



## **AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE DO EXTRATO DE ACETATO DE ETILA DE *ACHYROCLINE SATUREIODES* EM *ALLIUM CEPA***

**UNIJUÍ<sup>1</sup>, Francisco Rodrigues Palharini<sup>2</sup>, Rafael Schneider Costa<sup>3</sup>, Rafaela Bellé<sup>4</sup>, Juliana Maria Fachinetto<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Pesquisa desenvolvida na Unijuí; financiado pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC/CNPq.

<sup>2</sup>Acadêmico do curso de Graduação em Farmácia na UNIJUÍ, bolsista de iniciação científica financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC/CNPq. E-mail: francisco.palharini@sou.unijui.edu.br.

<sup>3</sup>Acadêmico do curso de Graduação em Ciências Biológicas na UNIJUÍ, bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET) do curso de Ciências Biológicas. E-mail: rafael.costa@sou.unijui.edu.br

<sup>4</sup>Acadêmica do curso de Graduação em Ciências Biológicas na UNIJUÍ, bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET) do curso de Ciências Biológicas. E-mail:rafaela.belle@sou.unijui.edu.br

<sup>5</sup>Bióloga - Doutora em Genética e Biologia Molecular, professora da UNIJUÍ do curso de Graduação em Ciências Biológicas, docente permanente do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade e tutora do Programa de Educação Tutorial (PET) do curso de Ciências Biológicas. E-mail: juliana.fachinetto@unijui.edu.br.

### **INTRODUÇÃO**

*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC, conhecida popularmente como marcela, é uma planta da família Asteraceae, nativa da América do Sul encontrada em diversas regiões, incluindo Brasil, Argentina e Uruguai. Estudos demonstram seu uso tradicional no tratamento de distúrbios gastrointestinais, como diarreia e dispepsia, além de suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas (Mors et al., 2000).

Para compreender melhor os efeitos sobre a divisão celular e os efeitos genotóxicos, foram realizadas diversas pesquisas sobre o efeito potencial dos bioativos contidos no extrato da marcela. As investigações comprovaram que os extratos aquosos de marcela possuem uma ação inibitória significativa da divisão celular em *Allium cepa* (Fachinetto et al., 2007), como também ação alelopática dos extratos aquosos germinação de sementes da espécie invasora de culturas agrícolas, *Bidens pilosa* (picão-preto) (Pelozzo et al., 2022).

Estes resultados demonstraram que o extrato de *Achyrocline satureioides* possui um importante potencial que pode ser explorado para fins de produção agrícola, constituindo um potencial herbicida devido ao seu efeito inibitório na divisão celular e germinação de sementes (Fachinetto et al., 2007; Pelozzo et al., 2022). Estudos que avaliem a segurança dos



extratos de marcela tornam-se de extrema importância, visando atender aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), estando diretamente relacionado a este estudo os objetivos 2 - Fome zero e agricultura sustentável, 3 - saúde e bem-estar e 15 - vida terrestre (ONU, 2015).

Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos citotóxicos e genotóxicos do extrato fracionado de acetato de etila (FAE) de *Achyrocline satureioides*.

## METODOLOGIA

Para a obtenção dos extratos foram utilizadas as inflorescências de *Achyrocline satureioides* previamente coletadas em diferentes municípios do Rio Grande do Sul. Estas foram pesadas e armazenadas em etanol 80° GL, na proporção de 100g de planta seca para 1000 mL de álcool etílico por 15 dias, para extração (Mota, 2011). Após, o extrato foi submetido a rota-evaporação a 80 °C, para retirar o solvente. O extrato etanólico foi então fracionado por partição líquido-líquido com solventes de polaridades crescentes: hexano, diclorometano e acetato de etila. A partição foi realizada a partir de 40 g do extrato etanólico diluído em uma solução hidroetanólica a 70%. O fracionamento do extrato iniciou-se utilizando-se como solvente o hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), seguido do diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) e do acetato de etila (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>), para obterem-se, respectivamente, as frações hexânica (FH), diclorometânica (FD), acetato de etila (FAE) e, o que restou da solução hidroalcoólica, foi denominada fração hidroalcoólica (FHA). Para este estudo, foi utilizada a fração de acetato de etila (FAE), a qual foi preparada a partir do extrato bruto diluído nas concentrações de 1%, 2,5%, 5% e 10% (volume/volume) em água estéril.

Foram utilizadas aproximadamente 50 sementes de *Allium cepa* para germinação por cerca de 72 em caixas gerbox forradas com papel de filtro e algodão umedecidos com água destilada. Após as raízes atingirem entre 1,0 a 1,5 cm, as concentrações do extrato FAE substituíram a água destilada por 24 horas, exceto no grupo controle. Após a coleta das raízes as mesmas foram fixadas em Carnoy 3:1 por 24 horas e após mantidas em etanol 70% sob refrigeração até a posterior análise.

Para a preparação das lâminas a região meristemática apical das raízes foram seccionadas, hidrolisadas em HCl 1N por 5 minutos, lavadas e coradas com orceína acética 2% seguindo a técnica de esmagamento (Guerra; Souza, 2002). Aproximadamente 10 raízes



de cada concentração do extrato FAE e grupo controle foram analisadas, observando-se 4000 células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase com microscópio óptico de objetiva 40x para calcular o índice mitótico (IM). As alterações celulares e cromossômicas foram avaliadas, e os resultados submetidos ao teste do  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ) utilizando o Programa BIOESTAT 5.0 (Ayres et al., 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a avaliação do potencial genotóxico do extrato fracionado de acetato de etila (FAE) foram preparadas diferentes concentrações (1%, 2,5%, 5% e 10%) e um grupo controle, todos expostos ao mesmo ambiente regulado de temperatura e luminosidade.

Em relação ao IM, todas as concentrações diferiram do grupo controle, mostrando uma redução da proliferação celular. Entre as concentrações, pode-se observar que a concentração 1% diferiu das demais concentrações, apresentando o maior valor do IM entre as concentrações. As concentrações 2,5%, 5% e 10% não diferiram entre si. As concentrações de 5% e 10% apresentaram índices mitóticos de 0,09% e 0,08%, indicando que a inibição do crescimento da espécie testada (*Allium cepa*) ocorreu de maneira extremamente eficaz após a aplicação de 5% de acetato de etila, sem necessidade de concentrações mais elevadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Índice mitótico (IM) e alterações celulares (AC) nas células meristemáticas de *Allium cepa* submetidas ao extrato fracionado de acetato de etila (FAE) de *Achyrocline satureioides*.

Tratamento	IM %	AC %
controle	3,28a	0,63a
acetato de etila 1%	1,02b	0,7a
acetato de etila 2,5%	0,39c	0,6a
acetato de etila 5%	0,09c	0,26ab
acetato de etila 10%	0,08c	0,16b



Esses achados são relevantes, pois apontam para o potencial terapêutico do extrato FAE de marcela mesmo em baixas concentrações, evidenciado pela inibição da proliferação celular, ao mesmo tempo em que minimizam possíveis efeitos adversos associados a doses mais elevadas. O que ressalta os resultados encontrados anteriormente em estudos do mesmo extrato em outras espécies de plantas, demonstrando um potencial efeito alelopático do extrato (Pelozzo et al. 2022).

Em relação às AC, somente a concentração de 10% apresentou uma diferença significativa em relação ao grupo controle, evidenciando uma redução nas alterações celulares. Observou-se que o extrato, nas diferentes concentrações testadas, não foi capaz de aumentar as alterações celulares, o que indica que o mesmo não possui potencial genotóxico. Dessa forma, não causou danos ao DNA nem interferiu no ciclo celular.

As alterações cromossômicas nas diferentes frações do extrato não demonstraram caráter genotóxico em comparação com o grupo controle. As amostras do grupo controle apresentaram um índice de alterações cromossômicas de aproximadamente 0,63%. Por outro lado, o extrato de acetato de etila, considerando todas as suas diluições, apresentou uma média de 0,43%. Essa média foi calculada com base nos resultados das frações de 1%, 2,5%, 5% e 10%, que exibiram índices de 0,7%, 0,6%, 0,26% e 0,16%, respectivamente, indicando um baixo risco de alterações no DNA celular.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível avaliar que os resultados deste estudo destacam a segurança no uso do extrato FAE de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., especialmente em baixas concentrações, demonstrando uma inibição significativa da proliferação celular sem efeitos genotóxicos adversos. A partir de 5%, as frações testadas mostraram eficácia notável, indicando a viabilidade do uso da marcela para diferentes finalidades que visam minimizar riscos à saúde humana e ambiental.

A pesquisa sobre *Achyrocline satureioides* contribuiu para o desenvolvimento de produtos fitoterápicos seguros e eficazes, promovendo a saúde de forma sustentável. Além disso, valoriza a biodiversidade local e o uso responsável de recursos naturais, que busca

