxicidade dos extratos, ou seja, a capacidade que as substâncias têm de induzir alterações no material genético dos organismos a elas expostos, alterações essas que podem ser responsáveis pelo surgimento de cânceres ou doenças hereditárias (KOLLING et al., 2006). Sob outra perspectiva, estudos genotóxicos realizados por Fachinetto et al. (2007) em relação aos extratos aquosos de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae), espécie extensivamente utilizada na medicina alternativa, usando o mesmo bioensaio com raízes de *A. cepa*, concluíram um efeito de inibição significativa da divisão das células meristemáticas, efeito contrário ao relatado na presente pesquisa. Assim como Dias et al. (2014), que observaram que infusões de *Mikania cordifolia* (L. F.) Willd. (Asteraceae) inibem significativamente o ciclo celular de *A. cepa*.

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a genotoxicidade dos extratos de *S. chrysanthus*, a partir da interferência no índice mitótico de células meristemáticas de *A. cepa* submetidas a diferentes concentrações dos extratos. Assim, os resultados obtidos com esta pesquisa revelaram que os extratos de *Syngonanthus chrysanthus* apresentaram potencial genotóxico sobre as células de *Allium cepa*. Foi possível identificar que o extrato possui um potencial risco de dano ao DNA, entretanto, não há uma compreensão clara sobre qual composto específico que atua nessa ação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNHOLD, A. L.; MELLITZ, G. M.; HOUSSAINI, M. L.; GEHRKE, I. T. S. Triagem fitoquímica da raiz de *Syngonanthus chrysanthus* (Bong.) Ruhland a partir de ensaios cromáticos como análise preliminar e perspectivas de interesse farmacológico e biotecnológico. 3º Congresso Internacional em saúde: atenção integral à saúde. DCVida – Departamento de Ciências da Vida. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Ijuí - RS. 2015.
- AYRES, M., AYRES Jr, M., AYRES, D. L., SANTOS, A. A. S. Bioestat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: IDSM, 364p. 2007.
- CABRERA, G. L.; RODRIGUEZ, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. *Mutation Research* 426, p. 211-214. 1999.
- DIAS, M. G.; CANTO-DOROW, T. S.; COELHO, A. P. D.; TEDESCO, S. B. Efeito genotóxico e antiproliferativo de *Mikania cordifolia* (L. F.) Willd. (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. *Revista brasileira de Plantas Mediciniais*, v.16, n.2, p.202-208, 2014.
- FACHINETTO, J. M.; BAGATINI, M. D.; DURIGON, J.; DA SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. *Revista Brasileira Farmacognosia* 17(1), p. 49-54. 2007.
- GADANO A, Gurni A, López P, Ferraro G, Carballo M. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. *J Ethnopharmacol.* 81(1):11-16. doi:10.1016/s0378-8741(01)00418-4, 2002.
- GIULIETTI, A. M.; HENSOLD, N. Padrões de distribuição geográfica dos gêneros de Eriocaulaceae. *Acta Botanica Brasilica* 4(1): 133-159, 1990.
- GIULETTI, A. M.; WANDERLEY, M. das G. L.; WAGNER, H. M. L.; PIRANI, J. R.; PARRA, L. R. Estudos em "Sempre Vivas": taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, Brasília, v.10, n.2, p.329-377, 1996.
- GUERRA, M.; SOUZA, M.J. Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: Ed. FUNPEC, 2002. 131p
- KOLLING, D. J., KRATZ J M., BARARDI C. R., SIMÕES, C. M. O. Padronização in vitro da Técnica do Micronúcleo em Células Vero para Detecção de Genotoxicidade. Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC, Florianópolis, SC, 2006. Disponível em http://www.sbpnet.org.br/livro/58ra/senior/resumos/resumo_1406.html.
- MOLDENKE, H. N.; SMITH, L. B. Eriocaulaceae. Pp. 2-103. In: R. Reitz (ed). *Flora Ilustrada Catarinense*. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues. 1976.
- REITZ, R. Vegetação da zona marítima de Santa Catarina. *Sellowia* 13: 17-115. 1961.
- RICCI, C. V.; PATRÍCIO, M. C.; SALATINO, M. L.; SALATINO, A.; GIULIETTI, A. M. Flavonoids of *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae): taxonomic implications. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 24, p. 577-583, 1996.
- ROSSA, U. B. Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

fertilização. 2013, 208f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2013.

SILVA, C. R.; MONTEIRO, M. R.; CALDEIRA-DE-ARAÚJO, A.; BEZERRA, R. J. A. C. Absence of mutagenic and cytotoxic potentiality of senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) evaluated by microbiological tests. *Revista Brasileira Farmacognosia* 14 (Supl.1): 1-3, 2004.

Parecer CEUA: 003/2019