

AVALIAÇÃO DA GENOTOXIDADE E MUTAGENICIDADE DO INFUSO DE BOLDO *Plectranthus barbatus* ATRAVÉS DO SISTEMA DE TESTE *Allium cepa*

Siqueira, Hellen Carolina Tozzi ¹

Rauber, Rafael ²

RESUMO

O uso das plantas de forma medicinal é quase tão antigo quanto próprio homem, entretanto, grande parte delas, não foi suficientemente estudada e testada. Portanto são necessários mais testes e estudos, a fim de garantir sua segurança e eficácia. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial genotóxico e mutagênico de diferentes concentrações do infuso das folhas de *Plectranthus barbatus*, por meio da análise celular de células meristemáticas, usando o sistema de teste *Allium cepa*. A metodologia foi escolhida por se tratar de um método rápido, fácil, de baixo custo e alta confiabilidade. As concentrações testadas foram 6g (T1), 12g (T2), 18g (T3), 24g (T4) das folhas frescas em 250 ml de água fervente. Como controle negativo (T5) foi utilizado água destilada, e para controle positivo (T6) Paracetamol 800/mg. Os resultados apontam que em concentrações que excedem o recomendado de 6g, o infuso de *Plectranthus barbatus* pode inibir o índice mitótico e causar aberrações cromossômicas. Por fim, podemos concluir que os dados corroboram com a ideia de que em altas concentrações o infuso de *Plectranthus barbatus* pode atuar de forma genotóxica e mutagênica, o que reafirma que, apesar de naturais, as plantas medicinais não podem ser utilizadas em qualquer concentração, e não estão livres de efeitos colaterais.

PALAVRAS-CHAVE: Boldo-brasileiro, malva-santa, plantas medicinais, mutação, chás.

EVALUATION OF THE GENOTOXITY AND MUTAGENICITY OF BOLDO PLECTRANTHUS BARBATUS INFUSION USING THE ALLIUM CEPA TEST SYSTEM

KEYWORDS: Boldo, malva-santa, medicinal plants, mutation, teas.

INTRODUÇÃO

1. Acadêmica de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG. hctsiqueira@minha.fag.edu.br

2. Orientador. Dr. Ciências: Biologia Celular e molecular - Centro de biotecnologia- UFRGS. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. rafaelr@fag.edu.br

Desde a antiguidade, o homem se utiliza dos mais diversos recursos provenientes das plantas, a fim de melhorar sua qualidade de vida. Inicialmente utilizadas como matéria prima na confecção de diversos produtos, as plantas também serviram de alimento, fazendo com que a ingestão aleatória de algumas delas, resultassem na descoberta de propriedades relevantes (BEZERRA; *et al*, 2016).

Não demorou para que o homem começasse a utilizá-las como alternativa terapêutica, sendo assim, as plantas medicinais, são tão antecedentes quanto o próprio homem (FRÓES; *et al*, 2015). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), são consideradas plantas medicinais “todo e qualquer vegetal, que possui em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos” (OMS, 1998). O estudo acerca de medicamentos com constituintes provenientes de plantas e vegetais no tratamento de doenças e seus sintomas, é chamado de fitoterapia. Portanto todo medicamento ou produto derivado de plantas medicinais é denominado fitoterápico (CRUZ; *et al*, 2017).

Atualmente estão presentes no mercado, grande variedade de fitoterápicos, podendo ser apresentados de diversas formas, principalmente na forma de chá, que se destaca pelos seus benefícios à saúde, sendo de fácil acesso e baixo custo. Porém, muitos deles são utilizados de forma exacerbada, em concentrações que excedem o recomendado, mesmo possuindo poucos estudos ou nenhuma comprovação científica. Contudo, todos os chás apresentam algum efeito, fazendo com que não possam ser utilizados para qualquer coisa, e em qualquer quantidade, sem o conhecimento de seus princípios ativos (SILVA e FOGAÇA, 2018).

Um exemplo muito famoso de planta medicinal utilizada, principalmente na forma de chá, é o boldo (*Plectranthus barbatus*). Esta planta, também conhecida como boldo brasileiro, falso-boldo, boldo-de-jardim, boldo-do-reino, malva-santa entre outros, é uma espécie de arbusto pertencente ao Filo *Angiosperma*, e à família *Lamiaceae*. Trata-se de uma planta com ciclo de vida longo, com até 1,5 de altura, poucos ramos, folhas alongadas de aroma característico e sabor amargo, geralmente utilizadas no tratamento de problemas digestivos. Acredita-se que foi introduzido no Brasil pelos escravos, tendo sua origem na África, Ásia e Austrália, e atualmente é encontrado e cultivado em todo território (BEZERRA; *et al*, 2016; CRUZ; *et al*, 2017).

O uso de plantas medicinais tem sido uma alternativa para aqueles que não possuem recursos ou não simpatizam com remédios sintéticos e seus efeitos colaterais. Contudo, muitas pessoas se utilizam dessas plantas pela praticidade, em vista que, boa parte delas pode ser cultivada em casa, sendo de fácil acesso, consumo, e baixo custo. Além disso boa parte das

pessoas desconhecem seus efeitos negativos, e acreditam que plantas medicinais não oferecem risco à saúde por serem naturais (ROCHA; *et al*, 2021).

Conforme a OMS, estima-se que cerca de 60% a 80% da população mundial, acaba optando pela medicina alternativa, fazendo uso de plantas medicinais por questões culturais e na maioria das vezes, devido a pobreza e a falhas no sistema de saúde, fazendo com que dificuldades financeiras limitem o acesso à medicina tradicional e seus medicamentos (BAGATINI; *et al*, 2007; CRUZ; *et al*, 2017).

Entretanto, grande parte dos conhecimentos acerca das plantas medicinais é empírico e popular, sendo passado de geração em geração, podendo estar ligado até mesmo com algumas crenças (BRAGA, 2011). O que torna essa prática uma estratégia perigosa quando realizada sem embasamento ou orientação, levando em conta o fato de muitas plantas apresentarem diversos nomes populares, que podem variar de acordo com a região, podendo indicar espécies diferentes. Outro fator de risco ocorre na identificação dessas plantas, que podem apresentar similaridade, porém, com composição química variável, levantando assim, uma margem de erro considerável (FRÓES; *et al*, 2015).

Além disso, sabe-se que as plantas podem produzir substâncias químicas capazes de atuar beneficamente, ou até mesmo de modo contrário exercendo propriedades tóxicas (TEDESCO; *et al*, 2012). Sendo assim, mesmo com grande diversidade genética vegetal, são poucas as espécies que apresentam estudos científicos validando sua segurança e eficácia, em vista que grande parte delas não foi suficientemente estudada e testada (BAGATINI; *et al*, 2007).

Nesse contexto, são necessários estudos e testes mais aprofundados a fim de garantir cientificamente o uso de tais plantas, assim como suas doses e concentrações terapêuticas. Antes disso, é impossível garantir a segurança na utilização de determinada planta no tratamento de certas patologias, sem oferecer riscos à saúde do usuário, tais como envenenamento, intoxicação, mutagenicidade, genotoxicidade, e outras reações indesejadas (TERCEIRO e OLIVEIRA, 2020)

A genotoxicidade consiste na capacidade de certos agentes, ocasionarem alterações, lesões e quebras na molécula de DNA, onde a célula pode ser reparada ou eliminada pelo próprio indivíduo. Quando fixadas, essas lesões podem levar a danos hereditários, sendo classificadas como mutações. Sabe-se que mutações podem ocorrer de forma espontânea, entretanto, grande parte delas são induzidas por exposição à agentes físicos, químicos ou biológicos. A citotoxicidade pode ser avaliada pelo potencial tóxico que algumas substâncias podem exercer à célula, podendo inibir o índice mitótico (KRÜGER, 2009).

Para avaliação e prevenção de agentes mutagênicos e genotóxicos, se faz fundamental o uso de indicadores sensíveis, que possibilitem detectar tais potenciais. Por meio de estudo, verificou-se que algumas plantas se apresentavam ideais, funcionando como “bioindicadoras”. Diante disso, foram realizados diversos ensaios possibilitando tal avaliação. Um exemplo disso é o teste vegetal *Allium cepa*, que funciona como bioindicador em casos de mutagênicidade, genotoxicidade entre outros (BEZERRA; *et al*, 2016).

Validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), o sistema de teste *Allium cepa*, atua como um eficiente teste no controle e análise da genotoxicidade (CABRERA e RODRIGUEZ, 1999). O uso de tal teste vem sendo bem aceito no estudo dos efeitos genotóxicos de plantas medicinais, pois é realizado contato direto da substância testada com as raízes, fazendo com que possa ser testado em diversas concentrações (SILVA e FOGAÇA 2018).

O método de avaliação do sistema de teste *Allium cepa* se baseia em diversos parâmetros como índice mitótico (IM), aberrações cromossômicas e formação de micronúcleos, podendo avaliar, não somente o potencial citotóxico como genotóxico e também o potencial mutagênico. Além disso, o teste *Allium cepa* apresenta coerência com outros testes e convergência com testes em células de mamíferos, contribuindo com os estudos relacionados à saúde humana, além de apresentar elevada sensibilidade, baixo custo, rapidez, fácil manipulação e alto índice de confiabilidade (FERNANDES; *et al*, 2022; BAGATINI; *et al*, 2007).

Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo, avaliar o potencial genotóxico e mutagênico, de diferentes concentrações dos infusos de *Plectranthus barbatus*, por meio da análise celular de células meristemáticas, usando o sistema de teste *Allium cepa*.

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

O experimento foi realizado no primeiro semestre de 2022, nos laboratórios de Fitopatologia e Armazenamento de sementes, Microscopia e Química do Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG), sediado no município de Cascavel, localizado na região Oeste do Estado do Paraná. As folhas de boldo (*Plectranthus barbatus*) in natura, foram obtidas no comércio local de Laranjeiras do Sul – PR, enquanto as sementes de *Allium cepa* foram obtidas na Agrícola Alvorada em Cascavel – PR.

Preparação dos infusos de *Plectranthus barbatus*

As análises foram realizadas com seis tratamentos e quatro repetições, sendo os tratamentos nomeados T1, T2, T3, T4, T5 e T6. O primeiro tratamento (T1) do infuso de Boldo, foi correspondente à concentração geralmente utilizada pela população, que de acordo com a literatura de Frota e Colaboradores (2019), é de 6g de folhas frescas em 250 ml de água fervente; o segundo (T2), 12g de folhas frescas em 250 ml de água fervente; o terceiro (T3) 18g de folhas frescas em 250 ml de água fervente; o quarto (T4), 24g de folhas frescas em 250 ml de água fervente; o quinto tratamento (T5) foi o controle negativo onde foi utilizado água destilada; e no último tratamento conforme indicado por Bezerra e colaboradores (2016) como controle positivo (T6) foi utilizado paracetamol a 800 mg/L.

O infuso de *Plectranthus barbatus* foi preparado por infusão a partir das folhas frescas em 250 ml de água destilada fervente. Os infusos foram preparados em quatro concentrações diferentes: 6g, 12g, 18g e 24g. Em seguida, os infusos foram filtrados e resfriados a temperatura ambiente (FROTA; *et al*, 2019).

Germinação das sementes de *Allium cepa*

As sementes foram colocadas para germinar em placa de Petri, contendo um papel filtro em sua base. Foram utilizadas 12 sementes por placa, onde ficaram embebidas em 05 ml de água destilada estéril, sendo recobertas por outro papel filtro e levadas para câmara de germinação do tipo B.O.D em 26°C para seu enraizamento. O procedimento de preparação das placas ocorreu em ambiente estéril com auxílio de um bico de Bunsen evitando possíveis contaminações. (GRZESIUK, 2009).

Tratamento das sementes de *Allium cepa* com infuso de *Plectranthus barbatus*

Foram realizados seis tratamentos, com quatro repetições cada, sendo 4 sementes e 4 lâminas por tratamento. À medida que as sementes foram apresentando 1 cm de radícula, foram transferidas para os seus respectivos tratamentos e concentrações, sendo utilizado 01 ml de cada solução conforme T1, T2, T3, T4, T5 e T6. Cada semente permaneceu em tratamento durante 24 horas em temperatura ambiente. Em seguida, foram fixadas em etanol-ácido acético (3:1) por 24 horas. Após isso, as raízes foram retiradas e colocadas em álcool 70% para conservação até o preparo das lâminas (TEDESCO; *et al*, 2012; GRZESIUK, 2009).

Preparação das lâminas

Foram confeccionadas quatro lâminas para cada tratamento. Para preparação das lâminas as raízes foram hidrolisadas em HCL 1N durante 8 minutos, e posteriormente lavadas

em água destilada por 5 minutos. Em seguida, foram transferidas para um frasco escuro contendo o reativo de Schiff, onde ficaram durante 40 minutos, e então foram lavadas novamente em água destilada até a retirada completa do corante. Posteriormente, a região meristemática da raiz foi cortada, com auxílio de um bisturi. Após isso, uma gota de orceína acética 2% foi adicionada, e o material foi colocado sobre a lâmina, onde foi espalhado mecanicamente manualmente e recoberto pela lamínula. Em seguida, as lâminas foram levadas ao microscópio para ser observadas em um aumento de 400X (GRZESIUK, 2009; TEDESCO; *et al*, 2012). A análise das lâminas foi realizada através dos seguintes critérios: células normais que não estavam em divisão, células normais em divisão, micronúcleos e cromossomos vagantes. Foram contadas 500 células por lâmina, resultando em um total de 2000 células.

Tratamento estatístico

A análise estatística foi realizada através do software Bioestat[®] e os resultados foram submetidos ao teste ANOVA com dois critérios, seguido do teste de Tukey, onde foram comparadas as médias das amostras.

RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta pesquisa estão apresentados na tabela 1 e 2. Na tabela 1, estão apresentados os dados respectivos aos índices mitóticos da *Allium cepa*, em diferentes concentrações do infuso de *Plectranthus barbatus*, juntamente com o controle positivo (Paracetamol 800 mg/L e negativo (água destilada).

Tabela 1- Contagem de uma média de 2000 células meristemáticas das lâminas de *Allium cepa* em seus respectivos tratamentos. As médias foram consideradas estatisticamente diferentes quando o valor de $p < 0.05$ de acordo com o teste de Tukey.

	Ciclo Celular Mitótico					
	C-	6g	12g	18g	24g	C+
Sem divisão	1786	1800	1898	1923	1944	1896
Em divisão	214	200	97	66	33	78
Índice mitótico	0.107	0.100	0.049	0.033	0.017	0.039
Estatística Índice mitótico	a	a	b	bc	c	b

Fonte: autor (2022)

Na tabela 1, é possível perceber que o índice mitótico diminuiu gradativamente em valores à medida que a concentração do chá aumentou. De acordo com os resultados obtidos estatisticamente o controle negativo (C-) e 6g não apresentaram diferença significativa (Tabela 1 - a), assim como tratamento 12g, 18g, C+ quando comparados uns com os outros. Um dado que chama atenção é a diferença significativa do tratamento 24g quando comparado com 6g, 12g, C- e C+, entretanto, o mesmo não acontece com 18g, sendo este último o único tratamento que não apresenta diferença significativa quando comparado com 24g.

Na tabela 2, estão apresentados os dados correspondentes às aberrações cromossômicas de acordo com o tratamento realizado. As aberrações cromossômicas foram avaliadas em micronúcleos.

Tabela 2- Contagem de uma média de 2000 células meristemáticas das lâminas de *Allium cepa* em seus respectivos tratamentos. As médias foram consideradas estatisticamente diferentes quando o valor de $p < 0.05$ de acordo com o teste de Tukey.

Aberrações Cromossômicas						
	C-	6g	12g	18g	24g	C+
Micronúcleo	0	0	5	10	20	25
Estatística	a	a	ab	b	c	c

Fonte: O próprio autor (2022).

Na tabela 2, é possível observar que à medida que a concentração do infuso aumentou, também houve um aumento da quantidade de aberrações cromossômicas. Entretanto, de acordo com a análise estatística, não houve diferença significativa entre os grupos C-, 6g e 12g. Já o infuso de 24g e o C+, apesar de não diferirem um do outro estatisticamente, diferem dos demais tratamentos.

Nas aberrações cromossômicas, ainda foram analisados cromossomos vagantes, os quais apresentaram um número muito pequeno, frente ao número de células analisadas. Portanto, não se tornou viável realizar a análise estatística, mesmo que em valores absolutos tenha se percebido alteração, a amostra não pode ser delimitada com clareza, com tantas amostras de valor zero. Com isso, não foi possível afirmar nenhuma informação com segurança, mas os resultados foram: 0 para controle negativo, 0 para 6g, 0 para 12g, 1 para 18g, 3 para 24g

e 1 para controle positivo. Vale ressaltar que se trata-se de uma amostra de difícil análise e identificação, o que abre uma possível margem de erro.

DISCUSSÃO

O presente trabalho buscou avaliar o potencial genotóxico e mutagênico de diferentes concentrações do infuso de boldo (*Plectranthus barbatus*) sobre células meristemáticas de raiz de cebola (*Allium cepa*). Os resultados obtidos foram avaliados de acordo com duas características, sendo elas respectivamente, o índice mitótico, e a presença de aberrações cromossômicas.

A primeira característica foi avaliada através das taxas de divisão celular em cada tratamento, enquanto a segunda, foi avaliada através da presença e quantidade de aberrações cromossômicas de cada tratamento. O sistema de teste escolhido (*Allium cepa*) vai de encontro com os demais autores, os quais afirmam se tratar de um excelente bioindicador, na avaliação de genotoxicidade e mutagenicidade, quando se trata de infuso de plantas medicinais.

O infuso testado é geralmente utilizado em problemas digestivos e no fígado, e é uma das plantas mais citadas em levantamentos etnobotânicos de plantas medicinais do Brasil como sugere Brandolt et al., (2007). Entretanto, Costa (2002) chegou a alertar sobre o uso consciente da espécie depois de verificar efeitos tóxicos nos fígados e rins de camundongos tratados com extrato aquoso da folha de *Plectranthus barbatus*. Além disso, Lima e colaboradores (2013) atentam sobre os riscos do uso das plantas medicinais quando utilizadas sem embasamento ou orientação, podendo gerar danos à saúde, corroborando com os dados observados nesta pesquisa.

Após a análise dos resultados, foi possível perceber uma relação entre os dados, sendo que o índice mitótico diminuiu à medida que a concentração do chá aumentou, (Tabela 1) o que corrobora com os resultados de Frota e colaboradores (2019) sugerindo a citotoxicidade do infuso de *Plectranthus barbatus*, em concentrações que excedem o recomendado. Ainda de acordo com Frota, a redução do índice mitótico é um dado importante a ser avaliado, e pode estar associada com ações químicas capazes de inibir a síntese de DNA, resultando em mitoses reduzidas.

Tedesco et al., (2012), encontraram resultados similares à inibição do índice mitótico com o infuso de *Mentha pulegium*, sobre o sistema de teste *Allium cepa*, observando que a proliferação celular decaiu à medida que a concentração do chá aumentou, resultado semelhante

ao estudo de Fachinetto *et al*, (2007) com as infusões de *Achyrocline satureioides* (marcela). Em outro estudo, Silva e Fogaça (2018) também observaram que o chá verde (*Camellia sinensis*) reduziu o índice mitótico de forma significativa, reforçando a necessidade trazida por este trabalho, no que se trata da necessidade de mais testes e estudos acerca de plantas medicinais e suas concentrações terapêuticas.

Em relação às aberrações cromossômicas (Tabela 2) os dados obtidos caminham de forma compatível com os de Bezerra e colaboradores (2016) indicando que a presença de aberrações nos cromossomos aumenta juntamente com a concentração, sendo o maior número de aberrações na maior concentração de chá apresentada, demonstrando, assim, efeito genotóxico e potencialmente mutagênico. De acordo com Machado et al. (2014) outro ponto a ser avaliado está na nas possíveis interações de *Plectranthus barbatus* quando utilizado com outros fármacos, podendo gerar reações inesperadas e indesejáveis.

Por fim, é necessário lembrar que o uso das plantas de forma medicinal por meio do infuso, como o exemplo do boldo, pode continuar sendo utilizado, entretanto, com consciência, respeitando suas concentrações e doses terapêuticas, dando atenção também ao modo de preparo, para melhor precaução e segurança, como proposto por Bagatini e Colaboradores (2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos é possível concluir que, o infuso de *Plectranthus barbatus* pode atuar de forma citotóxica, genotóxica e mutagênica quando utilizado em concentrações que excedem o recomendado, podendo ocasionar inibição do índice mitótico, e aberrações cromossômicas como micronúcleos. Entretanto, para melhores e definitivos resultados, são necessários mais testes e estudos, a fim de garantir a segurança e eficácia, acerca da utilização não apenas do boldo, como das demais plantas medicinais. Por fim, o aumento de células visualizadas e testes feitos, podem trazer novos resultados, assim como podem ajudar a entender e delimitar melhor os dados não obtidos com clareza, como os cromossomos vagantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAGATINI, M.D; SILVA, A.C. F; TEDESCO, S.B. Uso do Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotóxicidade de infusão de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.17, n.3, p.444-447, 2007.

BEZERRA, C.M; DINELLY, C.M. N; OLIVEIRA, M.A.S. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso de malva-santa *Plectranthus barbatus* (Lamiaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Electronic Journal of Pharmacy**, v.13, n.3, p.220-228, 2016.

BRAGA, C.M. **Histórico da utilização de plantas medicinais**. 24f. Monografia (Licenciatura) – Ciências Biológicas, Universidade de Brasília e Universidade de Goiânia, 2011.

BRANDOLT, T. D. D. Efeito do extrato de *Plectranthus barbatus* (Andr.) Benth no desempenho reprodutivo de *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769). **Revista Biotemas**, 20 (2): 49-58, 2007.

CABRERA, G.L; RODRIGUEZ, D.M.G. **Genotoxicidade do solo de terras agrícolas irrigadas com águas residuais usando três bioensaios vegetais**. Mutation Research vol. 426: 211-214.

COSTA, M.C.C.D. **Aspectos farmacológicos de *Plectranthus barbatus* (Lamiaceae): atividades antimicrobiana, citotóxica e antitumoral**. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002

CRUZ, G.S; SCHUERTZ, H.F; DIAS, G.B. Uso popular do boldo *Plectranthus barbatus* Andrews (Lamiaceae) como fitoterápico em tratamento de doenças. **Health and Diversity**, Roraima, v.1, p.90-95, 2017.

FACHINETTO, J.M. *et al.* Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, v.17, n.1, p.49-54, 2007.

FERNANDES, V.M.P. *et al.* Potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de frações do extrato de *Cróton L.* (Euphorbiaceae). **Research, Society and Development**, v.11, n.4, 2022.

FRÓES, M.C. *et al.* **Riscos e benefícios dos chás provenientes de *Plectranthus barbatus*, *Peumus boldus molina*, *Vernonia condensata* no cenário do cerrado do Norte Mineiro**. In: FÓRUM DE ENSINO, PESQUISA, EXTENSÃO E GESTÃO, 9., 2015, Minas Gerais, 2015.

FROTA, R.G. *et al.* Citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade da infusão de *Plectranthus barbatus* – Lamiaceae (malva-santa) avaliada pelo sistema de teste *Allium cepa*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v.18, n.1, p.67-72, 2019.

GRZESIUK, J.D. **Avaliação da mutagenicidade e antimutagenicidade da infusão de *Ilex paraguariensis* no sistema de *Allium cepa***. 46f. Monografia (Bacharelado)- Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2009.

KRÜGER, R.A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *allium cepa***. 58f. Dissertação (mestrado) - Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009.

LIMA, L.R. *et al.* Avaliação da atividade antiedematogênica, antimicrobiana e mutagênica das sementes de *Amburana cearenses*(Imburana-de-cheiro). **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 15, n.3, p.415-422, 2013.

MACHADO, H.L. Pesquisa e atividades de extensão em fitoterapia desenvolvidas pela rede Fito Cerrado: uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos por idosos em Uberlândia. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v.16, n.3, p.527-533, 2014.

ROCHA, L.P.B. *et al.* Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v.10, n.10, 2021.

SILVA, K.R; FOGAÇA, L.C.S. Estudo da Toxicidade de Formulações Fitoterápicas Emagrecedoras Utilizando Bioensaio com *Allium cepa*. *Revista Multidisciplinar e de Psicologia*, v.12, n.40, p.1105-1111, 2018.

TEDESCO, M. *et al.* Potencial antiproliferativo de extratos aquosos de *Mentha pulegium* L. pelo teste de *Allium Cepa* L. **Revista Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.8, n.15, p.1913-1917, 2012.

TERCEIRO, A.J.M.D; OLIVEIRA, M.A.S. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do infuso das folhas de *lippia sidoides* (verbenaceae). **Revista Ciência e Estudos Acadêmicos de Medicina**, Mato Grosso, n.12, p. 71-82, 2020.

ANEXOS

**ANEXO A – TERMO DE COMPROMISSO DO PROFESSOR ORIENTADOR DO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Eu, Rafael Rauber, professor (a) do Curso de Graduação em Ciências Biológicas desta Instituição, declaro, para os devidos fins, estar de acordo em assumir a orientação do Trabalho de Conclusão de Curso do (a) aluno (a) Hellen Carolina Tozzi de Siqueira, habilitação Licenciatura e que apresenta, como título provisório: Avaliação da genotoxicidade e mutagenicidade do infuso de *Plectranthus barbatus* através do sistema de teste *Allium cepa*.

Cascavel, 20 de setembro de 2022

RAFAEL RAUBER

Nome legível do orientador



Assinatura do orientador

Hellen Carolina Tozzi de Siqueira

Nome legível do aluno



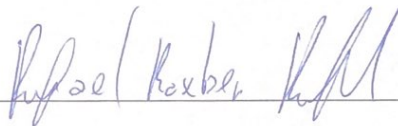
Assinatura do aluno

**ANEXO B – TERMO DE COMPROMISSO DO ALUNO ORIENTADO DO TRABALHO DE
CONCLUSÃO DE CURSO.**

Eu, Hellen Carolina Tozzi de Siqueira, Carteira de identidade número 14.039.633-8, aluno regularmente matriculado no curso de graduação de Ciências Biológicas da Faculdade Assis Gurgacz – FAG, sob registro acadêmico número 201910321 declaro estar ciente das regras definidas pelo colegiado do curso de Ciências Biológicas para o processo de realização do trabalho de conclusão de curso, cumprindo, assim os créditos da disciplina: Trabalho de Conclusão de Curso.

Declaro ainda que me comprometo a cumprir rigorosamente os prazos definidos para entrega das diversas etapas do trabalho, bem como a estar em todos os encontros previstos com o professor orientador.

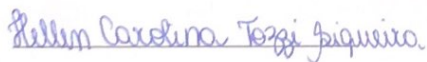
Professor orientador:



Título provisório:

Avaliação da genotoxicidade e mutagenicidade do infuso de *Plectranthus barbatus* através do sistema de teste *Allium cepa*

Cascavel, 20 de setembro de 2022



Nome legível do aluno



Assinatura do aluno

ANEXO C – SOLICITAÇÃO DE COMPOSIÇÃO DE BANCA DE DEFESA DE TCC

Eu, acadêmico(a) Hellen Carolina Tozzi de Siqueira, juntamente com meu professor(a) orientador(a) Rafael Rauber, docente do curso de Ciências Biológicas, viemos por meio deste solicitar a composição da banca de defesa pública do Trabalho de Conclusão de curso intitulado: Avaliação da genotoxicidade e mutagênicidade do infuso de *Plectranthus barbatus* através do sistema de teste *Allium cepa*, com os professores citados abaixo:

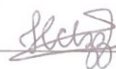
Rafael Rauber	Orientador
Jessica Patrícia Borges	Titular
Patrícia Galvão	Titular
Juliano Karvat	Suplente

Cascavel, 28 de outubro de 2022



RAFAEL RAUBER

RG: 8.610.982-4 /SSPPR
CPF: 059.076.109-99



HELLEN CAROLINA TOZZI

RA: 201910321
RG: 14.039.633-8 /SSPPR

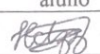
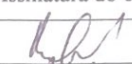
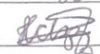
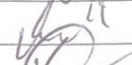
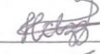
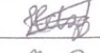
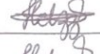
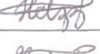
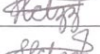
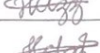
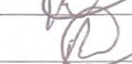
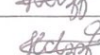
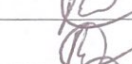
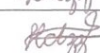
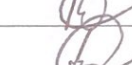
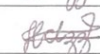
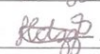
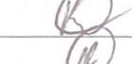
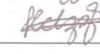
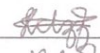
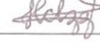
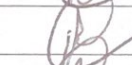
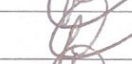
ANEXO D – ACOMPANHAMENTO DAS ORIENTAÇÕES DE TCC

Acadêmico: Hellen Carolina Tozzi de Siqueira

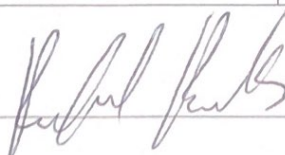
RA: 201910321

Orientador: Rafael Rauber

Período: 8º período

Data	Atividades desenvolvidas	Assinatura do aluno	Assinatura do orientador
05/08	Orientação em sala de aula		
10/08	Orientação via WhatsApp		
12/08	Orientação em sala de aula		
19/08	Orientação em sala de aula		
26/08	Leitura de lâmina em laboratório		
16/09	Leitura de lâmina em laboratório		
30/09	Leitura de lâmina em laboratório		
06/10	Orientação via WhatsApp		
17/10	Orientação via WhatsApp		
18/10	Orientação via WhatsApp		
09/11	Reunião via Meet		
11/11	Orientação em sala de aula		
14/11	Orientação via WhatsApp		
16/11	Orientação via WhatsApp		
17/11	Orientação via WhatsApp		
21/11	Orientação via WhatsApp		

Assinatura do Orientador:



ANEXO E – DECLARAÇÃO DE REVISÃO ORTOGRÁFICA E GRAMATICAL DO
TCC

Eu, Pamella Elize de Lara Martini, RG 6.941.794-9, CPF 044.200.299-86, e-mail pamelize@yahoo.com.br, telefone (45) 99978-7046, declaro para os devidos fins que realizei a correção ortográfica e gramatical do artigo intitulado Avaliação da genotoxicidade e mutagênicidade do infuso de boldo *Plectranthus barbatus* através do sistema de teste *Allium cepa*, de autoria de Hellen Carolina Tozzi Siqueira, acadêmica regularmente matriculada no Curso de Ciências biológicas – modalidade Licenciatura do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz.

Por ser verdade, firmo o presente documento.

Cascavel, 22 de novembro de 2022.

Pamella Martini

Pamella Elize de Lara Martini.

Hellen Carolina Tozzi Siqueira

Hellen Carolina Tozzi Siqueira

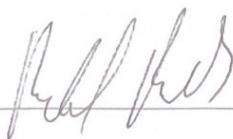
ANEXO F – DECLARAÇÃO DE INEXISTÊNCIA DE PLÁGIO

HELLEN CAROLINA TOZZI DE SIQUEIRA

AValiação da Genotoxicidade e Mutagênicidade do Infuso de Boldo *PLECTRANTHUS BARBATUS* Através do Sistema de Teste *ALLIUM CEPA*

Eu Hellen Carolina Tozzi de Siqueira, aluno(a) da Graduação de Ciências Biológicas, da Faculdade Assis Gurgacz, declaro, para os devidos fins, que o Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em anexo, requisito necessário à obtenção do grau de Bacharel ou Licenciado em Ciências Biológicas, encontra-se plenamente em conformidade com os critérios técnicos, acadêmicos e científicos de originalidade. Declaro ainda que, com exceção das citações diretas e indiretas claramente indicadas e referenciadas, este trabalho foi escrito por mim e, portanto, não contém plágio, fato este que pode ser comprovado pelo relatório do software verificador de plágio que se encontra junto a este documento. Eu estou consciente que a utilização de material de terceiros incluindo uso de paráfrase sem a devida indicação das fontes será considerado plágio, e estará sujeito à processo administrativo da FAG - Faculdade Assis Gurgacz e sanções legais.

Cascavel, 21 de novembro de 2022

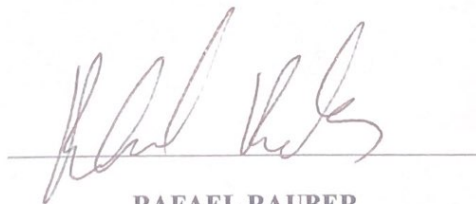


RAFAEL RAUBER
RG: 8.610.982-4 /SSPPR
CPF: 059.076.109-99

ANEXO G – AUTORIZAÇÃO PARA ENCAMINHAMENTO DO TCC PARA DEFESA

Eu, Professor (a) Rafael Rauber, docente do curso de Ciências Biológicas, orientador da acadêmica Hellen Carolina Tozzi de Siqueira, na elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado: Avaliação da genotóxicidade e mutagenicidade do infuso de Boldo *Plectranthus barbatus* através do sistema de teste *Allium cepa*, declaro estar de acordo com o envio do trabalho sob minha orientação para avaliação da banca e defesa pública.

Cascavel, 21 de novembro de 2022

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Rafael Rauber', is written over a horizontal line.

RAFAEL RAUBER
RG: 8.610.982-4 /SSPPR
CPF: 059.076.109-99



Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda

Title: **avaliacao da genotoxicidade e mutagenicidade**

Date: 23/11/2022 17:03

User: Hellen Carolina Tozzi de Siqueira

Email: hellentozzi14@outlook.com

Revision: 1

Comments :

- If you have any doubts about the interpretation of the report, click on the 'Help' button.
- If you have received this report from another person and there is a suspicion of violation of the most sensitive information presented below, please use the search text and perform a new search on docxweb.com.
- Other information is available in the rest of the report's expandable tabs.

Authenticity with regard to INTERNET

Authenticity Calculated: **100 %**

Autenticidade em relação à INTERNET

%	Ocorrência de Links
---	---------------------

Nenhuma equivalência encontrada.

Texto verificado (Internet)

Links por Ocorrência (Internet)



Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda

Title: **avaliacao da genotoxicidade e mutagenicidade**

Date: 23/11/2022 17:03

User: Hellen Carolina Tozzi de Siqueira

Email: hellentozzi14@outlook.com

Revision: 1

*Comments :**- If you have any doubts about the interpretation of the report, click on the 'Help' button.**- If you have received this report from another person and there is a suspicion of violation of the most sensitive information presented below, please use the search text and perform a new search on docxweb.com.**- Other information is available in the rest of the report's expandable tabs.***Authenticity with regard to INTERNET**Authenticity Calculated: **100 %****Autenticidade em relação à INTERNET****Texto verificado (Internet)****INTRODUÇÃO**

Desde a antiguidade, antes mesmo da civilização, o homem se utiliza dos mais diversos recursos derivados das plantas, a fim de melhorar sua qualidade de vida. Inicialmente utilizados como matéria prima na confecção de diversas barbatanas, as plantas também serviram de alimento desde o princípio, fazendo com que a ingestão aleatória de algumas delas, resultassem na descoberta de propriedades relevantes (BEZERRA; et al, 2016).

Não apreciado para que o homem começasse a utilizar-las como alternativa terapêutica, sendo assim, o uso das plantas de forma medicinal é tão antecedente quanto ao próprio homem (FRÓES; et al, 2015). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), são considerados plantas medicinais "todo e qualquer vegetal, que possui em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos" (OMS, 1998). O estudo acerca de medicamentos com constituintes originários de plantas e vegetais no tratamento de doenças e seus sintomas, é chamado de

fitoterapia. Portanto, todo medicamento ou produto derivado de plantas medicinais é denominado fitoterápico (CRUZ; et al, 2017).

Atualmente estão presentes no mercado, grande variedade de fitoterápicos, podendo ser apresentados de diversas formas, principalmente na forma de chá, que se destaca pelos seus benefícios à saúde, sendo de fácil acesso e baixo custo. Porém, muitos deles são utilizados de forma exacerbada, em concentrações que excedem o recomendado, mesmo possuindo poucos estudos ou nenhuma comprovação científica. Contudo, todos os chás apresentam algum efeito, fazendo com que não possam ser usados para qualquer coisa, e em qualquer quantidade, sem o conhecimento de seus princípios ativos (SILVA e FOGAÇA, 2018).

Um exemplo muito famoso de planta medicinal utilizada, principalmente na forma de chá, é o boldo (*Plectranthus barbatus*). Também conhecido como boldo brasileiro, falso-boldo, boldo-de-jardim, boldo-do-reino, malva-santa entre outros, é uma espécie de arbusto pertencente ao Filo Angiosperma, e a família Lamiaceae. Trata-se de uma planta com ciclo de vida longo, com até 1,5 de altura, poucos ramos, folhas alongadas de aroma característico e sabor amargo, geralmente utilizadas no tratamento de problemas digestivos. Acredita-se que foi introduzido no Brasil pelos escravos, tendo sua origem na África, Ásia e Austrália, e atualmente é encontrado e cultivado em todo território (BEZERRA; et al, 2016; CRUZ; et al, 2017).

O uso de plantas medicinais tem sido uma alternativa para aqueles que não possuem recursos ou não simpatizam com remédios sintéticos e seus efeitos colaterais. Contudo, muitas pessoas se utilizam dessas plantas pela praticidade, em vista que, boa parte delas pode ser cultivada em casa, sendo de fácil acesso, consumo, e baixo custo. Além disso boa parte das pessoas desconhecem seus efeitos negativos, e acreditam que plantas medicinais não oferecem risco à saúde por serem naturais (ROCHA; et al, 2021).

Conforme a OMS, estima-se que cerca de 60% a 80% da população mundial, acaba optando pela medicina alternativa, fazendo uso de plantas medicinais por questões culturais e na maioria das vezes, devido a pobreza e a falhas no sistema de saúde, fazendo com que dificuldades financeiras limitem o acesso à medicina tradicional e seus medicamentos (BAGATINI;

et al, 2007; CRUZ; et al, 2017).

Entretanto, grande parte dos conhecimentos acerca das plantas medicinais é empírico e popular, sendo passado de geração em geração, podendo estar ligado até mesmo com algumas crenças (BRAGA, 2011). O que torna essa prática uma estratégia perigosa quando realizada sem embasamento ou orientação, levando em conta o fato de muitas plantas apresentarem diversos nomes populares, que podem variar de acordo com a região, podendo indicar espécies diferentes. Outro fator de risco ocorre na identificação dessas plantas, que podem apresentar similaridade, porém, com composição química variável, levantando assim, uma margem de erro considerável (FRÓES; et al, 2015).

Além disso, sabe-se que as plantas podem produzir substâncias químicas capazes de atuar benéficamente, ou até mesmo de modo contrário exercendo propriedades tóxicas (TEDESCO; et al, 2012). Sendo assim, mesmo com grande diversidade genética vegetal, são poucas as espécies que apresentam estudos científicos validando sua segurança e eficácia, em vista que grande parte delas não foi suficientemente estudada e testada (BAGATINI; et al, 2007).

No entanto, são necessários estudos e testes mais aprofundados a fim de garantir cientificamente o uso de tais plantas, assim como suas doses e concentrações terapêuticas. Antes disso, é impossível garantir a segurança na utilização de determinada planta no tratamento de certas patologias, sem oferecer riscos à saúde do usuário, tais como envenenamento, intoxicação, mutagenicidade, genotoxicidade, e outras reações indesejadas (TERCEIRO e OLIVEIRA, 2020)

A genotoxicidade consiste na capacidade de certos agentes, ocasionarem alterações, lesões e quebras na molécula de DNA, onde a célula pode ser reparada ou eliminada pelo próprio indivíduo. Quando fixadas, essas lesões podem levar a danos hereditários, sendo classificadas como mutações. Sabe-se que mutações podem ocorrer de forma espontânea, entretanto, grande parte delas são induzidas por exposição à agentes físicos, químicos ou biológicos. Já a citotoxicidade pode ser avaliada pelo potencial que algumas substâncias exercem, inibindo o índice mitótico derivado de sua mutagenicidade (KRÜGER, 2009).

Para avaliação e prevenção de agentes mutagênicos e genotóxicos, se faz fundamental o uso de indicadores sensíveis, que possibilitem detectar tais

potenciais. Por meio de estudo, verifico-se que algumas plantas se apresentavam ideais, funcionando como "bioindicadoras". Diante disso, foram realizados diversos ensaios possibilitando tal avaliação. Um exemplo disso é o teste vegetal *Allium cepa*, que funciona como bioindicador em casos de mutagênicidade, genotóxicidade entre outros (BEZERRA; et al, 2016).

Validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), o sistema de teste *Allium cepa*, atua como um eficiente teste no controle e análise da genotóxicidade (CABRERA e RODRIGUEZ, 1999). O uso de tal teste vem sendo bem aceito no estudo dos efeitos genotóxicos de plantas medicinais, pois é realizado contato direto da substância testada com as raízes, fazendo com que possa ser testado em diversas concentrações (SILVA e FOGAÇA 2018).

O método de avaliação do sistema de teste *Allium cepa* se baseia em diversos parâmetros como índice mitótico (IM), aberrações cromossômicas e formação de micronúcleos, podendo avaliar, não somente o potencial citotóxico como genotóxico e também o potencial mutagênico. Além disso, o teste *Allium cepa* apresenta coerência com outros testes e convergência com testes em células de mamíferos, contribuindo com os estudos relacionados à saúde humana, além de apresentar elevada sensibilidade, baixo custo, rapidez, fácil manipulação e alto índice de confiabilidade (FERNANDES; et al, 2022; BAGATINI; et al, 2007).

Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo, avaliar o potencial genotóxico e mutagênico, de diferentes concentrações dos infusos de *Plectranthus barbatus*, por meio da análise celular de células meristemáticas, usando o sistema de teste *Allium cepa*.

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

O experimento foi realizado nos laboratórios de Química, Microscopia e Germinação de sementes do Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG), sediado no município de Cascavel, localizado na região Oeste do Estado do Paraná. As folhas de Boldo (*Plectranthus barbatus*) foram obtidas no comércio local de Laranjeiras do Sul – PR, enquanto as sementes de *Allium*

cepa foram obtidas na Agrícola Alvorada em Cascavel – PR.

Preparação dos infusos de *Plectranthus barbatus*

As análises foram realizadas com seis tratamentos e quatro repetições, sendo os tratamentos nomeados por T1, T2, T3, T4, T5 e T6. O primeiro tratamento (T1) do infuso de Boldo, foi correspondente à concentração geralmente utilizada pela população, que de acordo com a literatura, é de 6g de folhas frescas em 250 ml de água fervente; o segundo (T2), 12g de folhas frescas em 250 ml de água fervente; o terceiro (T3) 18g de folhas frescas em 250 ml de água fervente; o quarto (T4), 24g de folhas frescas em 250 ml de água fervente; o quinto tratamento (T5) foi o controle negativo onde foi utilizado água destilada; e no último tratamento correspondente ao controle positivo (T6) foi utilizado paracetamol a 800 mg/l (FROTA; et al, 2019).

O extrato aquoso de *Plectranthus barbatus* foi preparado por infusão a partir das folhas frescas. Os infusos foram preparados pela imersão de *Plectranthus barbatus* em água fervente por 10 minutos, em quatro concentrações diferentes: 6g, 12g, 18g e 24g. Em seguida, os extratos foram filtrados e resfriados a temperatura ambiente (FROTA; et al, 2019).

Germinação das sementes de *Allium cepa*

As sementes foram colocadas para germinar em placa de Petri, contendo um papel filtro em sua base. Foram utilizadas em média, 12 sementes por placa, onde ficaram embebidas em água destilada estéril, sendo recobertas por outro papel filtro e levadas para B.O.D em 26°C para seu enraizamento. O procedimento de preparação das placas ocorreu em ambiente estéril com auxílio de um bico de Bunsen evitando possíveis contaminações. (GRZESIUK, 2009).

Tratamento das sementes de *Allium cepa* com extratos em forma de chá de *Plectranthus barbatus*

Foram realizados seis tratamentos, com quatro repetições cada. À medida que as sementes foram apresentando 1 cm de radícula, foram transferidas para os seus respectivos tratamentos e concentrações, sendo utilizado 01

ml de cada solução conforme T1, T2, T3, T4, T5 e T6. Cada semente permaneceu em tratamento durante 24 horas. Em seguida, foram fixadas em etanol-ácido acético (3:1) por 24 horas. Após isso, as raízes foram retiradas e colocadas em álcool 70% para conservação até o preparo das lâminas (TEDESCO; et al, 2012; GRZESIUK, 2009).

Preparação das lâminas

Foram confeccionadas 4 lâminas para cada tratamento. Para preparação das lâminas as raízes foram hidrolisadas em HCL 1N durante 8 minutos, e posteriormente lavadas em água destilada por 5 minutos. Em seguida, foram transferidas para um frasco escuro contendo o reativo de Schiff, onde ficaram durante 40 minutos, e então foram lavadas novamente em água destilada até a retirada completa do corante. Posteriormente a região meristemática da raiz foi cortada, com auxílio de um bisturi. Após isso, uma gota de orceína acética 2% foi adicionada, e o material foi colocado sobre a lâmina, onde foi espalhado mecanicamente e recoberto pela lamínula. Diante disso, as lâminas foram levadas ao microscópio para ser observadas em um aumento de 400X (GRZESIUK, 2009; TEDESCO; et al, 2012).

Tratamento estatístico

A análise estatística foi feita através do software Bioestat, onde foram realizados o teste ANOVA com dois critérios, seguido do teste de Tukey, onde foram comparadas as médias das amostras.

RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta pesquisa estão apresentados na tabela 1 e 2. Na tabela 1, estão apresentados os dados respectivos aos índices mitóticos da *Allium cepa*, em diferentes concentrações do infuso de *Plectranthus barbatus*, juntamente com o controle positivo (Paracetamol 800/mg) e negativo (água destilada).

Tabela 1- Contagens de 2000 células meristemáticas de *Allium cepa* em

seus respectivos tratamentos. Análise ANOVA dois critérios com correção de Tukey $p < 0.05$ para amostras com diferentes letras indicadas

Ciclo Celular Mitótico

C- 6g 12g 18g 24g C+

Não dividindo 1786 1800 1898 1923 1944 1896

Dividindo 214 200 97 66 33 78

Índice mitótico 0.107 0.100 0.049 0.033 0.017 0.039

Estatística A a b bc c b

Fonte: autor (2022).

Na tabela 1, é possível perceber que o índice mitótico diminuiu gradativamente em valores à medida que a concentração do chá aumentou. De acordo com os resultados obtidos estatisticamente o controle negativo (C-) e 6g não apresentaram diferença significativa (Tabela 1 - a), assim como tratamento 12g, 18g, C+ quando comparados uns com os outros. Um dado que chama atenção é a diferença significativa do tratamento 24g quando comparado com 6g, 12g, C- e C+, entretanto, o mesmo não acontece com 18g, sendo este último o único tratamento que não apresenta diferença significativa quando comparado com 24g.

Na tabela 2, estão apresentados os dados correspondentes às aberrações cromossômicas de acordo com o tratamento realizado. As aberrações cromossômicas foram avaliadas em micronúcleos.

Tabela 2- Contagens de 2000 células meristemáticas de *Allium cepa* e as aberrações cromossômicas encontradas nos diferentes tratamentos. Análise ANOVA dois critérios com correção de Tukey $p < 0.05$ para aberrações cromossômicas.

Aberrações Cromossômicas

C- 6g 12g 18g 24g C+

Micronúcleo 0 0 5 10 20 25

Estatística a a ab b c c

Fonte: O próprio autor (2022).

Na tabela 2, é possível observar que à medida que a concentração do chá

aumentou, também houve um aumento da quantidade de aberrações cromossômicas. Entretanto, de acordo com a análise estatística, os tratamentos C-, 6g e 12g não apresentam divergência, contudo quando comparado com o 18g, o tratamento 12g é o que mais se aproxima. Já o 24g e o C+, apesar de não diferirem um do outro estatisticamente, diferem dos demais tratamentos.

Nas aberrações cromossômicas, ainda foram analisados cromossomos vagantes, os quais apresentaram um número muito pequeno, frente ao número de células analisadas. Portanto, não se tornou viável realizar a análise estatística, mesmo que em valores absolutos tenha se percebido alteração, a amostra não pode ser delimitada com clareza, com tantas amostras de valor zero. Com isso, não foi possível afirmar nenhuma informação com segurança, mas os resultados foram: 0 para controle negativo, 0 para 6g, 0 para 12g, 1 para 18g, 3 para 24g e 1 para controle positivo. Vale ressaltar que se trata-se de uma amostra de difícil análise e identificação, o que abre uma possível margem de erro.

DISCUSSÃO

O presente trabalho buscou avaliar o potencial genotóxico e mutagênico de diferentes concentrações do infuso de boldo (*Plectranthus barbatus*) sobre células meristemáticas de raiz de cebola (*Allium cepa*). Os resultados obtidos foram avaliados de acordo com duas características, sendo elas respectivamente, o índice mitótico, e a presença de aberrações cromossômicas.

A primeira característica foi avaliada através das taxas de divisão celular em cada tratamento. Já a segunda, foi avaliada através da presença e quantidade de aberrações cromossômicas de cada tratamento. O sistema de teste escolhido (*Allium cepa*) vai de encontro com os demais autores, os quais afirmam se tratar de um excelente bioindicador, na avaliação de genotoxicidade e mutagenicidade, quando se trata de infuso de plantas medicinais.

O infuso testado é geralmente utilizado em problemas digestivos e no fígado, e é uma das plantas mais citadas em levantamentos etnobotânicos de plantas medicinais do Brasil como sugere Brandolt et al., (2007).

Entretanto, Costa (2002) chegou a alertar sobre o uso consciente da espécie depois de verificar efeitos tóxicos nos fígados e rins de camundongos tratados com extrato aquoso da folha de *Plectranthus barbatus*. Alertando sobre os riscos do uso das plantas medicinais quando utilizadas sem embasamento ou orientação, podendo gerar danos à saúde, como proposto por Lima e colaboradores (2013) e reafirmado nessa pesquisa.

Após a análise dos resultados, foi possível perceber uma relação entre os dados, sendo que o índice mitótico diminuiu à medida que a concentração do chá aumentou, (Tabela 1) o que corrobora com os resultados de Frota e colaboradores (2019) sugerindo a citotoxicidade do infuso de *Plectranthus barbatus*, em concentrações que excedem o recomendado. Ainda de acordo com Frota, a redução do índice mitótico é um dado importante a ser avaliado, e pode estar associada com ações químicas capazes de inibir a síntese de DNA, resultando em mitoses reduzidas.

Tedesco et al., (2012), encontraram resultados similares à inibição do índice mitótico com o infuso de *Mentha pulegium*, sobre o sistema de teste *Allium cepa*, onde a proliferação celular decaiu à medida que a concentração do chá aumentou, e o mesmo aconteceu com Fachinetto et al, (2007) com as infusões de *Achyrocline satureioides* (marcela). Em outro estudo, Silva e Fogaça (2018) também observaram que o chá verde (*Camellia sinensis*) reduziu o índice mitótico de forma significativa, reforçando a necessidade trazida por este trabalho, no que se trata da necessidade de mais testes e estudos acerca de plantas medicinais e suas concentrações terapêuticas.

Já em relação às aberrações cromossômicas (Tabela 2) os dados obtidos caminham de forma compatível com os de Bezerra e colaboradores (2016) onde a presença de aberrações aumenta juntamente com a concentração, sendo o maior número de aberrações na maior concentração de chá apresentada, demonstrando, assim, efeito genotóxico e potencialmente mutagênico. De acordo com Machado et al. (2014) outro ponto a ser avaliado está na nas possíveis interações de *Plectranthus barbatus* quando utilizado com outros fármacos, podendo gerar reações inesperadas e indesejáveis.

Alguns problemas enfrentados durante o processo foram em relação à quantidade de células a serem analisadas, alguns dados poderiam ter sido

mais bem delimitados se uma quantidade maior de células tivesse sido analisada. Entretanto, de acordo com a literatura, uma quantidade acima de 1.200 até 2.000 era suficiente.

Por fim, é necessário lembrar que o uso das plantas de forma medicinal por meio do infuso, como o exemplo do Boldo, pode continuar sendo utilizado, entretanto, com consciência, respeitando suas concentrações e doses terapêuticas, dando atenção também ao modo de preparo, para melhor precaução e segurança, como proposto por Bagatini e Colaboradores (2007).

De acordo com os resultados obtidos é possível concluir que, o infuso de *Plectranthus barbatus* pode atuar de forma citotóxica, genotóxica e mutagênica quando utilizado em concentrações que excedem o recomendado. Podendo ocasionar o índice mitótico, e aberrações cromossômicas como micronúcleos. Entretanto, para melhores e definitivos resultados, são necessários mais testes e estudos, a fim de garantir a segurança e eficácia, acerca da utilização não apenas do boldo, como das demais plantas medicinais. Por fim, o aumento de células visualizadas e testes feitos, pode trazer novos resultados, assim como pode ajudar a entender e delimitar melhor os dados não obtidos com clareza, como os cromossomos vagantes.

Links por Ocorrência (Internet)





Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda

Title: **avaliacao da genotoxicidade e mutagenicidade**

Date: 23/11/2022 17:03

User: Hellen Carolina Tozzi de Siqueira

Email: hellentozzi14@outlook.com

Revision: 1

Comments :

- If you have any doubts about the interpretation of the report, click on the 'Help' button.

- If you have received this report from another person and there is a suspicion of violation of the most

sensitive information presented below, please use the search text and perform a new search on docxweb.com.

- Other information is available in the rest of the report's expandable tabs.

Authenticity with regard to INTERNET

Authenticity Calculated: **100 %**

Autenticidade em relação à INTERNET

Texto verificado (Internet)

Links por Ocorrência (Internet)

Fragmento: plantas medicinais "todo e qualquer vegetal, que possui em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos"

https://farmacia200902.files.wordpress.com/2011/03/aula_1_materia_prima_vegetal1.pdf

Fragmento: ou nenhum comprovação científica.

<http://www.firval.com.br/ftmateria/1411747716.pdf>



Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda