

ELISA DOS SANTOS CARDOSO

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, EFEITO
ALELOPÁTICO, CITOTÓXICO E UTILIZAÇÃO DE
Zingiber officinale ROSCOE**

Dissertação de Mestrado

ALTA FLORESTA-MT

2018

	ELISA DOS SANTOS CARDOSO	Diss. MESTRADO	PPGBioAgro 2018



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E
AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS
AMAZÔNICOS**



ELISA DOS SANTOS CARDOSO

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, EFEITO
ALELOPÁTICO, CITOTÓXICO E UTILIZAÇÃO
DE *Zingiber officinale* ROSCOE**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi

ALTA FLORESTA-MT

2018

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO, CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação

Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

Walter Clayton de Oliveira CRB 1/2049

CARDOSO, Elisa dos Santos.

C268c Caracterização molecular, efeito alelopático, citotóxico e utilização de *Zingiber officinale* Roscoe / Elisa dos Santos Cardoso – Alta Floresta, 2018.
90 f.; 30 cm.(ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso
(Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Câmpus de Alta Floresta, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2018.

Orientadora: Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi

1. Fitoterapia. 2. Gengibre. 3. ISSR. 4. Diversidade Genética.
5. Citogenotoxicidade. I. Elisa dos Santos Cardoso.
II. Caracterização molecular, efeito alelopático, citotóxico e utilização de *Zingiber officinale* Roscoe.

CDU 633.88

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, EFEITO
ALELOPÁTICO, CITOTÓXICO E UTILIZAÇÃO DE
Zingiber officinale ROSCOE**

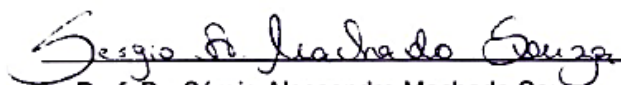
ELISA DOS SANTOS CARDOSO

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

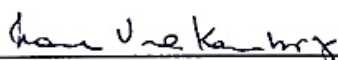
Aprovada em: 31 de janeiro de 2018



Profa. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi
Orientadora – UNEMAT/ PPGBioAgro



Prof. Dr. Sérgio Alessandro Machado Souza
UNEMAT/ PPGBioAgro



Profa. Dra. Isane Vera Karsburg
UNEMAT/ PGMP



Prof. Dr. Guilherme Ferreira Pena
UENF/RJ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, especialmente aos meus pais, Jayme e Bernadete, pelo incentivo e apoio incondicional, ao meu esposo, Vantuir, pela parceria e compreensão e à minha orientadora, Profa. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi, pela confiança e inspiração.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos e por esta vitória, pois sem Teu apoio não a teria alcançado.

À Universidade do Estado de Mato Grosso pela oportunidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicas (PPGBioAgro).

À Secretaria de Estado de Educação de Mato Grosso, pela concessão da Licença para Qualificação Profissional.

Aos professores do PPGBioAgro por seus ensinamentos.

Aos estudantes e entrevistados por compartilharem seus conhecimentos e contribuírem para construção desse trabalho.

A todos os funcionários da Escola Estadual 19 de Julho, em Peixoto de Azevedo, pela confiança, pelo apoio e pelo aprendizado durante nossa convivência.

Aos meus alunos, por compartilharem momentos de aprendizagem e diversão e me motivarem a buscar o melhor sempre.

Aos colegas da turma 2016/1, pela convivência e aprendizado.

Aos meus colegas do Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular pela recepção e pelo trabalho colaborativo durante ao longo destes dois anos. Alex, Auana, Bruno. Eliane Cristina, Jakeline, Jonis, Juliana, Kelli Évelin, Mateus, Patrícia, Rosiele, Rosimara, Rosimeire, Uéliton e Vinícius, meu muito obrigada!

À Eliane Cristina, em especial, pela parceria que se iniciou ainda durante a seleção para o mestrado. Pela contribuição nas disciplinas, projetos e atividades cotidianas e também por me ouvir, quando eu precisava desabafar.

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi, pela confiança depositada, pelos ensinamentos, pelo cuidado e pelo exemplo de profissional.

À minha família:

Aos meus pais, Jayme e Bernadete, pelo exemplo de vida, de retidão, por acreditarem em mim e me apoiarem. Obrigada pelo amor e pelas orações.

À minha irmã, irmãos, cunhadas e cunhados, sobrinhos e sobrinhas, pela confiança e amor.

Ao meu esposo, Vantuir, por me incentivar, mesmo ciente dos sacrifícios que tínhamos que fazer; por aceitar todas as mudanças que vieram em decorrência, por me auxiliar de todas as formas possíveis para que essa etapa fosse concluída. Meu eterno reconhecimento, gratidão e amor.

Obrigada por compreenderem os momentos de ausência durante esses dois anos.

“Assumir uma atitude responsável perante o futuro sem uma compreensão do passado é ter um objetivo sem conhecimento. Compreender o passado sem um comprometimento com o futuro é conhecimento sem objetivo.”

Ronald T. Laconte

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
LISTA DE SIGLAS	xv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT	xviii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
3. CAPÍTULOS	8
3.1. DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Zingiber officinale</i> ROSCOE CULTIVADO EM QUINTAIS URBANOS E RURAIS DE ALTA FLORESTA/MT.....	8
Resumo.....	9
Abstract.....	9
Introdução	10
Material e Métodos.....	13
Área de Estudo.....	13
Coleta do Material Vegetal	14
Extração e Quantificação de DNA.....	14
Reações de amplificação do DNA e eletroforese	15
Análise Estatística	17
Análise dos fragmentos amplificados	17
Diversidade Genética e Estrutura Populacional	17
Resultados e Discussão.....	19
Conclusões.....	26
Referências Bibliográficas	27
3.2. GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE <i>Lactuca sativa</i> L. EM DIFERENTES EXTRATOS DE <i>Zingiber officinale</i> Roscoe.....	31
Resumo.....	32

Abstract	32
Introdução	34
Material e Métodos	36
Resultados e Discussão	38
Conclusões.....	44
Referências Bibliográficas	45
3.3. POTENCIAL CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DE EXTRATOS DE <i>Zingiber officinale</i> ROSCOE SOBRE O CICLO CELULAR DE <i>Allium cepa</i> L.....	48
Resumo	49
Resumo	49
Introdução	51
Material e Métodos	54
Obtenção dos Extratos	54
Extratos aquosos.....	54
Extrato Hidroalcoólico	55
Teste <i>Allium cepa</i> L.....	55
Resultados e Discussão	59
Conclusões.....	68
Referências Bibliográficas	69
3.4. CONHECIMENTO E UTILIZAÇÃO DE <i>Zingiber officinale</i> ROSCOE EM ALTA FLORESTA/MT.	73
Resumo	74
Abstract	74
Introdução	76
Material e Métodos	78
Área de estudo	78
Metodologia.....	78
Resultados e Discussão	81
Conclusões.....	87
Referências Bibliográficas	88

4. CONCLUSÕES GERAIS.....	90
APÊNDICES.....	91
ANEXO.....	102

LISTA DE TABELAS

TABELAS	Página
CAPÍTULO 1	
1. Relação dos <i>primers</i> ISSR utilizados na caracterização molecular dos 19 indivíduos de <i>Zingiber officinale</i>	16
2. <i>Primers</i> ISSR utilizados, número total de bandas amplificadas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP), porcentagem de polimorfismo (% P) e conteúdo de informação polimórfica (PIC).....	19
3. Matriz de dissimilaridade genética entre 19 indivíduos de <i>Zingiber officinale</i> calculada com base no complemento do coeficiente de Jaccard, utilizando 78 fragmentos ISSR	20
4. Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), estresse e distorção dos Métodos Ward, Vizinho mais Próximo (SL) e UPGMA	21
5. Parâmetros de diversidade genética para os dois grupos (k=2), conforme determinado por análise bayesiana, para os 19 indivíduos de <i>Zingiber officinale</i>	24
6. Análise de Variância Molecular (AMOVA) dos dois grupos (k=2), conforme determinado por análise bayesiana, para os 19 indivíduos de <i>Zingiber officinale</i> com uso de nove (9) <i>primers</i> ISSR	24
CAPÍTULO 2	
1. Resultado da Análise de Variância (ANOVA) para germinação das sementes e desenvolvimento inicial de plântulas da alface sob efeito de diferentes concentrações de extratos aquosos de gengibre.....	38
2. Resultados do Teste de Média do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) em sementes da alface submetidas a diferentes extratos aquosos de gengibre.....	38

3. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) de sementes de <i>L. sativa</i> submetidas a diferentes concentrações dos extratos aquosos de gengibre.....	41
---	----

CAPÍTULO 3

1. Resultado da Análise de Variância (ANOVA) para o crescimento do sistema radicular de bulbos de <i>Allium cepa</i> expostos a extratos aquosos (infuso e decocto) e hidroalcoólico de <i>Zingiber officinale</i>	60
2. Número de células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> em diferentes etapas do ciclo celular, submetidas à diferentes concentrações e extratos de <i>Zingiber officinale</i> . IM = índice mitótico	62
3. Resultado do teste de média para o índice mitótico entre os controles positivo e negativo e os extratos de <i>Zingiber officinale</i> utilizados no teste <i>Allium cepa</i>	64

CAPÍTULO 4

1. Categorias de uso e formas de utilização de <i>Zingiber officinale</i> no município de Alta Floresta. N.C.= número de citações	84
2. Principais formas de utilização e concordância quanto a utilização de <i>Zingiber officinale</i> no município de Alta Floresta, Mato Grosso. NECC = nº de entrevistados que citaram a categoria de utilização; NECUP = nº de entrevistados que citaram determinada forma de utilização; CUP = índice de concordância de uso principal; FC = fator de correção; CUP _c = CUP corrigido.....	85

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	Página
CAPÍTULO 1	
1. Localização geográfica da área dos pontos de coleta dos indivíduos de <i>Zingiber officinale</i> , no município de Alta Floresta/MT	13
2. (A) Dendrograma de dissimilaridade genética entre os 19 indivíduos de <i>Zingiber officinale</i> , obtido pelo método UPGMA e complemento aritmético do índice de Jaccard como medida de dissimilaridade. (B) Agrupamento dos 19 indivíduos de <i>Zingiber officinale</i> segundo bases moleculares com nove (9) <i>primers</i> ISSR utilizando a análise bayesiana. Os indivíduos estão representados por barras verticais com coloração de acordo com o grupo ao qual pertencem (dois grupos, K = 2). (C) Localização geográfica dos genótipos de <i>Zingiber officinale</i> avaliados neste estudo	22
3. Dispersão gráfica a partir da análise das coordenadas principais dos 19 indivíduos de <i>Zingiber officinale</i> coletados em quintais urbanos e rurais de Alta Floresta, MT.....	23
CAPÍTULO 2	
1. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) de sementes da alface submetidas a diferentes concentrações de extratos aquosos tipo Infuso (A e B) e Decocto (C e D) de gengibre.	39
2. Distribuição da frequência relativa de germinação de sementes sob ação de diferentes concentrações dos extratos aquosos (infuso e decocto) de gengibre. (C = concentração, TMG= tempo médio de germinação e %G = percentual de germinação).....	42
CAPÍTULO 3	
1. Localização geográfica do município de Alta Floresta, onde o experimento foi realizado	54

2.	Teste <i>Allium cepa</i> . Limpeza dos bulbos (A), tratamento descontínuo: pré-enraizamento (B), extratos aquosos e hidroalcoólico (C), manutenção do experimento em câmara de germinação do tipo B.O.D. (D).....	56
3.	Crescimento das raízes após exposição a diferentes concentrações (mg mL ⁻¹) de extratos de <i>Zingiber officinale</i> . Extrato aquoso do tipo infuso (A), do tipo decocto (B) e extrato hidroalcoólico (C).....	59
4.	Comprimento do sistema radicular (CSR) de bulbos de <i>Allium cepa</i> expostos ao extrato aquoso do tipo infuso (A), decocto (B) e extrato hidroalcoólico (C). A linha tracejada representa a média do CSR do controle positivo e \bar{x} , o erro padrão da média.	61
5.	Fases do ciclo celular observadas em células meristemáticas radiculares de <i>Allium cepa</i> (400x) submetidas a diferentes concentrações e extratos de <i>Zingiber officinale</i> . Intérfase – Decocto 6,25 mg mL ⁻¹ (A), prófases e telófase – Infuso 6,25 mg mL ⁻¹ (B), metáfase – Infuso 12,5 mg mL ⁻¹ (C), anáfase – Decocto 12,5 mg mL ⁻¹ (D), telófase – Infuso 25 mg mL ⁻¹ (E), anáfase com ponte cromossômica e metáfase irregular – Hidroalcoólico 2 mg mL ⁻¹ (F). P = prófase; T = Telófase; A.P.= Anáfase com ponte cromossômica; M.I. = Metáfase irregular; Barra = 4,58 μ m	63
6.	Índice mitótico das células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> expostas aos extratos aquosos do tipo infuso e decocto (A e B, respectivamente) e extrato hidroalcoólico (C). A linha tracejada representa a média do CSR do controle positivo e \bar{x} , o erro padrão da média.	66

CAPÍTULO 4

1.	Localização geográfica do município de Alta Floresta e das comunidades escolares participantes da pesquisa.....	78
2.	Distribuição dos alunos entrevistados, segundo o sexo, a idade, a escolaridade e o estado civil. F = Feminino; M = Masculino; EM = Ensino Médio; EF = Ensino Fundamental; ST = Solteiro; CS = Casado;	

AS = Amasiado; UE = União Estável; NM = Namorando; DV = Divorciado; NR = Não Responderam.....	81
3. Classificação das respostas quanto ao conhecimento sobre o <i>Zingiber officinale</i>	81
4. Distribuição dos entrevistados de acordo com: (A) sexo, estado civil e idade. (B) naturalidade. F = Feminino; M = Masculino; ST = Solteiro; CS = Casado; VV = Viúvo; UE/AS = União Estável/Amasiado; MT = Mato Grosso; PR = Paraná; MS = Mato Grosso do Sul; GO = Goiás; ES = Espírito Santo; MG = Minas Gerais; RS = Rio Grande do Sul; PA = Pará; AL = Alagoas.....	82
5. Distribuição dos entrevistados quanto ao: (A) bairro do município de Alta Floresta em que residem e (B) tempo de residência no mesmo. J.U. = Jardim Universitário; M.L. = Mirante dos Lagos; J.O. = Jardim das Oliveiras; J.P. = Jardim das Primaveras; J.R. = Jardim Renascer; J.T.: Jardim Tropical; P.O. Parque dos Oitis; B.E. = Boa Esperança; J.F. = Jardim das Flores; G. = Guaraná; V.N.=Vila Nova; B.P. = Bom Pastor; C.A. = Cidade Alta; C.B. = Cidade Bela; B.J. = Bom Jardim ...	83

LISTA DE ABREVIATURAS

°C temperatura em graus Celsius

µL microlitro

g grama

h hora

mg miligrama

ml mililitros

mm milímetro

m/v massa por volume

ng nanograma

nm nanômetro

rpm rotações por minuto

V volts

v/v volume/volume

LISTA DE SIGLAS

- AFLP** Amplified Fragment Length Polymorphism
- AMOVA** Análise de Variância Molecular
- ANOVA** Análise de Variância
- B.O.D** Biochemical Oxygen Demand
- CETAM** Centro de Tecnologia da Amazônia Meridional
- CV** Coeficiente de Variação
- DIC** Delineamento Inteiramente Casualizado
- EMBRAPA** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- GPS** Global Positioning System
- HCl** Ácido Clorídrico
- IBGE** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ICU** Índice de Concordância de Uso
- IPCS** International Programme on Chemical Safety
- ISSR** Inter Simple Sequence Repeats
- KCl** Cloreto de Potássio
- MgCl₂** Cloreto de Magnésio
- OMS** Organização Mundial de Saúde
- PCR** Polymerase Chain Reaction
- PPGBioAgro** Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos
- R²** Coeficiente de Determinação
- RAPD** Random Amplified Polymorphic DNA
- UBC** University of British Columbia
- UNEMAT** Universidade do Estado de Mato Grosso
- UNEP** United Nations Environment Programme
- UPGMA** Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages

RESUMO

CARDOSO, Elisa dos Santos. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Janeiro de 2018. **Caracterização molecular, efeito alelopático, citotóxico e utilização de *Zingiber officinale* Roscoe**. Orientadora: Ana Aparecida Bandini Rossi.

O *Zingiber officinale* Roscoe, Zingiberaceae, conhecido popularmente como gengibre, é utilizado mundialmente como condimento e fitoterápico e, atualmente, tem sido utilizado em pesquisas para desenvolvimento de medicamentos para tratamento de câncer. Este estudo teve como objetivo realizar a caracterização molecular de 19 indivíduos de *Z. officinale* coletados em Alta Floresta, MT, avaliar o efeito alelopático e citotóxico da espécie e realizar um levantamento do conhecimento e usos de *Z. officinale* pelos moradores do município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. Para avaliação da diversidade genética foram utilizados 9 *primers* ISSR que amplificaram 78 fragmentos, revelando 85,08% de polimorfismo. Os valores de dissimilaridade genética variaram entre 0,3208 e 0,8056. Os agrupamentos pelo método UPGMA e pela análise bayesiana foram concordantes e dividiram os indivíduos em dois grupos distintos. Os índices de diversidade de Nei (*He*) e de Shannon (*I*) demonstraram a existência de variabilidade genética dentro dos grupos e a AMOVA indicou que a maior diversidade genética está presente dentro dos grupos (53,06%). O estudo de alelopatia utilizou a *Lactuca sativa* L. como organismo teste e foi realizado com extratos aquosos do tipo infuso e decocto, com cinco concentrações distintas, e um controle negativo. Os extratos avaliados não interferiram significativamente sobre o percentual de germinação, contudo afetaram negativamente o vigor da semente, sendo que o decocto teve um efeito mais acentuado. As avaliações de citotoxicidade e genotoxicidade foram realizadas a partir do teste *Allium cepa* L., considerando o comprimento das raízes, o índice mitótico e a frequência de aberrações cromossômicas. Foram utilizados extratos aquoso (infuso e decocto) e hidroalcoólico, em cinco concentrações diferentes, um controle negativo (água destilada) e um controle positivo (glifosato 1%). Todos os extratos testados afetaram o ciclo celular de *A. cepa*, promovendo redução no comprimento das raízes e no índice mitótico. Os resultados diferiram entre os extratos e entre as concentrações de um mesmo

extrato, sendo o extrato hidroalcoólico o que apresentou maior potencial antiproliferativo. Não foram observadas aberrações cromossômicas significativas. O levantamento do uso de *Z. officinale* como fitoterápico foi obtido por meio de entrevistas estruturadas e semiestruturadas realizadas com 51 famílias do município de Alta Floresta, MT, quando foram registradas informações socioeconômicas e o conhecimento relacionado à espécie. Todos os representantes das famílias entrevistadas declararam conhecer e utilizar o *Z. officinale*, embora apenas 39,11% o possuam plantado em sua propriedade. Foram descritas 19 formas de utilização de *Z. officinale*, sendo o tratamento de gripe, infecção de garganta e a utilização como tempero as formas com maior índice de concordância (CUPc = 53%, 51%, 43%, respectivamente) entre os entrevistados. Os resultados desse estudo indicam que a espécie *Z. officinale* é promissora para pesquisas voltadas à produção de medicamentos utilizados na prevenção e tratamento de tumores, possui potencial para produção de bioherbicidas e biofertilizantes e a diversidade genética pode ser utilizada na composição de uma coleção ativa de germoplasma.

Palavras-chave: Fitoterapia, gengibre, ISSR, diversidade genética, citogenotoxicidade, conhecimento tradicional.

ABSTRACT

CARDOSO, Elisa dos Santos. M.Sc. State University of Mato Grosso, January 2018. **Molecular characterization, allelopathic and cytotoxic effects, and use of *Zingiber officinale* Roscoe.** Advisor: Ana Aparecida Bandini Rossi.

Zingiber officinale Roscoe, Zingiberaceae, known colloquially as ginger, is utilized worldwide as a condiment and in herbal medicine. It has also been the subject of research for the development of cancer treatment medicines. This study aimed to perform molecular characterization for 19 individuals of *Z. officinale* collected in the municipality of Alta Floresta, Mato Grosso state, Brazil. Additionally, the study aimed to evaluate the allelopathic and cytotoxic effects of the species, and to survey local knowledge and uses of *Z. officinale* amongst residents of Alta Floresta. To evaluate genetic diversity, 9 ISSR primers were used to amplify 78 fragments, revealing 85.08% polymorphism. The genetic dissimilarity values varied between 0.3208 to 0.8056. UPGMA method clusters and Bayesian analysis both divided the individuals into two distinct groups. The Nei (H_e) and Shannon (I) diversity indices demonstrated the existence of genetic variability within the groups, and the AMOVA indicated that genetic diversity was highest within the groups (53.06%). The allelopathy study utilized *Lactuca sativa* L. as test organism, and was realized using infused and decoct aqueous extracts, in five different concentrations, with a negative control. The extracts did not significantly affect germination rates, however they negatively affected seed vigor, with the decoct extract having the greatest effect. The cytotoxicity and genotoxicity evaluations were realized using the *Allium cepa* test, measuring root lengths, mitotic index and the frequency of chromosomal aberrations. Infused and decoct aqueous, and hydroalcoholic extracts were used, in five different concentrations, along with a negative control (distilled water) and a positive control (1% glyphosate). All extracts tested affected the cell cycle of *A. cepa*, causing reduced root lengths and a lower mitotic index. The results varied between the extracts and between concentrations of the same extract, with the hydroalcoholic extract presenting the greatest antiproliferative potential. No significant chromosomal aberrations were observed. The survey on *Z. officinale* use was undertaken through structured and semi-structured interviews with 51 families in the municipality of Alta Floresta, Mato Grosso, gathering socio-

economic information and surveying knowledge relating to the species. All representatives of the families interviewed declared to know and use *Z. officinale*, although just 39.21% cultivated the species themselves. Respondents described 19 different uses of *Z. officinale*, with treatment of colds and flus (53%), throat infections (51%), and culinary use (43%) representing the uses encountered with greatest frequency. The results of this study suggest *Z. officinale* shows promise as the subject of medical research into the prevention and treatment of tumours, in addition to potential in the production of bio-herbicides and fertilizers and genetic diversity can be used in the composition of an active germplasm collection.

Keywords: Herbal medicine, ginger, ISSR, genetic diversity, cytogenotoxicity, traditional knowledge.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A espécie *Zingiber officinale* foi descrita por William Roscoe em 1807 e pertence à família Zingiberaceae M., que atualmente comporta em torno de 53 gêneros e 1587 espécies (ROSCOE, 1807; The Plant List, 2013; MOBOT, 2017). O gênero *Zingiber* B., por sua vez, apresenta aproximadamente 144 espécies (The Plant List, 2013). Originário do sudeste da Ásia e cultivado em regiões tropicais, o gengibre chegou ao Brasil ainda no século XVI onde hoje é cultivado, para comércio nacional e internacional, principalmente nas regiões litorâneas do Paraná, Santa Catarina, Espírito Santo e região sul de São Paulo (PALHARIN et al., 2008; SOUSA, L.S. et al., 2013; SILVA et al., 2017), enquanto que nas demais regiões a produção destina-se ao consumo próprio ou comércio local.

Z. officinale é uma monocotiledônea herbácea, com flores hermafroditas e altas taxas de infertilidade cuja propagação é exclusivamente vegetativa, a partir do rizoma (PALHARIN et al., 2008). A ausência da recombinação gênica no processo de reprodução assexuada limita a variabilidade genética, contudo esta é garantida por meio da mutação, enquanto que pressões seletivas possibilitam a seleção de genótipos adaptados ao ambiente em que estão inseridos, o que pode resultar na origem de variedades de uma mesma espécie ou até mesmo de uma nova espécie (VEASEY et al., 2011). O cultivo destas variedades e/ou espécies por pequenos produtores e mantenedores de quintais urbanos ou rurais possibilitam a conservação de uma grande diversidade genética (SANTONIERI; BUSTAMANTE, 2016).

A avaliação da diversidade genética pode ser realizada por meio de diferentes métodos, dentre os quais estão os marcadores moleculares, que não são influenciados pelo ambiente e detectam o polimorfismo a nível de DNA (GRIFFITHS et al., 2013). Dentre os marcadores moleculares utilizados está o ISSR (Inter Sequence Simple Repeats) que não exige conhecimento prévio da informação genética da sequências-alvo e apresenta alto grau de transferibilidade (BARTH et al., 2002).

O número de pesquisas relacionadas ao patrimônio genético da *Z. officinale* é escasso, estando estas concentradas em suas propriedades culinárias e medicinais, tendo em vista a utilização *in natura* da espécie, como condimento ou fitoterápico, e a exploração por indústrias farmacêuticas e de gêneros alimentícios.

A crescente demanda por tratamentos alternativos e uso de fitoterápicos naturais chama a atenção para escassez de estudos voltados para identificação de seus compostos bioativos e reflete o gradativo aumento no número de pessoas que optam por um estilo de vida mais saudável, o que também inclui consumo de alimentos cuja processo produtivo tenha minimizado ou eliminado a utilização de agroquímicos sintéticos (ALENCAR et al., 2013; FERNANDES; KARNOPP, 2014). Diante deste cenário, o uso de substâncias naturais para adubação e controle de pragas tem sido explorado tanto por produtores quanto pela comunidade acadêmica (SANTOS et al, 2013).

Os compostos bioativos podem ser utilizados na agricultura por meio da produção de fertilizantes, herbicidas e inseticidas naturais ou de técnicas de cultivo e manejo (BRASILEIRO et al., 2008; PEREIRA; CARDOSO, 2012). Dentre os compostos produzidos pelos vegetais estão os metabólitos secundários, que apresentam maior interesse para agricultura e diferem entre as espécies, entre indivíduos e em relação ao órgão em que foram sintetizados, e atuam na interação das plantas entre si e com o ambiente (DE CONTI; FRANCO, 2011; NASCIMENTO et al, 2012). A liberação destes metabólitos pode ocorrer por volatilização, lixiviação foliar, exsudação das raízes, decomposição da planta, e ainda por meio de extratos preparados pelos agricultores. Ao serem liberados no ambiente estes metabólitos podem causar efeitos positivos ou negativos sobre outros vegetais, processo este conhecido como alelopatia (FERREIRA; AQUILA, 2000; CHENG; CHENG, 2015).

Tradicionalmente o gengibre é utilizado no tratamento de problemas gastrointestinais e circulatórios, resfriados, reumatismo e artrite, entre outros, todavia estudos recentes avaliam o potencial de seus compostos bioativos para produção de medicamentos contra dores musculoesqueléticas, diabetes e câncer (KARNA et al., 2012; LIMA et al., 2014; FUZER et al., 2017; SILVA et al., 2017), bem como exploram seu potencial radioprotetor, antioxidante e antimicrobiano (ALI et al., 2008; BALIGA et al., 2012; SOUSA et al., 2013).

Usualmente, o consumo de fitoterápicos segue a sabedoria popular, utilizando receitas e metodologias que são passadas de geração para geração. Todavia, as plantas produzem uma diversidade de substâncias químicas que atuam na sua proteção, mas que podem interferir no metabolismo humano (CAMPOS et al., 2016). Dessa forma, para que esses medicamentos sejam

utilizados corretamente e com segurança, faz-se necessária a avaliação do seu potencial citotóxico e de como a posologia e preparo inadequado podem interferir no teor dos compostos bioativos extraídos e, conseqüentemente, em sua eficácia como fitoterápico.

Existem diferentes testes que podem indicar o potencial citotóxico de uma planta, dentre os quais, está o teste *Allium cepa* L., uma forma simples e eficaz de identificar como a metodologia de preparo e a concentração de extratos de plantas medicinais podem produzir resultados adversos como inibir ou estimular o processo de divisão celular e alterações genéticas (SILVA et al., 2015). O teste *A. cepa* é validado pelo International Programme on Chemical Safety (IPCS, OMS) e pelo United Nations Environment Programme (UNEP) e os resultados por ele obtidos são indicativos de resultados semelhantes em humanos ou outros animais (CABRERA; RODRIGUES, 1999; BAGATINI et al., 2007).

A identificação do potencial citotóxico de uma planta medicinal é essencial para orientação quanto à forma correta de consumo, mas também para pesquisas destinada à produção de medicamentos que, por exemplo, combatam o câncer (MORAES et al., 2011).

Os recursos vegetais são explorados para fins medicinais há milhares de anos, sendo que os conhecimentos produzidos ao longo desse tempo, em sua maioria, foram transmitidos oralmente, no núcleo familiar e/ou comunitário (LEITE et al., 2015). O registro científico desse conhecimento é essencial para a preservação do conhecimento tradicional e também como fonte de informação para estudos que visem o registro e notificação de produtos fitoterápicos.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi realizar a caracterização molecular de indivíduos de *Z. officinale* coletados em Alta Floresta, Mato Grosso, contribuindo para pesquisas e projetos voltados para conservação e melhoramento genético da espécie, avaliar o efeito alelopático e citotóxico de *Z. officinale*, apontando seu potencial para produção de medicamentos, bioherbicidas e biofertilizantes, e realizar um levantamento, em Alta Floresta, MT, quanto a utilização da espécie como fitoterápico e aos conhecimentos tradicionais a ela relacionados.

A presente dissertação está organizada em quatro capítulos:

O primeiro capítulo aborda a diversidade genética de indivíduos de *Z. officinale* cultivados em quintais urbanos e rurais de Alta Floresta, Mato Grosso.

O segundo capítulo discute o potencial alelopático de extratos aquosos de *Z. officinale* sobre a germinação e desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa*.

O terceiro capítulo explora a toxicidade de extratos aquosos e hidroalcoólico de *Z. officinale* sobre o ciclo celular de *A. cepa* e o seu potencial para prevenção e tratamento de câncer e outras doenças.

O quarto capítulo discorre sobre o conhecimento e a utilização de *Z. officinale* por moradores de Alta Floresta, MT, e a importância do conhecimento tradicional.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, G.V.; MENDONÇA, E.S.; OLIVEIRA, T.S.; JUCKSCH, I.; CECON, P.R. Percepção ambiental e uso do solo por agricultores de sistemas orgânicos e convencionais na Chapada da Ibiapaba, Ceará. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.51, n.2, p.217-236, 2013. DOI: 10.1590/S0103-20032013000200001.

ALI, B.H.; BLUNDEN, G.; TANIRA, M.O.; NEMMAR, A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.409-420, 2008. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.085.

BAGATINI, M.D.; SILVA, A.C.F.; TEDESCO, S.B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.444-447, 2007. DOI: 10.1590/S0102-695X2007000300019.

BALIGA, M.S.; HANIADKA, R.; PEREIRA, M.M.; THILAKCHAN, K.R.; RAO, S.; ARORA, R. Radioprotective effects of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger): past, present and future. **Food & Function**. v.3, n.7, p.714-723, 2012. DOI: 10.1039/c2fo10225k.

BARTH, S.; MELCHINGER, E.; LÜBBERSTEDT, T.H. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. Investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, v.11, n.3, p.495-505, 2002. DOI: 10.1046/j.0962-1083.2002.01466.x.

BRASILEIRO, B.G.; PIZZILO, V.R.; MATOS, D.S.; GERMANO, A.M.; JAMAL, C.M. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no "Programa de Saúde da Família". **Revista Brasileira de Ciências Farmacêutica**, v.44, n.4, p.629-636, 2008. DOI: 10.1590/S1516-93322008000400009.

CABRERA, G.L.; RODRIGUES, D.M.G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research**, v.426, n.2, p.211-214, 1999. DOI: 10.1016/S0027-5107(99)00068-8.

CAMPOS, S.C.; SILVA, C.G.; CAMPANA, P.R.V.; ALMEIDA, V.L. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, supl.1, p.373-382, 2016. DOI: 10.1590/1983-084X/15_057.

CHENG, F.; CHENG, Z. Research progresso on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. **Frontiers in Plant Science**, v.6, p.1-16, 2015. DOI:10.3389/fpls.2015.01020.

DE CONTI, D.; FRANCO, E.T.H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Casearia sylvestris* Sw. na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.17, n.2-4, p.193-203, 2011. DOI: 10.18539/cast.v17i2.2049.

FERNANDES, D.M.M; KARNOPP, E. A agricultura familiar e a cadeia produtiva de alimentos orgânicos: conquistas. **Revista de Desenvolvimento Econômico**, v.16, n.29, p 130-137, 2014.

FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n.1, p.175-204, 2000.

FUZER, A.M.; LEE, S-Y.; MOTT, J.D.; COMINETTI, M.R. [10] - gingerol reverts malignant phenotype of breast cancer cells in 3D culture. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.118, n.9, p.2693-2699, 2017. DOI: 10.1002/jcb.25906.

GRIFFITHS, A.J.F.; LEWONTIN, R.C.; CARROLL, S.B.; WESSLER, S.R. **Introdução à Genética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 10ª ed., 2013. 736p.

KARNA, P.; CHAGANI, S.; GUNDALA, S.R.; RIDA, P.C.G.; ASIF, G.; SHARMA, V.; GUPTA, M.V.; ANEJA, R. Benefits of whole ginger extract in prostate cancer. **British Journal of Nutrition**, v.107, n.4, p.473-484, 2012. DOI: 10.1017/S0007114511003308.

LEITE, I.A.; MORAIS, A.M.; Ó, K.D.S.; CARNEIRO, R.G., LEITE, C.A. A etnobotânica de plantas medicinais no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. **Biodiversidade**, v.14, n.1, p.22-30, 2015.

LIMA, A.; SILVA, L.S.; CAVALCANTE, N.A.A.; CAMPOS, T.F.G.M. Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), propriedades bioativas e seu possível efeito no diabetes tipo 2: estudo de revisão. **Saúde em Foco**, v.1, n.2, p.15-25, 2014.

MORAES, L.G.; ALONSO, A.M.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. Plantas medicinais no tratamento do câncer: uma breve revisão de literatura. **Universitas: Ciências da Saúde**, v.9, n.1, p.77-99, 2011. DOI: 10.5102/ucs.v9i1.1308.

NASCIMENTO, I.L.; PEREIRA, M.F.S.; LINHARES, P.C.F.; MARACAJÁ, P.B.; TORRES, S.B.; RIBEIRO, M.C.C. Influência de partes vegetais de *Tamarindus indica* L. como efeito alelopático na germinação da alface. **Revista Agropecuária Científica do Semi-Árido**, v.8, n.4, p.97-101, 2012.

PALHARIN, L.H.C.; FIGUEIREDO NETO, E.; LOPES, M.P.C.; BOSQUÊ, G.G. Estudo sobre o gengibre na medicina popular. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v.7, n.14. p.1-4, 2008.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, n.4, p.146-152, 2012.

ROSCOE, W. A new arrangement of the plants of the Monandrian class usually called Scitaminae. **The transactions of the Linnean Society of London**, v.8, p.347-357, 1807. DOI: 10.1111/j.1096-3642.1807.tb00321.x.

SANTONIERI, L.; BUSTAMANTE, P.G. Conservação *ex situ* e *on farm* de recursos genéticos: desafios para promover sinergias e complementaridades. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v.11, n.3, p.677-690, 2016. DOI: 10.1590/1981.81222016000300008.

SANTOS, P.L.; PRANDO, M.B.; MORANDO, R.; PEREIRA, G.V.N.; KRONKA, A.Z. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.17, p.2562-2576, 2013.

SILVA, F.D.B.; SALES, M.A.G.; SÁ, O.R.M.; SANTANA, G.M.; DEUS, M.S.M.; CASTRO E SOUSA, J.M.C.; FERREIRA, P.M.P.; PERON, A.P. Potencial citotóxico, genotóxico e citoprotetor de extratos aquosos de *Caesalpinia pyramidalis* Tul., *Caesalpinia ferrea* Mart., e *Caesalpinia pulcherrima* Sw.. **Revista Brasileira de Biociências**, v.13, n.2, p.101-109, 2015.

SILVA, A.S.P.; SANTOS, F.K.; ALMEIDA, J.R.G.A.; REIS, S.A.G.B.; ROLIM, L.A. Prospecção tecnológica do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe utilizado no tratamento da dor musculoesquelética. **Cadernos de Prospecção**, v.10, n.1, p.3-13, 2017. DOI: doi.org/10.9771/cp.v10i1.16304.

SOUSA, L.S.; SILVA, Í.R.C.; ASSIS, D.J.; PASCOAL, D.R.C.; DRUZIAN, J.I. Estudo prospectivo sobre as propriedades terapêuticas do *Zingiber officinale* (gingibre) com ênfase na ação antimicrobiana. **GEINTEC**, v.3, n.5, p.427-436, 2013. DOI: 10.7198/geintec.v3i5.332.

VEASEY, E.A.; PIOTTO, F.A.; NASCIMENTO, W.F.; RODRIGUES, J.F.; MEZETTE, T.F.; BORGES, A.; BIGUZZI, F.A.; SANTOS, F.R.C.; SOBIERAJSKI, G.R.; RECCHIA, G.H.; MISTRO, G.R. Processos evolutivos e a origem das plantas cultivadas. **Ciência Rural**, v.41, n.7, p.1218-1228, 2011. DOI: 10.1590/S0103-84782011000700018.

ZINGIBERACEAE. **MOBOT.** Disponível em:
<http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/orders/zingiberalesweb.htm#Zingiberaceae>. Acesso em: 18 out 2017.

ZINGIBERACEAE. **The plant list.** Disponível em:
<http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Zingiberaceae/>. Acesso em: 18 out 2017.

3. CAPÍTULOS

3.1. DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Zingiber officinale* ROSCOE CULTIVADO EM QUINTAIS URBANOS E RURAIS DE ALTA FLORESTA/MT

Resumo – (Diversidade genética de *Zingiber officinale* Roscoe cultivados em quintais urbanos e rurais de Alta Floresta/MT). O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) é autoincompatível e possui alta taxa de infertilidade, de modo que sua diversidade genética é oriunda apenas dos processos de mutação e seleção natural. A importância do gengibre como condimento e fitoterápico, implica na necessidade de conhecer a sua diversidade, contribuindo tanto para sua conservação quanto para utilização em programas de melhoramento. Sendo assim, este estudo objetivou avaliar, por meio de marcadores moleculares ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) a diversidade genética entre 19 indivíduos de gengibre coletados em Alta Floresta, Mato Grosso. Para extração do DNA total, utilizou-se o protocolo CTAB e as amplificações foram feitas via PCR utilizando 9 *primers* ISSR. O método de agrupamento UPGMA e a análise bayesiana definiram 2 grupos distintos. Os 9 *primers* ISSR utilizados amplificaram um total de 78 fragmentos, revelando 85,08% de polimorfismo. O PIC variou entre 0,10 e 0,52, com média de 0,38, sendo classificados como medianos na detecção de polimorfismo. Os indivíduos mais dissimilares foram o 6 e o 12, enquanto que os menos dissimilares foram o 6 e o 4. Os índices de diversidade de Nei (*He*) e de Shannon (*I*) demonstraram a existência de variabilidade genética dentro dos grupos e a AMOVA indicou que a diversidade genética foi maior dentro dos grupos (53,06%) do que entre eles (46,94%). A ausência de duplicatas entre os indivíduos analisados indica que estes podem ser utilizados para formação de coleções de germoplasma que tenham por objetivo a manutenção da diversidade e o melhoramento genético da espécie.

Palavras-chave: Caracterização molecular, ISSR, propagação vegetativa

Abstract – (Genetic diversity of *Zingiber officinale* Roscoe cultivated in urban and rural yards in Alta Floresta, Mato Grosso, Brazil). Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) is self-incompatible and possesses high infertility rates, such that genetic diversity is derived only from mutation processes and natural selection. Given the importance of ginger in herbal medicine and as a condiment, it is necessary to map its diversity for the purposes of conservation and breeding programs. To that end, this study aims to evaluate the genetic diversity of 19 ginger plants collected in Alta Floresta, Mato Grosso using ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) molecular markers. The CTAB protocol was used to extract DNA, and amplifications were made via PCR using 9 ISSR primers. The UPGMA clustering method and Bayesian analysis defined 2 distinct groups. The 9 ISSR primers amplified 78 fragments, revealing 85.08% polymorphism. The PIC varied from 0.10 to 0.52, (mean = 0.38), classified as medium in detection of polymorphism. The most dissimilar individuals were nr. 6 and nr. 12, while the least dissimilar individuals were nr. 6 and nr. 4. The diversity indices of Nei (*He*) and Shannon (*I*) demonstrated the existence of genetic variability within the groups and the AMOVA indicated that genetic diversity was greater within the groups (53.06%) than between the groups (46.94%). The absence of duplicates between analyzed individuals indicate they could be used in the formation of an active collections of germplasm with the objective of diversity maintenance and genetic improvement of the species.

Keywords: Molecular characterization, ISSR, vegetative propagation.

Introdução

O *Zingiber officinale* Roscoe, popularmente conhecido como gengibre, apresenta propriedades culinárias e medicinais, sendo que no Brasil é cultivado comercialmente apenas nos estados de São Paulo, Espírito Santo, Paraná e Santa Catarina (PALHARIN et al., 2008; SOUSA et al., 2013; SILVA et al., 2017).

As principais variedades de *Z. officinale* cultivadas no Brasil são a havaiana, jamaicana, takahashi, IAC, gigante chinesa e gigante japonesa, sendo as duas últimas as mais comuns em plantios destinados à exportação (ELPO, 2008). Todavia, a variedade cultivada para consumo próprio, em quintais urbanos ou rurais, ou para comércio local, é geralmente desconhecida, sendo denominada apenas de gengibre.

A ampla utilização de *Z. officinale* como condimento, a crescente utilização como fitoterápico tradicional e a exploração pela indústria farmacêutica incentivam os estudos relacionados à espécie. Todavia, estes estudos concentram-se nas propriedades culinárias e medicinais, havendo poucas informações relacionadas ao patrimônio genético da espécie, sua caracterização e variabilidade.

O *Z. officinale* surgiu na Ásia e foi distribuído para vários países por meio da propagação vegetativa, uma vez que a espécie não produz sementes (MAGALHÃES et al., 1997; ADANIYA; SHODA, 1998a). É uma planta herbácea, perene, com flores zigomorfas e monoclinas. A espécie é diploide ($2n = 2x = 22$), classificada como autoincompatível, com altas taxas de infertilidade e propagação exclusivamente vegetativa, de modo que a sua variabilidade genética seja oriunda, especialmente, dos processos de mutação aleatória e seleção natural (ADANIYA; SHODA, 1998a; RAVINDRAN; NIRMAL BABU, 2005; ZAMBRANO-BLANCO et al, 2016). A esterilidade do *Z. officinale* pode estar relacionada a irregularidades meióticas, a fertilidade e a germinação do grão de pólen sobre o estigma, sendo esta influenciada pelas condições ambientais (RAMACHANDRAN, 1969, 1982; ADANIYA; SHODA, 1998a; ADANIYA; SHODA, 1998b).

Espécies que se reproduzem assexuadamente, como o *Z. officinale*, tendem a manter a constituição genética ao longo das gerações (XAVIER et al.,

2013), contudo, ao serem cultivadas em diferentes regiões possibilitam a seleção de genótipos distintos, adaptados às condições ambientais locais e originados a partir de mutações naturais ocorridas ao longo da sua história evolutiva. Dessa forma, o cultivo destas espécies em pequena escala e em pequenas propriedades caracteriza-se como um sistema de conservação *on farm*¹ da diversidade, além de, através das técnicas de manejo e uso, contribuir para diversificação dos recursos genéticos (SANTONIERI; BUSTAMANTE, 2016).

A caracterização e avaliação do material genético de *Z. officinale* cultivado em quintais urbanos ou rurais, possibilita a identificação e seleção de genótipos que possam compor as coleções de germoplasma, garantindo a conservação da diversidade da espécie e, a partir da identificação de características úteis ao homem, a exploração em programas de melhoramento genético.

A caracterização e avaliação da diversidade genética é comumente realizada por meio de marcadores morfológicos, fisiológicos e moleculares. Os diferentes tipos de marcadores moleculares, enzimáticos ou baseados em ácidos nucleicos, distinguem-se, especialmente, pela tecnologia utilizada, pelo poder de resolução e aplicabilidade. A caracterização molecular, baseada em ácidos nucleicos é uma ferramenta rápida e eficaz, não é influenciada pelo ambiente e identifica o polimorfismo diretamente no nível do DNA. (BERED et al., 1997; ZAMBRANO-BLANCO et al, 2016).

Estudos sobre a diversidade genética de *Z. officinale* já foram realizados com a utilização de marcadores dominantes como RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) e ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), indicando que, mesmo sendo uma espécie de propagação vegetativa, apresenta variabilidade genética tanto intra quanto interpopulacional (NAYAK et al., 2005; PANDOTRA et al., 2013a; PANDOTRA et al., 2013b; GHOSH et al.; 2015; ZAMBRANO-BLANCO et al, 2016; ISMAIL et al., 2016).

¹ É uma estratégia complementar à conservação *in situ*. Envolve recursos genéticos cultivados pelas comunidades locais e populações indígenas, detentoras tanto de grande diversidade de recursos genéticos quanto de amplo conhecimento sobre os mesmos, promovendo a seleção e o melhoramento de espécies nativas e exóticas (COSTA et al., 2012).

Diante do exposto, este estudo objetivou analisar a diversidade genética entre indivíduos de *Z. officinale* cultivados em quintais urbanos e rurais do município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil, por meio de marcadores moleculares ISSR.

Material e Métodos

Área de Estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular, do CETAM (Centro de Tecnologia da Amazônia Meridional) na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, MT.

O material vegetal foliar foi coletado no município de Alta Floresta, localizado no norte do Estado de Mato Grosso (Figura 1).

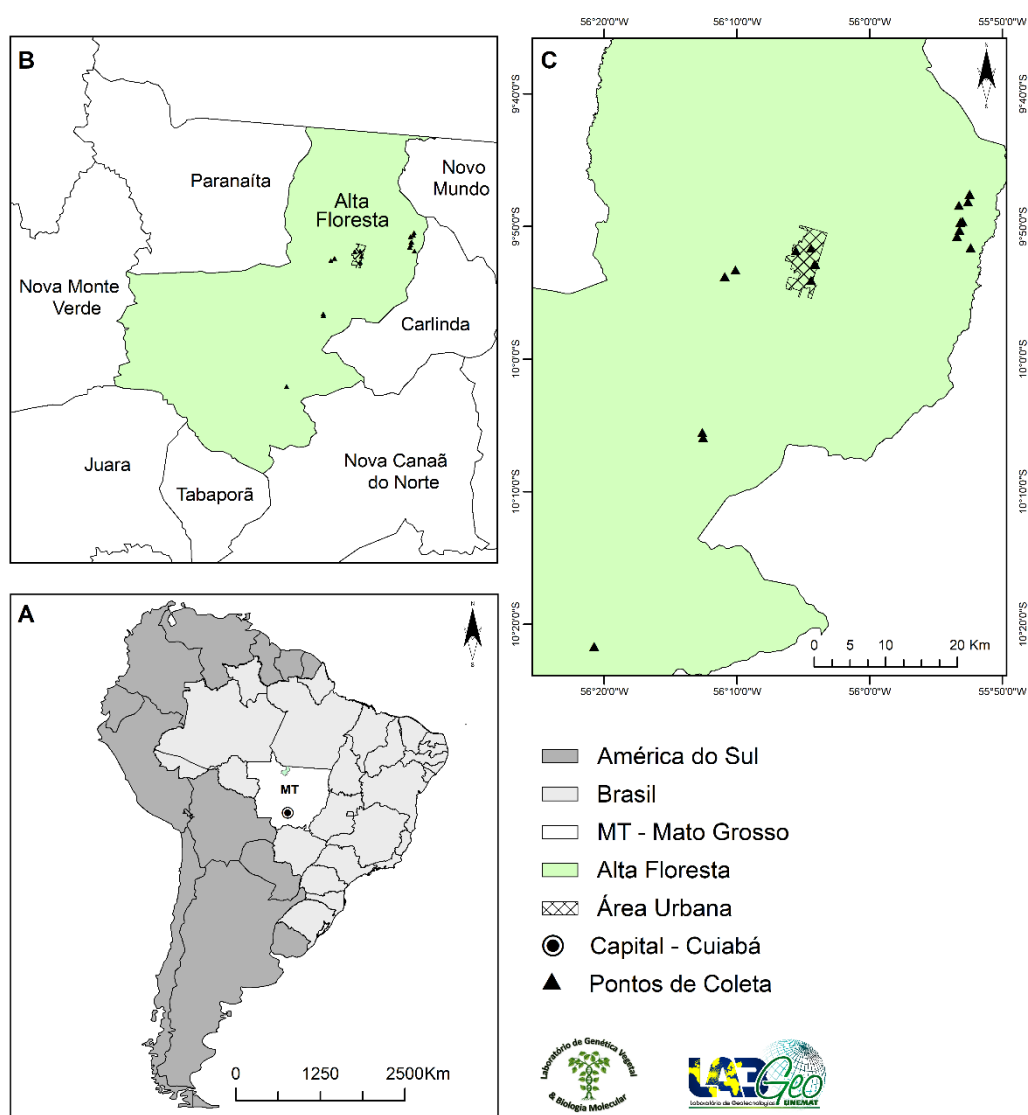


Figura 1. Localização geográfica da área dos pontos de coleta dos indivíduos de *Zingiber officinale*, no município de Alta Floresta/MT.

O material foi coletado em quintais urbanos e rurais, onde o mesmo é cultivado para consumo próprio, sendo amostrados 19 indivíduos.

O clima de Alta Floresta é classificado como do tipo Am (tropical úmido ou subúmido), com temperatura média superior à 24 °C e precipitação de 2800 a 3100 mm (ALVARES et al., 2013).

Coleta do Material Vegetal

Para coleta do material vegetal foram selecionadas, preferencialmente, folhas jovens sem sinais de danos ou doenças. O material foliar coletado foi acondicionado em envelope de papel alumínio, identificado, armazenado em gelo e transportado para o Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do Campus da UNEMAT em Alta Floresta.

O material vegetal foi lavado em água corrente, seco com auxílio de papel toalha e armazenado a -20 °C até o uso.

Os quintais, urbanos ou rurais, em que foram coletados os indivíduos de *Z. officinale*, foram georreferenciados com auxílio de GPS (Global System Position).

Extração e Quantificação de DNA

A extração do DNA total seguiu o protocolo de CTAB (Cationic Hexadecyltrimethyl Ammonium Bromide) descrito por Doyle e Doyle (1987), com algumas modificações como acréscimo de 2% de polivinilpirrolidona (PVP) e aumento de 2 para 5% e de 0,2 para 2% nas concentrações de CTAB e β -mercaptoetanol, respectivamente, no tampão de extração.

Aproximadamente 100 mg de material vegetal foliar foram triturados, em almofariz e pistilo de porcelana, na presença de nitrogênio líquido. O material triturado foi transferido para microtubos de 2 mL onde foram adicionados 800 μ L de tampão de extração CTAB (100 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1,4 M cloreto de sódio; 20 mM EDTA; 5% CTAB; 2% polivinilpirrolidona (PVP) e 2% β -mercaptoetanol). Após adição do CTAB, o material foi homogeneizado em agitador vortex Kasvi e incubado, em banho-maria, por 30 minutos à 65 °C, sendo realizada inversão manual após 15 minutos.

Após o período de incubação os tubos foram centrifugados por 10 min a 12.000 rpm em microcentrífuga Novatecnica (NT 800), promovendo a separação do material em duas fases, sendo o sobrenadante (fase aquosa) transferido para microtubo de 1,5 mL onde foram adicionados 700 μ L de CIA (clorofórmio: álcool isoamílico 24:1 (v/v)). A mistura foi homogeneizada em vortex

e centrifugada por 10 minutos à 12.000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo de 1,5 mL e precipitado em 500µL de álcool isopropílico gelado (-20°C) por aproximadamente 2h30min à -20°C.

Após este período, o material foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos e o *pellet* (precipitado) foi lavado duas vezes com álcool etílico a 70% (v/v) e uma vez com álcool etílico a 95% (v/v). A cada lavagem, o material era novamente centrifugado por 3 minutos à 12.000 rpm. Posteriormente o material foi seco em temperatura ambiente e o *pellet* ressuspensionado em 40 µL de TE 0,1 mM (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8,0) com 0,12 µL RNase na concentração de 10 mg/mL e a solução foi incubada em banho-maria a 35°C por 30 minutos. Posteriormente, os microtubos foram armazenados em geladeira (4°C) por 24 h e depois em freezer (-20°C).

A integridade do DNA total extraído foi verificada por meio de eletroforese em gel de agarose a 1%, preparado em tampão TBE 1X (diluído a partir da solução TBE 10X contendo: água destilada e autoclavada, 7,44g de EDTA, 55,02g de Ácido Bórico e 107,81g de Tris e em um volume total de 1000 mL) e corado com brometo de etídio (10 mg mL⁻¹).

A avaliação da eletroforese foi realizada em transiluminador com luz UVB (Loccus Biotecnologia® – LTB-STi) e o registro fotográfico realizado e editado por meio de fotodocumentador L-Pix STi (Loccus Biotecnologia®) e software L-Pix STi Image, respectivamente.

A pureza e a quantidade do DNA total foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro Thermo Scientific (NanoDrop® 2000). A quantificação foi realizada no Laboratório de Microbiologia, Biologia Molecular e Fitoquímica da Embrapa Agrossilvipastoril de Sinop, Mato Grosso, Brasil. O DNA extraído foi diluído à concentração de, aproximadamente, 5 ng µL⁻¹ e armazenado a -20 °C para posterior amplificação.

Reações de amplificação do DNA e eletroforese

Para amplificação do DNA foram testados 40 *primers* do tipo ISSR (Inter Sequence Simple Repeats), desenvolvidos pela University of British Columbia (UBC), Vancouver, Canadá. Após testes de amplificação, foram selecionados nove (9) *primers* que resultaram em maior polimorfismo e número de bandas para caracterização molecular dos 19 indivíduos (Tabela 1).

Tabela 1. Relação dos *primers* ISSR utilizados na caracterização molecular dos 19 indivíduos de *Zingiber officinale*.

Nome do <i>Primer</i>	Sequência (5' – 3')	TA (°C)
UBC 808 – Di(AG) ₈ 3'C	AGAGAGAGAGAGAGAGC	52
UBC 809 – Di(AG) ₈ 3'G	AGAGAGAGAGAGAGAGG	52
UBC 818 – Di(CA) ₈ 3'C	CACACACACACACACAG	52
UBC 826 – Di(AC) ₈ 3'G	ACACACACACACACACC	52
UBC 828 – Di(TG) ₈ 3'A	TGTGTGTGTGTGTGTGA	50
UBC 829 – Di(TG) ₈ 3'C	TGTGTGTGTGTGTGTGC	52
UBC 834 – Di(AG) ₈ 3'YT	AGAGAGAGAGAGAGAGYT*	52
UBC 835 – Di(AG) ₈ 3'YC	AGAGAGAGAGAGAGAGYC*	52
UBC 840 – Di(GA) ₈ 3'YT	GAGAGAGAGAGAGAGAYT*	50

*Y = C ou T; TA = Temperatura de Anelamento

As reações de amplificação via reação em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas em um volume final 13,5 µL, contendo 1,5 µL de tampão 10x (1M KCl; 1M Tris pH 8.3; 10% Tween 20), 1,5 µL de MgCl₂ (25 mM), 1,5 µL de *primer* (0,2 mM), 1,5 µL de dNTP (1 mM de cada dNTP), 0,5 µL de DNA (*primer* 809) ou 1,0 µL de DNA (*primers* 828 e 835) ou 2,0 µL de DNA (*primers* 808, 818, 829, 834 e 840) ou 3,0 µL de DNA (*primer* 826), 0,12 µL de Taq polimerase (5U µL⁻¹) e H₂O Mili-Q. As reações foram conduzidas em termociclador Eppendorf utilizando o programa proposto por Rocha et al. (2017), com as seguintes condições de amplificação: 94 °C por quatro minutos (desnaturação inicial), seguido de 35 ciclos de 94 °C por um minuto, temperatura de anelamento específica para cada *primer* por um minuto e 72 °C por três minutos, e finalizando com uma extensão final de 72 °C por sete minutos.

Os produtos das amplificações foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, com tampão TBE 1X, sob voltagem constante de 80V em sistema de eletroforese horizontal LCH 20x25 (Loccus Biotecnologia®). Para auxiliar a análise dos fragmentos amplificados (bandas), utilizou-se o marcador 100 pb DNA Ladder Kappa. Posteriormente os géis foram corados com brometo de etídio (0,6 µg mL⁻¹), por 20 minutos. Em seguida, os géis foram visualizados, fotografados e editados em transiluminador com luz UVB LTB-20x20 STi, fotodocumentador e software L-Pix STi, respectivamente (Loccus Biotecnologia®).

Análise Estatística

Análise dos fragmentos amplificados

A matriz de presença (1) e ausência (0) de bandas (fragmentos amplificados) foi obtida a partir de avaliação visual das bandas mais definidas para cada *primer*, nos 19 indivíduos estudados. Os marcadores ISSR são de caráter dominante, portanto assume-se que cada banda representa o fenótipo em um loco bi-alélico (WILLIAMS et al., 1990).

Diversidade Genética e Estrutura Populacional

A partir da matriz binária de presença e ausência, e por meio da fórmula 1, obteve-se o percentual de polimorfismo obtido com cada *primer* utilizado:

$$P = \frac{nbp}{ntb} \times 100 \quad (1)$$

Onde, P representa o percentual de polimorfismo do *primer*, nbp, o número de bandas polimórficas e ntb, o número total de bandas.

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) de cada *primer* foi calculado conforme proposto por Rezende et al (2009) (fórmula 2):

$$PIC_{primer} = 1 - \sum_i \cdot \sum_j P_{ij}^2 \quad (2)$$

Onde, onde P_i é a frequência do alelo “p” no loco “ p_i ” e P_{ij} é a frequência do alelo p, do loco i , no *primer* j .

A matriz de dissimilaridade genética entre cada par de indivíduos foi calculada por meio do coeficiente de Jaccard (3), que compara o número de presenças de bandas comuns e o número total de bandas envolvidas, excluindo o número de ausências conjuntas (MEYER, 2004):

$$D_{ij} = 1 - S_{ij} \quad (3)$$

onde

$$S_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

em que ‘a’ corresponde ao número de casos em que ocorre a presença da banda em ambos os indivíduos; ‘b’, ao número de casos em que ocorre a presença da banda somente no indivíduo i e ‘c’, ao número de casos em que ocorre a presença da banda somente no indivíduo j .

A análise de agrupamento através dos métodos hierárquicos UPGMA (Unweighted Pair Group Method Average), Ward e SL (Single Linkage ou Nearest

Neighbor) foi realizada a partir da matriz de dissimilaridade e a escolha do método com maior consistência de agrupamento, foi baseada no coeficiente de correlação cofenética (CCC). As análises foram realizadas utilizando o programa GENES (CRUZ, 2013).

O programa Structure (PRITCHARD et al. 2000), baseado em análise bayesiana, foi utilizado para inferir a estrutura da população, indicando grupos genéticos distintos (K) e atribuindo indivíduos a estes grupos. Foram realizadas 20 corridas para cada valor de K (K = 4), 200.000 interações iniciais (*burn-ins*) e 500.000 simulações de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC). Para definição do K mais provável em relação aos propostos foram utilizados os critérios descritos por Pritchard e Wen (2004) e Evano et al. (2005).

As relações genéticas entre todos os indivíduos avaliados foram visualizadas através da Análise de Coordenadas Principais (PCoA), obtida por distância genética, usando o programa GenAIEx (PEAKALL; SMOUSE, 2006, 2012).

Para caracterização da variabilidade genética entre os dois grupos constituídos pela análise bayesiana foi calculada a diversidade genética de Nei (*He*) (NEI, 1978), o índice de diversidade de Shannon (*H*) (LEWONTIN, 1972) e o percentual de locos polimórficos (%P) a partir da análise da matriz binária de presença e ausência, utilizando o programa POPGENE 1.32 (YEH et al., 2000). A diversidade genética entre e dentro dos grupos foi demonstrada a partir da AMOVA (Análise de Variância Molecular), de acordo com EXCOFFIER et al. (1992) e com auxílio do programa ARLEQUIN 3.01 (EXCOFFIER et al., 2007).

Resultados e Discussão

Os nove (9) *primers* ISSR utilizados amplificaram 78 fragmentos, dos quais 88,46% eram polimórficos. O número de fragmentos amplificados variou entre 3 (UBC 834) e 18 (UBC 835), com média de 8,67 por *primer* (Tabela 2).

O percentual de polimorfismo encontrado neste estudo (88,46%) confirma a variabilidade genética entre os indivíduos estudados. Resultado semelhante foi obtido por Pandotra et al. (2015), ao analisar a eficiência de marcadores moleculares na caracterização de germoplasma de *Z. officinale*, quando 7 *primers* ISSR resultaram em 86,61% de polimorfismo. Prem et al. (2008), por sua vez, ao utilizarem 13 marcadores ISSR para comparar genótipos exóticos de gengibre, obtiveram apenas 35,14% de polimorfismo.

O conteúdo de informação polimórfica de cada *primer* variou entre 0,10 (UBC 834) e 0,52 (UBC 809) (Tabela 2). Valores de PIC entre 0,25 e 0,50 são classificados como medianos (BOTSTEIN et al., 1980). Neste estudo, o PIC médio foi de 0,38 indicando que os *primers* foram moderadamente eficientes na detecção de polimorfismo da espécie. Marcadores moleculares de caráter dominante, como RAPD e ISSR, têm sido empregados na caracterização molecular de *Z. officinale* apresentando PIC moderadamente ou muito informativos (ZAMBRANO-BLANCO, 2015).

Tabela 2. *Primers* ISSR utilizados, número total de bandas amplificadas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP), porcentagem de polimorfismo (% P) e conteúdo de informação polimórfica (PIC).

<i>Primer</i>	NTB	NBP	%P	PIC
UBC 808	9	8	88,89	0,48
UBC 809	7	7	100,00	0,52
UBC 818	7	6	85,71	0,33
UBC 826	5	4	80,00	0,49
UBC 828	14	13	92,86	0,44
UBC 829	8	8	100,00	0,49
UBC 834	3	2	66,67	0,10
UBC 835	18	17	94,44	0,41
UBC 840	7	4	57,14	0,13
Total	78	69	88,46	-
Média	8,67	7,67	85,08	0,38

Os valores de dissimilaridade genética, estimados a partir do coeficiente de Jaccard, variaram entre 0,3208 e 0,8056 (Tabela 3).

Tabela 3. Matriz de dissimilaridade genética entre 19 indivíduos de *Zingiber officinale* calculada com base no complemento do coeficiente de Jaccard, utilizando 78 fragmentos ISSR.

01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
0	0,4444	0,4444	0,4167	0,5227	0,5370	0,5682	0,6731	0,6047	0,6923	0,6154	0,7586	0,6600	0,6667	0,7046	0,6429	0,6364	0,6585	0,5854	01
	0	0,4255	0,4615	0,4667	0,4909	0,5745	0,5686	0,6087	0,6415	0,5660	0,6452	0,6346	0,6383	0,6667	0,6364	0,6939	0,7174	0,5909	02
		0	0,3674	0,4318	0,5179	0,5435	0,5686	0,5778	0,6667	0,5926	0,6552	0,5800	0,5116	0,6279	0,6000	0,5778	0,5952	0,5581	03
			0	0,4694	0,3208	0,5400	0,6140	0,6539	0,6552	0,5862	0,7188	0,6491	0,6793	0,6531	0,6735	0,6793	0,5909	0,5833	04
				0	0,4400	0,4878	0,5833	0,6889	0,6863	0,6604	0,7333	0,6250	0,6279	0,7273	0,6591	0,6591	0,7143	0,6744	05
					0	0,4167	0,5357	0,7414	0,5790	0,5593	0,8056	0,6441	0,6964	0,7407	0,6800	0,6964	0,6667	0,6604	06
						0	0,5333	0,6744	0,6170	0,6471	0,7407	0,6667	0,5385	0,7442	0,6191	0,6429	0,6579	0,6585	07
							0	0,4634	0,3864	0,4694	0,5385	0,5106	0,5349	0,5610	0,4878	0,6304	0,5500	0,6136	08
								0	0,5238	0,4286	0,4167	0,5122	0,4571	0,5278	0,5676	0,5790	0,5588	0,5556	09
									0	0,3913	0,6207	0,3954	0,5238	0,5714	0,4474	0,5909	0,5385	0,5000	10
										0	0,4828	0,4130	0,5000	0,4146	0,4211	0,5652	0,5476	0,4762	11
											0	0,5000	0,5417	0,5217	0,6087	0,5833	0,4500	0,5714	12
												0	0,3947	0,3714	0,4737	0,5122	0,5263	0,4872	13
													0	0,5429	0,4286	0,4571	0,6000	0,5946	14
														0	0,4546	0,6316	0,5000	0,4375	15
															0	0,4571	0,4688	0,4688	16
																0	0,5000	0,5556	17
																	0	0,3214	18
																		0	19

As menores dissimilaridades encontradas neste estudo ocorreram entre os indivíduos 04 e 06 (0,3209), bem como entre o 18 e o 19 (0,3214), enquanto 06 e 12 foram os mais dissimilares (0,8056) (Tabela 3). Os resultados de dissimilaridade encontrados permitem inferir que existe uma considerável diversidade genética entre os indivíduos de *Z. officinale* avaliados neste estudo.

Entre os métodos de agrupamento testados (Tabela 4), foi escolhido o UPGMA por apresentar maior coeficiente de correlação cofenética (CCC), apresentando, portanto, maior consistência no padrão de agrupamentos (CRUZ; CARNEIRO, 2003). Valores de CCC superiores a 0,7 são classificados como satisfatórios (ROHLF, 1970) e indicam um bom ajuste entre a matriz de dissimilaridade (componente de Jaccard) e a matriz cofenética.

Os resultados deste estudo são concordantes com os realizados por Tiago et al. (2016) e Rocha et al. (2017) que, utilizando marcadores ISSR para estimar a diversidade genética de *Manihot esculenta* C. e *Hymenaea courbaril* L., respectivamente, obtiveram CCC maiores para o método UPGMA (0,84 e 0,75) do que para os métodos SL (0,82 e 0,72) e WARD (0,51 e 0,50). O método UPGMA frequentemente obtém os maiores valores de CCC e, conseqüentemente, menos valores de distorção, uma vez que, de acordo com Cruz e Carneiro (2003), eles são inversamente proporcionais, ou seja, quanto maior o CCC, menor a distorção.

Tabela 4. Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), estresse e distorção dos Métodos Ward, Vizinho mais Próximo (SL) e UPGMA.

	WARD	SL	UPGMA
CCC	0,7945**	0,8105**	0,8290**
Estresse (%)	-	21,063	9,495
Distorção (%)	-	34,04	0,90

**Significativo ao nível de 1% pelo teste t.

Os métodos UPGMA e SL apresentaram valores próximos de CCC, todavia, os valores de estresse confirmam a eficiência do método UPGMA, tendo em vista que valores de estresse ≥ 20 são considerados ruins, enquanto valores < 10 são considerados bons em determinar a precisão do ajuste do dendrograma (KRUSKAL, 1964).

O dendrograma gerado pelo método de agrupamento UPGMA e o ponto de corte (0,55 – 85,40%) estabelecimento pelo procedimento de Mojena

(1977) possibilitou a separação dos 19 indivíduos de *Z. officinale* em dois grupos principais (Figura 2A). O Grupo I (G1) é composto pelos indivíduos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, representando 36,8% dos 19 avaliados. Neste grupo estão os genótipos de maior similaridade (4 e 6). O Grupo II (G2) é composto por 12 genótipos (63,2%). A presença de subgrupos em G1 e G2 indica que há diversidade genética dentro dos mesmos. A análise bayesiana efetuada pelo programa Structure corrobora o resultado obtido pelo método UPGMA, formando dois grupos distintos ($k = 2$) (Figura 2B).

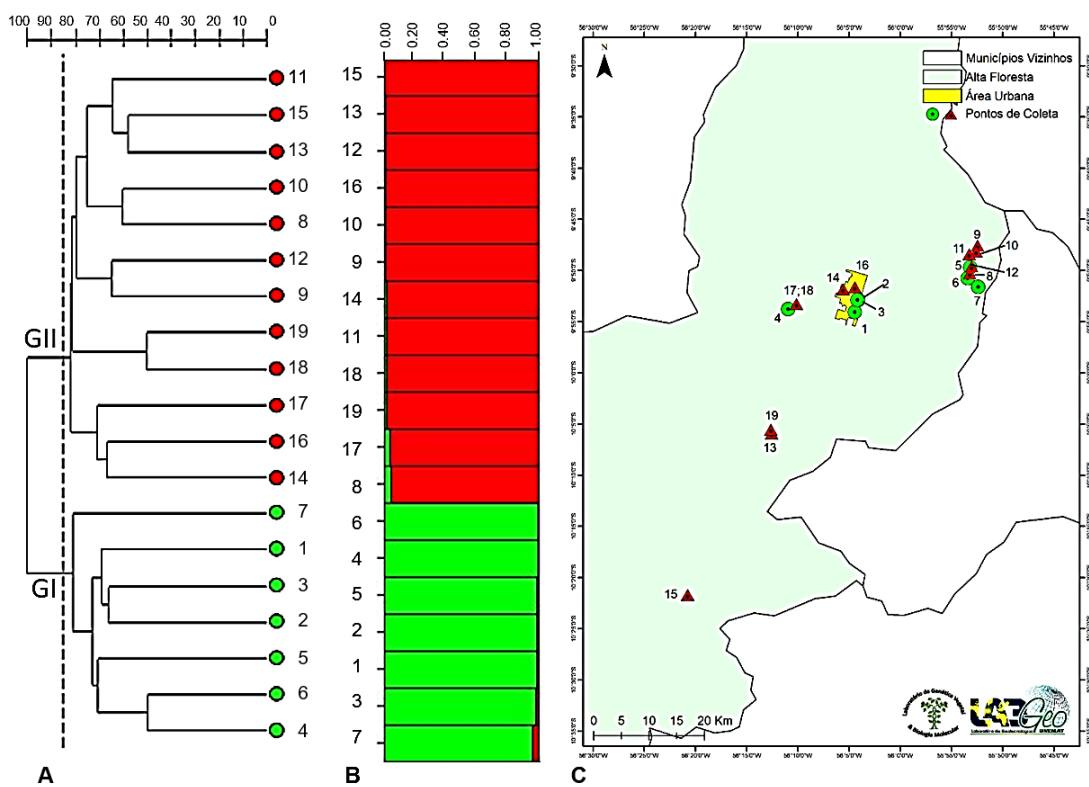


Figura 2. (A) Dendrograma de dissimilaridade genética entre os 19 indivíduos de *Zingiber officinale*, obtido pelo método UPGMA e complemento aritmético do índice de Jaccard como medida de dissimilaridade. (B) Agrupamento dos 19 indivíduos de *Zingiber officinale* segundo bases moleculares com nove (9) *primers* ISSR utilizando a análise bayesiana. Os indivíduos estão representados por barras verticais com coloração de acordo com o grupo ao qual pertencem (dois grupos, $K = 2$). (C) Localização geográfica dos genótipos de *Zingiber officinale* avaliados neste estudo..

Observa-se na figura 2C que a constituição dos agrupamentos formados pelo método UPGMA e pela análise bayesiana não estão relacionados

à distribuição geográfica dos indivíduos, o que pode ser atribuído à forma de propagação da espécie. A propagação de *Z. officinale* é realizada assexuadamente, pelo plantio dos rizomas, o que permite a troca de materiais genéticos entre a população que o cultiva. A utilização de variedades tradicionais de propagação vegetativa, como é o caso de *Z. officinale*, por parte de mantenedores de quintais urbanos e rurais torna esses locais depósitos de grande diversidade genética e a troca de rizomas entre eles contribuem para a conservação da mesma. Ao estimar a diversidade genética entre *Z. officinale* utilizando marcadores RAPD, Nayak et al. (2005), obtiveram resultados semelhantes, com a formação de grupos não diretamente relacionados à localização geográfica dos cultivares.

A Análise de Coordenadas Principais (PCoA) foi concordante com o método de agrupamento UPGMA e a análise bayesiana, dispondo os indivíduos em dois grupos distintos, sendo que os dois primeiros eixos explicam 33,57% da variação total, com a primeira coordenada (Coord.1) e a segunda coordenada (Coord.2) representando 21,66 e 11,91% da variação total, respectivamente (Figura 3).

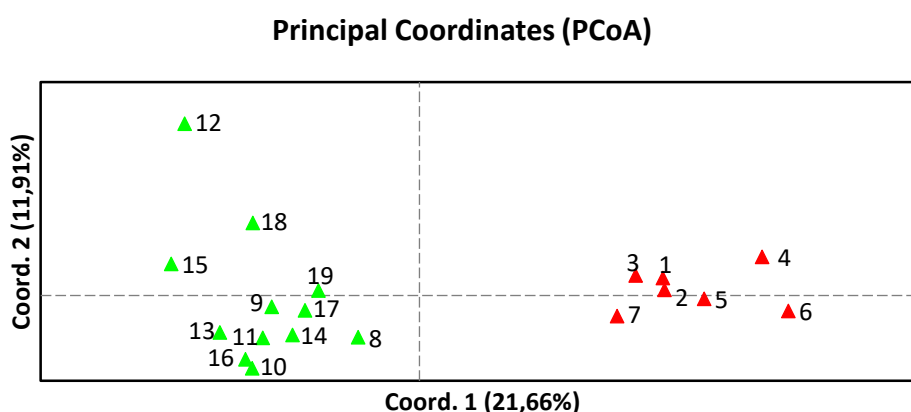


Figura 3. Dispersão gráfica a partir da análise das coordenadas principais dos 19 indivíduos de *Zingiber officinale* coletados em quintais urbanos e rurais de Alta Floresta, MT.

A avaliação da diversidade genética entre os grupos formados pela análise bayesiana (Tabela 5) indica que a porcentagem de polimorfismo variou de 60,26% para 71,79%. O índice de Shannon (*H*) foi de 0,32 e 0,33 para GI e GII, respectivamente, indicando que há variabilidade genética dentro dos grupos,

uma vez que o I varia entre 0 e 1, sendo que quanto mais próximo de 1, maior a diversidade.

Tabela 5. Parâmetros de diversidade genética para os dois grupos ($k=2$), conforme determinado por análise bayesiana para os 19 indivíduos de *Zingiber officinale*.

Parâmetros	Grupo I	Grupo II	Total
N	7	12	19
Na	1,60 (0,49)	1,72 (0,45)	1,88 (0,32)
Ne	1,36 (0,37)	1,35 (0,36)	1,44 (0,33)
He	0,21 (0,20)	0,21 (0,19)	0,27 (0,17)
I	0,32 (0,29)	0,33 (0,26)	0,41 (0,23)
%P	60,26	71,79	88,46

N: número de indivíduos; Na: número de alelos observados; Ne: número de alelos efetivos; He: Diversidade Genética de Nei; I : Índice de Shannon e %P: Percentual de locos polimórficos. () Desvio Padrão.

A análise de variância molecular (AMOVA) entre os dois grupos indicou que 55,06% da variância total ocorreu dentro dos grupos (Tabela 6).

Tabela 6. Análise de Variância Molecular (AMOVA) dos dois grupos ($k=2$), conforme determinado por análise bayesiana para os 19 indivíduos de *Zingiber officinale*, com uso de nove (9) *primers* ISSR.

Fonte de variação	GL	SQ	CV	VT (%)	F _{ST}	P
Entre grupos	1	42,154	4,18722	44,94	0,44939	<0,000
Dentro dos grupos	17	87,214	5,13025	55,06		
Total	18	129,368	9,31748			

Componente de Variância (CV), Variância Total (VT) e Probabilidades de ter um componente de variância maior que os valores observados ao acaso (P).

O valor de diferenciação genética dos grupos (F_{ST}) foi de 0,44939, com 1023 permutações ao acaso, ou seja aproximadamente 45% da variação está entre os grupos. Valores superiores à 0,25 de F_{ST} indicam elevada diferenciação (WRIGHT, 1978) o que, neste estudo, pode estar relacionado tanto ao processo de propagação vegetativa quanto a base genética desta população que pode ser oriunda de diferentes regiões. Esses resultados assemelham-se aos encontrados por Zambrano-Blanco et al. (2016) ao avaliar a diversidade entre acessos de *Z. officinale* oriundos de três regiões brasileiras e por KAVITHA et al. (2010) ao avaliar a variabilidade genética entre acessos da mesma espécie

e de mais três espécies do gênero *Zingiber* coletados no sul da Índia, quando a maior diversidade ocorreu entre os acessos e não entre as regiões de origem.

Conclusões

Os *primers* ISSR foram eficientes na detecção de polimorfismo, revelando que há diversidade genética entre os indivíduos de *Zingiber officinale*.

Os métodos de agrupamento utilizados (UPGMA e análise bayesiana) revelaram a formação de dois grupos distintos, demonstrando que há diversidade genética entre os indivíduos analisados.

A maior parte da diversidade genética está dentro dos grupos e não entre eles e a distância genética não foi diretamente influenciada pela distância geográfica, o que pode ser reflexo da troca de rizomas de *Zingiber officinale* entre os mantenedores de quintais urbanos e rurais.

A não ocorrência de duplicidade indica que os indivíduos estudados podem ser utilizados para formação de uma coleção ativa de germoplasma que vise a manutenção da diversidade e o melhoramento genético da espécie, priorizando os indivíduos, mas dissimilares (06 e 12).

Referências Bibliográficas

ADANIYA, S.; SHODA, M. Variation in pollen fertility and germinability in ginger. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.67, n.6, p.872-874, 1998a. DOI: 10.2503/jjshs.67.872.

_____. Meiotic irregularity of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Chromosome Science**, v.2, n.3, p.141-144, 1998b.

ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p.711–728, 2013. DOI: 10.1127/0941-2948/2013/0507.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J.F.; CARVALHO, R.I.J. Marcadores Moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, v.7, n.3, p.513-520, 1997. DOI: 10.1590/S0103-84781997000300026.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v.32, n.3, p.314-331, 1980.

COSTA, A.M.; SPEHAR, C.R.; SERENO, J.R.B. (Ed.). **Conservação de recursos genéticos no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 628p.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v.35, n.3, p.271-276, 2013. DOI: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2003, 2 v. 585p.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, p.11-15, 1987.

ELPO, E.R.S.; NEGRELLE, R.R.B.; RÜCKER, N.G.A. Produção de gengibre no município de Morretes, PR. **Scientia Agraria**, v.9, n.2, p.211-217, 2008. DOI: 10.5380/rsa.v9i2.10971.

EVANO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, v.4, p. 2611–2620, 2005. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v.131, p.479–491, 1992.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. **Arlequin (versão 3.0)**: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v.1, p.47–50, 2007.

GHOSH, P.; SHYLAJA, M.R.; NAZEEM, P.A. ISSR marker based DNA fingerprinting in released varieties and selected superior somaclones of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **The Bioscan**, v.10, n.1, p.55-61, 2015.

ISMAIL, N.A.; RAFII, M.Y.; MAHMUD, T.M.M.; HANAFI, M.M.; MIH, G. Molecular markers: a potential resource for ginger genetic diversity studies. **Molecular Biology Reports**, v.43, n.12, p.1347-1358, 2016. DOI: 10.1007/s11033-016-4070-3.

KAVITHA, P.G.; KIRAN, A.G.; DINESH RAJ, R.; SABU, M.; THOMAS, G. Amplified fragment length polymorphism analyses unravel a striking difference in the intraspecific genetic diversity of four species of genus *Zingiber* Boehm. from the Western Ghats, South India. **Current Science**, v.98, n.2, p.242-247, 2010.

KRUSKAL, J.B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v.29, n.1, p.1-27, 1964.

LEWONTIN, R.C. The apportionment of human diversity. **Evolutionary Biology**, v.6, p.381-398, 1972. DOI: 10.1007/978-1-4684-9063-3_14.

MAGALHÃES, M.T.; KOKETSU, M.; GONÇALVES, S.L.; CORNEJO, E.P.; MARQUES, L.M.R. Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) brasileiro: aspectos gerais, óleo essencial e oleoresina. Parte 2 - secagem, óleo essencial e oleoresina. **Food Science and Technology**, v.17, n.2, p.132-136, 1997. DOI: 0.1590/S0101-20611997000200013.

MEYER, A.S.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, A.P.; SOUZA JR., C.L.S. Comparison of similarity coefficients used for cluster analysis with dominant markers in maize (*Zea mays* L). **Genetics and Molecular Biology**, v.27, n.1, p.83-91, 2004. DOI: 10.1590/S1415-47572004000100014.

MOJENA R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v.20, n.4, p.359-363, 1977 DOI: 10.1093/comjnl/20.4.359.

NAYAK, S.; NAIK, P.K.; ACHARYA, L.; MUKHERJEE, A.K.; PANDA, P.C.; DAS, P. Assessment of genetic diversity among 16 promising cultivars of ginger using cytological and molecular markers. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v.60, n.5-6, p.485-492, 2005. DOI: 10.1515/znc-2005-5-618.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v.89, p.583-590, 1978.

PALHARIN, L.H.C.; FIGUEIREDO NETO, E.; LOPES, M.P.C.; BOSQUÊ, G.G. Estudo sobre o gengibre na medicina popular. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v.7, n.14, p.1-4, 2008.

PANDOTRA, P.; GUPTA, A.P.; GANDHIRAM; HUSAIN, M.K.; GUPTA, S. Genetic and chemo-divergence in eighteen core collection of *Zingiber officinale*

from North-West Himalayas. **Scientia Horticulturae**, v.160, 283-291, 2013a. DOI: 10.1016/j.scienta.2013.05.005.

PANDOTRA, P.; GUPTA, A.P.; HUSAIN, M.K.; GANDHIRAM; GUPTA, G.S. Evaluation of genetic diversity and chemical profile of ginger cultivars in north-western Himalayas. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.4, p.281-287, 2013b. DOI: 10.1016/j.bse.2013.01.004.

PANDOTRA, P.; GUPTA, A.P.; KHAN, S.; RAM, G.; GUPTA, S. A comparative assessment of ISSR, RAPA, IRAP, & REMAP molecular markers in *Zingiber officinale* germplasm characterization. **Scientia Horticulturae**, v.194, n.1, p.201-207, 2015. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.08.011.

PREM, J.; KIZHAKKAYIL, J.; THOMAS, E.; DHANYA, K; SYAMKUMAR, S.; SASIKUMAR, B. Molecular characterization of primitive, elite and exotic ginger genotypes to protect the biowealth of elite ginger accessions. **Journal of Spices and Aromatic Crops**, v.17, n.2, p.85-90, 2008.

PRITCHARD, J.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v.155, n.2, p.945–959, 2000.

PRITCHARD, J.K.; WEN, W. **Documentation for structure software**: version 2.1, 2004. Disponível em: <http://pritch.bsd.uchicago.edu>. Acesso em: 25 out 2017.

RAMACHANDRAN, K. Chromosome numbers in Zingiberaceae. **Cytologia**, v.34, n.2, p.213-221, 1969. DOI: 10.1508/cytologia.34.213.

_____. Polyploidy induced in ginger by colchicine treatment. **Current Science**, v.51, n.6, p.288-289, 1982.

RAVINDRAN, P.N; NIRMAL BABU, K. **Ginger: The Genus Zingiber**. Washington: CRC Press, 2005. 552p.

REZENDE, R.K.; PAIVA, L.V.; PAIVA, R.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; TORGA, P.P. Divergência genética entre cultivares de gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2435-2440, 2009. DOI: 10.1590/S0103-84782009005000176.

ROCHA, V.D.; TIAGO, P.V.; TIAGO, A.V.; PEDRI, E.C.M.; CARDOSO, E.S.; ROSSI, A.A.B. Genetic diversity among *Hymenaea courbaril* L. genotypes naturally occurring in the north of Mato Grosso State, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.16, n.3, p.1-9, 2017. DOI: 10.4238/gmr16039706.

ROHLF, F.J. Adaptative hierarchical clustering schemes. **Systematic Zoology**, v.19, n.1, p.58-82, 1970.

SANTONIERI, L.; BUSTAMANTE, P.G. Conservação *ex situ* e *on farm* de recursos genéticos: desafios para promover sinergias e complementaridades.

Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas, v.11, n.3, p.677-690, 2016. DOI: 10.1590/1981.81222016000300008.

SILVA, A.S.P.; SANTOS, F.K.; ALMEIDA, J.R.G.S.; REIS, A.G.B.; ROLIM, L.A. Prospecção tecnológica do rizoma *Zingiber officinale* Roscoe utilizado no tratamento da dor musculoesquelética. **Cadernos de Prospecção**, v.10, n.1, p.1-13, 2017. DOI: 10.9771/ cp.v10i1.16304.

SOUSA, L.S.; SILVA, Í.R.C.; ASSIS, D.J.; PASCOAL, D.R.C.; DRUZIAN, J.I. Estudo prospectivo sobre as propriedades terapêuticas do *Zingiber officinale* (gengibre) com ênfase na ação antimicrobiana. **GEINTEC**, v.3, n.5, p.427-436, 2013. DOI: 10.7198/geintec.v3i5.332.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, v.6, n.1, p.288-295, 2006. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**, v.28, n.19, p.2537-2539, 2012. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460.

TIAGO, A.V.; ROSSI, A.A.B.; TIAGO, P.V.; CARPEJANI, A.A.; SILVA, B.M.; HOOGERHEIDE, E.S.S.; YAMASHITA, O.M. Genetic diversity in cassava landraces grown on farms in Alta Floresta-MT, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.15, n.3, p.1-10, 2016. DOI: 10.4238/gmr.15038615.

WILLIAMS, J.G.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A., TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

WRIGHT, S. **Evolution and Genetics of Populations**. Chicago: University of Chicago, 1978. 511p.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.S. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2013. 279p.

YEH, F.C.; YANG, R.C.; BOYLE, T.B.J.; YE, Z.; XIYAN, J.M.; YANG, R.; BOYLE, T.J. **POPGENE version 1.32**: Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis. Edmonton: University of Alberta, 2000.

ZAMBRANO-BLANCO, E. Diversidad genética del jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.) a nivel molecular: Avances de la última década. **Entramado**, v.11, n.2, p. 190-199, 2015. DOI: 10.18041/entramado.2015v11n2.22239.

ZAMBRANO-BLANCO, E.; BAJAY, M.M.; SIQUEIRA, M.V.B.M.; ZUCHI, M.I.; PINHEIRO, J.B. Genetic diversity an structure of Brazilian ginger germplasm (*Zingiber officinale*) revealed by AFLP markers. **Genetica**, v.144, n.6, p.627-638, 2016. DOI: 10.1007/s10709-016-9930-1.

3.2. GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L. EM DIFERENTES EXTRATOS DE *Zingiber officinale* Roscoe²

² Artigo publicado na “Enciclopédia Biosfera”, v.14, n.25, 2017. DOI: 10.18677/EnciBio_2017A58.

Resumo – (Germinação e desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa* L. em diferentes extratos de *Zingiber officinale* Roscoe). O gengibre (*Zingiber officinale* R.) é utilizado na culinária e pela medicina tradicional há milhares de anos. Muitos compostos químicos considerados fitoterápicos também podem ser tóxicos em decorrência do modo de extração ou das concentrações utilizadas, o que pode ser avaliado por meio de testes com bioindicadores vegetais. Sendo assim, objetivou-se avaliar a sensibilidade germinativa de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas da alface quando submetidas à ação de extratos aquosos de gengibre e assim verificar seu potencial alelopático. O experimento foi realizado em câmara de germinação com extratos aquosos obtidos por infusão e decocção, nas concentrações 6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg mL⁻¹, e água destilada (controle), em delineamento inteiramente casualizado (DIC), organizado em esquema fatorial 2 x 5 + 1, com 4 repetições de 50 sementes cada. Para avaliar a toxicidade foram realizados os testes de Germinação (PG), Primeira Contagem (PC), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Tempo Médio de Germinação (TMG), Frequência Relativa de Germinação (F_r), Índice de Sincronização (U), Comprimento da Parte Aérea (CPA) e do Sistema Radicular (CSR) das sementes e plântulas após sete dias de germinação. Os extratos apresentaram interação significativa para o IVG e TMG, com regressão quadrática à medida que as concentrações aumentaram, indicando potencial alelopático por diminuir o vigor das sementes. A distribuição das F_r reforça os resultados do IVG e TMG, evidenciando germinação mais lenta quando submetida ao decocto, que mostrou-se mais eficiente na inibição da germinação das sementes da alface.

Palavras-chave: alelopatia, fitoterápico, Zingiberaceae.

Abstract – (Estimation of the allelopathic potential of *Zingiber officinale* R.) Ginger (*Zingiber officinale* R.) has been used in culinary and traditional medicine for thousands years. Many chemical compounds that are considered phytotherapeutic can be toxic, depending on the extraction method or the concentrations used, which can be evaluated through tests with vegetable bioindicators. We aimed to evaluate the germination sensibility of seed lettuce and initial development of seedlings when submitted to action of aqueous extract of ginger, and thus to assessed allelopathic potential of extract. The assay was performed in germination chamber with aqueous extract prepared by infusion and decoction at concentrations 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 mg mL⁻¹ and distilled water (control). The experiment was completely randomized, organized in a 2 x 5 + 1 factorial design with four repeats of 50 seeds. To evaluated the toxicity, we analyzed germination test (PG), first count (PC), germination speed index (IVG), mean germination time (TMG), relative frequency of germination (F_r), synchronization index (U), shoot length (CPA) and root system length (CSR) of lettuce seeds and seedlings, seven days after the germination. The extracts

showed significant interaction for IVG and TMG with quadratic regression according as increased concentrations, indicating allelopathic potential because of the reduction in seed vigor. The F_r distribution reinforces the results of the IVG and TMG, as well as shows that there was lower germination when the seeds were submitted to decoction that was more efficient in the inhibition of the germination of lettuce seeds.

Keywords: Allelopathy, phytotherapeutic, Zingiberaceae.

Introdução

O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), planta herbácea originária do sudeste da Ásia, hoje uma espécie pantropical, chegou ao Brasil ainda no século XVI, sendo atualmente cultivado principalmente nas regiões litorâneas do Paraná, Santa Catarina, Espírito Santo e região sul de São Paulo. É utilizado na culinária e na medicina popular, sendo que algumas de suas propriedades fitoterápicas já foram comprovadas cientificamente (SOUSA et al., 2013).

Usualmente, os fitoterápicos tradicionais são preparados a partir do rizoma da planta e empregados no tratamento de problemas gastrointestinais (USHA & KRISHNAPURA, 2010), agindo também como anti-inflamatório, diurético, expectorante e atuando na diminuição e controle de glicemia e colesterol (PALATY et al., 2013). No Brasil, o conhecimento relacionado ao uso de plantas para o tratamento, prevenção de enfermidades e o seu modo de preparo é transmitido ao longo das gerações, sendo esta a principal forma de uso, mesmo com a crescente produção industrial de medicamentos e produtos fitoterápicos (OSHIRO et al., 2016).

As propriedades farmacêuticas, agrônômicas e alimentares estão relacionadas com os metabólitos secundários, compostos de estruturas complexas e diversas, produzidas pelas plantas em pequena escala, que atuam na interação entre organismos e na adequação destes com o meio (PEREIRA & CARDOSO, 2012). A influência que estes e outros compostos exercem sobre outras plantas, seja benéfica ou prejudicial, é conhecida como alelopatia e tem sido utilizada como alternativa ao uso de agroquímicos. Por ser uma espécie medicinal, o gengibre já teve diversos metabólitos secundários identificados e empregados como fitoterápicos, como é o caso dos compostos fenólicos e sua atividade antimicrobiana (ANDRADE et al., 2012; DE GRANDIS et al., 2015).

Os metabólitos secundários podem apresentar potencial tanto fitoterápico quanto fitotóxico, o que pode ser acentuado pela concentração e maneira de preparo. A estimativa desse potencial pode ser realizada através de testes com espécies vegetais bioindicadoras, que são mais sensíveis à ação de metabólitos e que têm sido amplamente utilizadas em atividades laboratoriais, com baixo custo e alta eficiência, dentre as quais está a alface (KLEIN et al., 2014; ZORTÉA et al., 2015; MASUM et al., 2016), cujas sementes necessitam

de curto período de tempo para sua germinação e desenvolvimento (FERREIRA & ÁQUILA, 2000) e sofrem rápidas mudanças fisiológicas durante o processo germinativo, o que as tornam mais sensíveis às condições ambientais (SOUZA et al., 2005).

O estudo do potencial alelopático permite conhecer as relações químicas e biológicas interespecíficas de espécies vegetais, contribuindo para aplicação de técnicas que possam, dentre outros fatores, ser utilizadas em substituição ao uso de agroquímicos e na implantação de consórcio de culturas (MALHEIROS et al., 2014).

O gengibre é uma planta comumente cultivada por agricultores familiares e mantenedores de quintais agroflorestais, tanto por suas propriedades culinárias quanto medicinais, de modo que estudos acerca de seu potencial alelopático podem contribuir para que tanto estes produtores quanto aqueles que se dedicam à agricultura orgânica, possam utilizar, em pequena escala, seus extratos em substituição ao uso de agroquímicos, contribuindo para com o aspecto financeiro e ambiental.

Diante do exposto e em decorrência da ampla e diversificada utilização do gengibre, objetivou-se com este estudo avaliar o seu potencial alelopático sobre as sementes e desenvolvimento inicial de plântulas da alface.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular e no Laboratório de Tecnologia de Sementes e Matologia, do CETAM (Centro de Tecnologia da Amazônia Meridional) na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, MT. Os materiais vegetais utilizados foram rizomas de gengibre obtidos no comércio local, sendo preparados os dois tipos de extratos comumente utilizados pela medicina tradicional: o infuso e o decocto.

Para obtenção dos extratos, foram utilizadas 20g *in natura* do rizoma de gengibre e 200 mL de água destilada, sendo que este representa o T5 (100 mg mL⁻¹) e, a partir da diluição do mesmo, foram obtidos os tratamentos T1, T2, T3 e T4 (6,25, 12,5, 25 e 50 mg mL⁻¹, respectivamente). O tratamento controle, com água destilada, representou o T0. Para o extrato aquoso por infusão, a água foi aquecida até o ponto de fervura (100 °C) e vertida sobre as frações do rizoma. O recipiente foi tampado e deixado em repouso por 10 minutos. Posteriormente, foi filtrado e reservado. O extrato aquoso por decocção foi obtido pela fervura das frações de gengibre, juntamente com a água, por 5 minutos. Em seguida, o extrato ficou em repouso e, após esfriar, foi filtrado e reservado.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os biotestes foram organizados em um esquema fatorial 2 x 5 + 1, sendo 2 tipos de extrato (infuso e decocto), cinco concentrações e um tratamento controle (água destilada), com 4 repetições cada.

Para os biotestes foram utilizadas 50 sementes de *L. sativa*, variedade Grandes Lagos Americana, por repetição. As sementes foram distribuídas em caixas gerbox transparente (11 x 11 x 3,5 cm) previamente higienizadas e forradas com seis camadas de papel filtro autoclavado, umedecidos com 10 mL do extrato. Posteriormente, as caixas gerbox foram acondicionadas em sacos plásticos para impedir a evaporação dos extratos e, assim, garantir a manutenção da umidade. O experimento foi mantido em câmara de germinação do tipo B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio), com temperatura e luminosidades controladas (25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12h - luz), por sete dias.

Por meio de contagem diária das sementes germinadas, obteve-se o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) (MAGUIRE, 1962), sendo considerada germinada a semente que apresentou, no mínimo, 1,5 mm de radícula, ou seja, 50% do tamanho da semente (FERREIRA & AQUILA, 2000). Os testes de Primeira Contagem (PC) e de Percentagem de Germinação (PG) foram realizados no 4º e 7º dias, respectivamente, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

De acordo com Labouriau (1983), foram avaliadas as variáveis: Tempo Médio de Germinação (TMG), com a fórmula:

$$\text{TMG} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i t_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

onde, n_i representa o número de sementes que germinaram no tempo t_i (nº do dia em que foi realizada a contagem) e k , o último tempo (dia) de germinação das sementes; Frequência Relativa (F_r), obtida por $F_r = n_i / \sum_{i=1}^k n_i$; Índice de Sincronização de Germinação (U), por meio de $U = - \sum_{i=1}^k F_r \log_2 F_r$.

O desenvolvimento das plântulas foi avaliado no 7º dia por meio da mensuração, com auxílio de paquímetro digital de precisão Mitutoyo, em milímetros (mm), do comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CSR) de 10 plântulas por repetição, selecionadas aleatoriamente.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as médias dos extratos foram comparadas por meio do teste de Tukey a 5% e para as concentrações dos extratos foram ajustadas regressões polinomiais com auxílio do programa SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

Por meio da análise de Variância (ANOVA), com o teste F, detectou-se que as variáveis: Primeira Contagem, Percentagem de Germinação, Índice de Sincronização, Comprimento da Parte Aérea e Comprimento do Sistema Radicular, não foram afetadas significativamente pelos extratos testados, enquanto as variáveis: Índice de Velocidade de Germinação e Tempo Médio de Germinação apresentaram interação significativa entre os tipos de extrato e as concentrações utilizadas (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Resultado da Análise de Variância (ANOVA) para germinação das sementes e desenvolvimento inicial de plântulas da alface sob efeito de diferentes concentrações de extratos aquosos de gengibre.

Fonte de Variação	PC	PG	IVG	TMG	U	CPA	CPR
	Quadrados Médios						
Extratos	1,500 ^{ns}	0,143 ^{ns}	4,522 *	7,701 *	0,483 ^{ns}	0,027 ^{ns}	0,006 ^{ns}
Tratamentos	0,825 ^{ns}	1,629 ^{ns}	19,723 *	26,348 *	2,160 ^{ns}	0,948 ^{ns}	2,234 ^{ns}
Ext. x Trat.	1,275 ^{ns}	1,171 ^{ns}	3,179 **	4,533 *	0,717 ^{ns}	0,871 ^{ns}	0,660 ^{ns}
Média	49,67	99,66	35,43	1,62	0,80	14,95	13,88
CV (%)	0,95	0,77	15,04	13,81	34,67	18,09	21,95

ns, *, **: Não significativo e significativo a nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. PC (Primeira Contagem); PG (Percentagem de Germinação); IVG (Índice de Velocidade de Germinação); TMG (Tempo Médio de Germinação); U (Índice de Sincronização); CPA (Comprimento da Parte Aérea); CPR (Comprimento da Raiz); CV (Coeficiente de Variação).

Tabela 2. Resultados do Teste de Média do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) em sementes da alface submetidas a diferentes extratos aquosos de gengibre.

Extrato	IVG	TMG
Infusão	37,06a	1,53b
Decocção	33,79b	1,71a
DMS	8,02	0,34

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

No que se refere ao Índice de Velocidade de Germinação e Tempo Médio de Germinação, o infuso e o decocto promoveram respostas semelhantes, com efeito de regressão quadrática, apontando que o T5 (100 mg mL⁻¹) exerce maior ação inibitória, observa-se, também, que o efeito do decocto foi mais acentuado. Segundo Santos et al. (2013), a decocção é o método de extração mais eficiente para vegetais duros e de natureza lenhosa, pois o material é mais

fervido junto com a água; neste estudo, também foi o método mais eficiente para extração dos metabólitos do rizoma do gengibre (Figura 1).

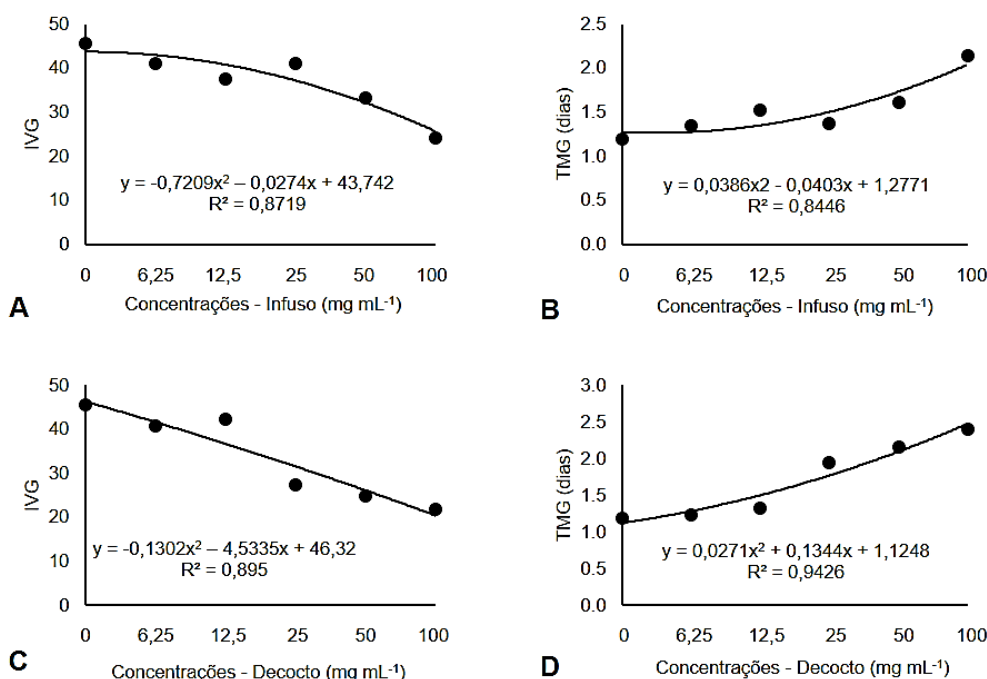


Figura 1. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) de sementes da alface submetidas a diferentes concentrações de extratos aquosos tipo Infuso (A e B) e Decocto (C e D) de gengibre.

O Índice de Velocidade de Germinação sofreu efeito inibitório a partir da concentração 6,25 mg mL⁻¹ (T1), sendo mais evidentes nas concentrações 50 e 100 mg mL⁻¹, respectivamente. Este resultado assemelha-se aos observados por Zortéa et al. (2015), em bioensaios realizados, com extratos de folha seca de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre germinação de sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.), por Yamagushi et al. (2011), com extratos aquosos de folha seca de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) sobre a germinação de tomate (*Solanum esculentum* M.), repolho (*Brassica oleracea* L. cv. capitata) e rúcula (*Eruca sativa* L.).

Em estudo realizado por Souza et al. (2005), com extratos de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) sobre a germinação de sementes da alface e da rúcula, o Índice de Velocidade de Germinação foi inversamente proporcional à concentração dos extratos. Neste estudo observa-se, um efeito semelhante, porém em T3 do extrato tipo infuso e T2 do extrato tipo decocto, o

índice de velocidade de germinação foi estimulado, voltando a ser inibido nos tratamentos subsequentes (Figura 1A e 1C).

Para o Índice de Velocidade de Germinação, observou-se que o extrato infuso apresentou médias superiores ao decocto nas concentrações de 25 e 50 mg mL⁻¹, confirmando que o decocto foi mais eficiente na extração dos metabólitos. Quando analisadas as concentrações dentro de cada extrato, observa-se que houve diferença significativa na concentração 100 mg mL⁻¹ quando comparada as demais do infuso, enquanto que no decocto, houve diferença significativa nas concentrações de 25, 50 e 100 mg mL⁻¹ para decocto.

Um dos indicativos do vigor da semente é o Índice de Velocidade de Germinação, sendo estes diretamente proporcionais entre si, ou seja, quanto maior o IVG mais vigorosa é a semente (FERREIRA & BORGUETI, 2004). Os extratos aquosos de gengibre atuaram na diminuição do vigor (Figura 1), agindo assim como aleloquímico, tendo em vista que muitas vezes o efeito alelopático não ocorre sobre o total de sementes germinadas, mas sobre a velocidade da germinação ou sobre outra variável analisada (FERREIRA & AQUILA, 2000; FERREIRA & BORGUETI, 2004; GUSMAN et al., 2011), em decorrência da permeabilidade da semente para substâncias que podem retardar o processo germinativo (CARVALHO et al., 2014).

Os resultados obtidos para o Índice de Velocidade de Germinação foram corroborados pelo Tempo Médio de Germinação, onde o tempo necessário para germinação foi proporcional ao aumento das concentrações, sendo que, para ambos os extratos, a concentração 100 mg mL⁻¹ apresenta TMG maior. Para infuso e decocto houve diminuição do TMG para T3 e T2, respectivamente, retornando a aumentar nos tratamentos subsequentes (Figura 1B e 1D).

O Tempo Médio de Germinação também apresentou interação significativa entre extratos e tratamentos, onde o extrato decocto apresentou as maiores médias nas concentrações de 25 e 50 mg mL⁻¹, diferindo-se significativamente do infuso. Quando foram analisadas as concentrações dentro de cada extrato, o infuso apresentou a maior média na concentração de 100 mg mL⁻¹ e o decocto diferiu estaticamente das demais a partir da concentração 25 mg mL⁻¹ (Tabela 3). O extrato tipo decocto reduziu a velocidade de germinação, aumentando o tempo de germinação, em, aproximadamente 52%, enquanto que no infuso, o resultado para os mesmos parâmetros, foi de, aproximadamente

48%, confirmando assim um efeito alelopático menos acentuado quando comparado ao decocto.

Tabela 3. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) de sementes de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações dos extratos aquosos de gengibre.

Concentração	Extratos			
	IVG		TMG	
	EAI	EAD	EAI	EAD
0 mg mL ⁻¹	45,507aA	45,507aA	1,195bA	1,195bA
6,25 mg mL ⁻¹	41,083abA	40,890aA	1,350bA	1,228bA
12,5 mg mL ⁻¹	37,437abA	42,383aA	1,520bA	1,325bA
25 mg mL ⁻¹	41,070abA	27,318bB	1,370bB	1,950a A
50 mg mL ⁻¹	33,208bcA	24,738bB	1,605bB	2,152a A
100 mg mL ⁻¹	24,083cA	21,920bA	2.140aA	2,405a A
CV (%)	15,04		13,81	

EAI (extrato aquoso por infusão); EAD (extrato aquoso por decocção); CV (Coeficiente de Variação); Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Concomitantemente aos testes de germinação e visando avaliar parâmetros relacionados ao vigor das sementes, foi estimada, além do Tempo Médio de Germinação, a Frequência Relativa (F_r), que consiste na distribuição da germinação no decorrer do período de avaliação. Por meio das frequências é possível estabelecer um padrão de comportamento: se germinam até um valor máximo, baixam e voltam a aumentar ou se após atingirem o valor máximo, declinam. De modo geral, o processo germinativo não é perfeitamente sincronizado, de modo que é possível, pelo índice de sincronização (Tabela 1), determinar o quanto houve de variação da germinação ao longo do tempo (SANTANA & RANAL, 2004).

Pelos polígonos de frequência relativa (Figura 2), pode-se observar comportamento diferente entre extratos e tratamentos testados para o Tempo Médio de Germinação e total de germinação, sendo o processo de germinação mais lento quando estas são submetidas ao extrato do tipo decocto.

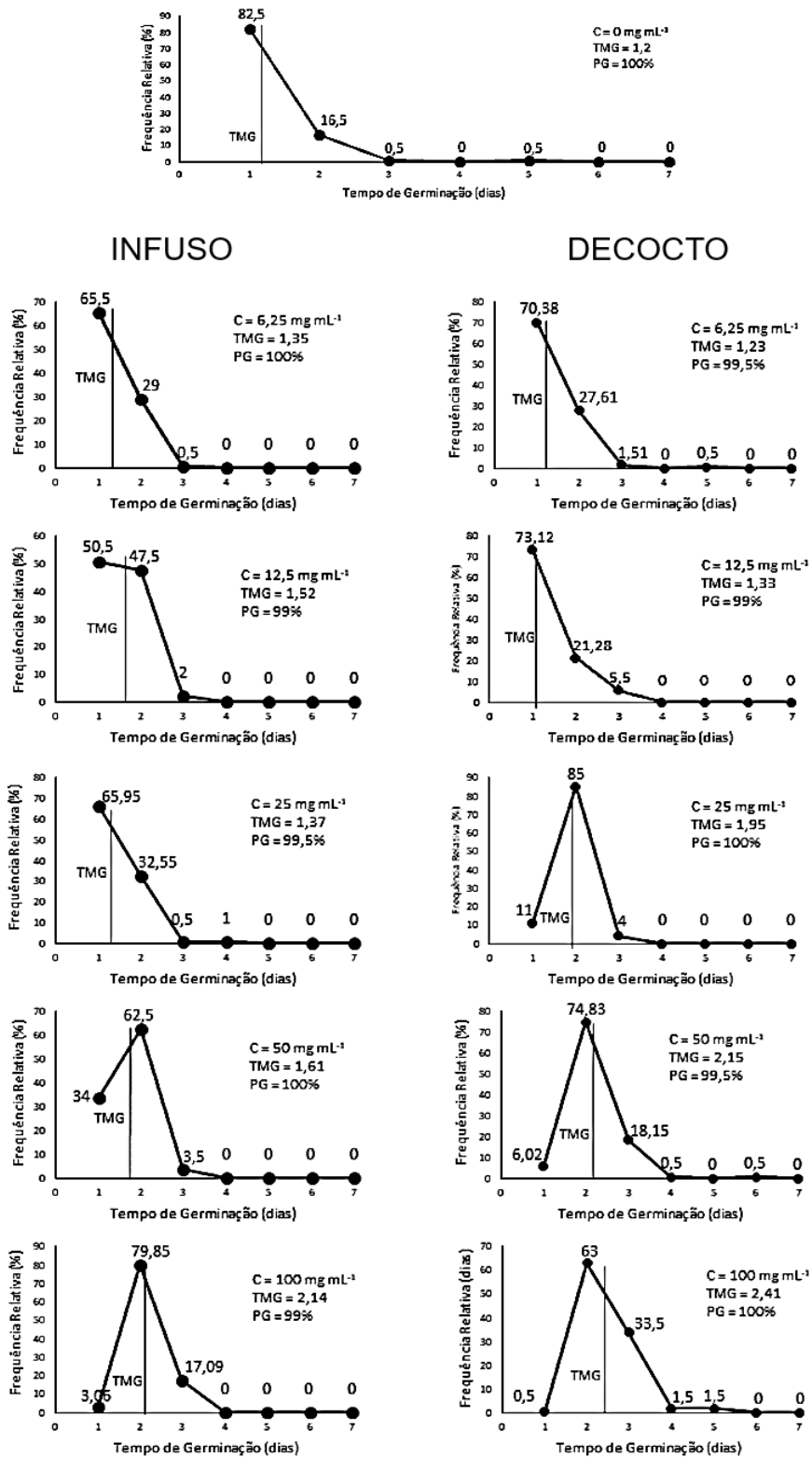


Figura 2. Distribuição da frequência relativa de germinação de sementes sob ação de diferentes concentrações dos extratos aquosos (infuso e decocto) de gengibre. (C = concentração, TMG = tempo médio de germinação e %G = percentual de germinação).

A distribuição da frequência relativa indica que, mesmo com porcentagem de germinação entre 99 e 100% para todos os extratos e tratamentos testados, a germinação foi mais lenta para o extrato tipo decocto, corroborando os resultados obtidos para o Índice de Velocidade de Germinação e o Tempo Médio de Germinação.

Conclusões

Os extratos aquosos tipo decocto e infuso do rizoma de gengibre não inibiram significativamente o percentual de germinação das sementes da alface, em nenhuma das concentrações testadas, embora tenham afetado o IVG, diminuindo o vigor da semente.

O extrato tipo decocto apresentou um efeito alelopático mais acentuado, sugerindo que a fervura do rizoma do gengibre favorece a extração dos aleloquímicos da espécie.

Referências Bibliográficas

ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. de G.; BATISTA, L. R.; MALLET, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012. DOI: 10.1590/S1806-66902012000200025.

BRASIL, Ministério da Agricultura e abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, Mapa/ACS, 2009. 399p.

CARVALHO, W. P.; CARVALHO, G. J. de.; ABBADE NETO, D. de O.; TEIXEIRA, L. G. V. Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a germinação e crescimento inicial de alface. **Bioscience Journal**. v. 30, p. 1-11, 2014. Suplemento 1.

DE GRANDIS, R. A.; MOCHETTI, H. de F.; SANTINON, M. E.; PERINA, S.; RESENDE, F. A.; BAUAB, T. M.; NOGUEIRA, L. G. Avaliação da atividade antibacteriana do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 1, p. 77-82, 2015.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 1, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, A. B.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system**. Ciência e Agrotecnologia, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. DOI: 10.1590/S1413-70542011000600001.

GUSMAN, G. S.; YAMAGUSHI, M. Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **Iheringia Série Botânica**, v. 66, n. 1, p. 87-98, 2011.

KLEIN, F. R. S.; MARTINAZZO, E. G.; PEDÓ, T.; AUMONDE, T. Z.; VILLELA, F. A. Performance de sementes e plântulas de alface sob ação alelopática de extratos de raízes de ginseng brasileiro. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 8, n. 5, p. 39-43, 2014.

LABOURIAU, L. F. G. 1983. **A germinação das sementes**. Washington: Departamento de Assuntos Científicos e Tecnológicos da Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos. 174p. (Série Biologia, 24).

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962. DOI: 10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x.

MALHEIROS, R. S. P.; SANTANA, F. S.; LINHARES NETO, M. V. L.; MACHADO, L. L.; MAPELI, A. M. Atividade alelopática de extratos de *Lafoensia pacari* A. ST. –HIL. sobre *Lactuca sativa* L. e *Zea mays* L. em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n. 1, p. 185-194, 2014.

MASUM, S. M.; HOSSAIN, M. A.; AKAMINE, H.; SAKAGAMI, J.; BROWMIK, P. C. Allelopathic potential of indigenous Bangladeshi rice varieties. **Weed Biology and Management**. v. 16, n. 3, p. 119-131, 2016. DOI: 10.1111/wbm.12103.

OSHIRO, M. C.; MIGUEL, M. D.; DIAS, J. de F. G.; GOMES, E. C.; MIGUEL, O. G. A evolução do registro e prescrição de fitoterápicos no Brasil sob a perspectiva legal e sanitária. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 4, n. 4, p. 116-122, 2016. DOI: 10.22239/2317-269x.00790.

PALATTY, P. L.; HANIADKA, R.; VALDER, B.; ARORA, R.; BALIGA, M. S. Ginger in the prevention of nausea and vomiting: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 7, p. 659-669, 2013. DOI: 10.1080/10408398.2011.553751.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. das G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. **Análise da germinação**: um enfoque estatístico. Brasília, DF: Editora Universidade de Brasília, 2004. 248 p.

SANTOS, P. L. dos.; PRANDO, M. B.; MORANDO, R.; PEREIRA, G. V. N.; KRONKA, A. Z. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**. v. 9, n. 17, p. 2562-2576, 2013.

SOUSA, L. S.; SILVA, Í. R. C. da.; ASSIS, D. de J.; PASCOAL, D. R. da C.; DRUZIAN, J. I. Estudo prospectivo sobre as propriedades terapêuticas do *Zingiber officinale* (gengibre) com ênfase na ação antimicrobiana. **GEINTEC - Gestão, Inovação e Tecnologias**, São Cristóvão vol. 3, n. 5, p. 427-436, 2013. DOI: 10.7198/S2237-0722201300050035.

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.

USHA, N. S. P.; KRISHNAPURA, S. Gastrointestinal portective effect of dietary spices during ethanol-induced oxidant stress in experimental rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 35, n. 2, p. 134-141, 2010. DOI: 10.1139/H09-133.

ZORTÉA, K. É. M.; FREITAS JR, E.; SIMÃO, S. S.; SIMIONI, P. F.; ROSSI, A. A. B. Extratos de Alecrim são alelopáticos à germinação de *Eruca sativa* L.?

Enciclopédia Biosfera, v. 11, n. 22, p. 3710-3718, 2015. DOI: 10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_258

YAMAGUSHI, M. Q.; GUSMAN, G. S.; VESTENA, S. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Eucalyptus globulus* Labill. e de *Casearia sylvestris* Sw. sobre espécies cultivadas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1361-1374, 2011. DOI: 10.5433/1679-0359.2011v32n4p1361

3.3. POTENCIAL CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DE EXTRATOS DE *Zingiber officinale* ROSCOE SOBRE O CICLO CELULAR DE *Allium cepa* L.

Resumo – (Potencial citotóxico e genotóxico de extratos de *Zingiber officinale* Roscoe sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L.). A crescente utilização de fitoterápicos naturais pela sociedade contemporânea implica na necessidade de pesquisas relacionadas às suas propriedades. Este estudo objetivou identificar, por meio do teste *Allium cepa* L., os possíveis efeitos citotóxicos e genotóxicos do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), utilizado no tratamento e prevenção de problemas gastrointestinais, hepáticos, diabetes, colesterol e, recentemente, considerado como promissor na prevenção e/ou combate ao câncer. Os testes foram realizados no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular, UNEMAT/Alta Floresta, a partir de rizomas coletados em propriedade rural do município. O experimento foi conduzido em DIC (delineamento inteiramente casualizado) e os bulbos de *A. cepa* organizados em um esquema fatorial 3x5+2, considerado três extratos (aquosos, do tipo infuso e decocto, e hidroalcoólico), cinco concentrações e dois controles, sendo a água destilada utilizada como controle negativo e o glifosato 1% como controle positivo. A avaliação foi realizada a partir de parâmetros macroscópico (comprimento da raiz) e microscópicos (índice mitótico e alterações cromossômicas). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, as médias comparadas pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$) e para o fator concentração, foi realizado o ajuste de regressão polinomial. A metodologia, o solvente e as concentrações utilizadas no preparo dos extratos promoveram diferentes respostas, contudo, todas as concentrações e extratos testados apresentaram potencial citotóxico, com redução do comprimento das raízes e do índice mitótico, mas não promoveram alterações cromossômicas significativas. O potencial antiproliferativo demonstrado neste estudo aponta o gengibre como uma espécie promissora em estudos que visem o combate ao câncer.

Palavras-chave: Antiproliferativo, fitoterapia, gengibre.

Abstract – (Cytotoxic and genotoxic potential of *Zingiber officinale* Roscoe extracts on the cell cycle of *Allium cepa* L.). The growing use of herbal medicine in contemporary society urgently increases the need for studies of the properties of species used in phytotherapy. This study aims to identify, using the *Allium cepa* L. test, the possible cytotoxic and genotoxic effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), a plant used in herbal medicine in the treatment and prevention of gastro-intestinal issues, liver disease, diabetes, and cholesterol, and for prevention of cancers. Tests were performed at the Laboratory for Plant Genetics and Molecular Biology at the State University of Mato Grosso (UNEMAT) in Alta Floresta, Brazil. Rhizomes used in tests were collected at a rural property in the municipality of Alta Floresta. Our experiment used a completely randomized design (CRD): *A. cepa* bulbs were arranged using a 3x5+2 factorial design, examining three extracts (aqueous, infused and decoct, and hydroalcoholic), five concentrations and two controls (distilled water as negative control, and 1% glyphosate as positive control). The evaluation was realized using macroscopic (root length) and microscopic parameters (mitotic index and chromosomal alterations). The results were submitted to variance analysis, the averages

compared using the Tukey Test ($p < 0.05$), and concentration factors determined using polynomial regression. The methodology, the solvent and the concentrations utilized to prepare the extracts returned different results, however all concentrations and extracts revealed cytotoxic potential, with reduced root length and mitotic index, but they did not cause significant chromosomal alterations. The antiproliferative potential demonstrated in this study suggest ginger shows promise for further studies into cancer treatment.

Keywords: Antiproliferative, ginger, herbal medicine.

Introdução

A capacidade de promover alterações metabólicas celulares bem como de induzir alterações no material genético representam, respectivamente, o potencial citotóxico e genotóxico de determinadas substâncias, sendo que estas podem ser de origem natural ou antropogênica.

Substâncias potencialmente tóxicas podem estar presentes tanto em alimentos quanto em fitoterápicos tradicionais e seus efeitos estão relacionados a fatores como exposição (frequência, quantidade e tempo) e características específicas da substância (IPCS – OMS, 2008). A utilização de plantas na prevenção e tratamento de doenças está intimamente relacionada à história da civilização humana, com destaque para as civilizações Chinesa, Egípcia e Greco-Romana que utilizavam espécies vegetais na medicina, no controle de pragas e até mesmo como mecanismo de defesa (VIEGAS JR. et al., 2006; SALES et al., 2015).

Dentre as diversas plantas utilizadas na fitoterapia tradicional, o *Zingiber officinale* R. (gingibre) é um dos mais estudados, com algumas propriedades já comprovadas cientificamente (SOUSA et al., 2013).

A parte mais utilizada do *Z. officinale* é o rizoma, especialmente para tratamento de problemas gastrointestinais, embora também apresente características terapêuticas como, por exemplo, ação antiemética, antimicrobiana, anti-inflamatória, antipirética, diurética, antioxidante, hepatoprotetora, expectorante, antiespasmódica e radioprotetora, além de contribuir para diminuição e controle de glicemia e colesterol (JAGETIA et al., 2003; USHA e KRISHNAPURA, 2010; BALIGA et al., 2012; PALATTY et al., 2013; HANIADKA et al., 2013).

Estudos sugerem que o *Z. officinale* possa agir por desmutagênese e bioantimutagênese, possuindo uma boa capacidade de prevenção de danos no DNA, de modo que possa ser utilizado como um alimento funcional capaz de prevenir lesões no DNA que podem relacionar-se ao aparecimento do câncer (SHUKLA; SINGH, 2007; KARNA et al., 2012).

As principais formas de utilização do *Z. officinale*, assim como das demais plantas medicinais, seguem as orientações da sabedoria popular, sendo que o crescente uso de fitoterápicos tradicionais para tratamento e prevenção de

doenças implica na necessidade de pesquisas sobre o potencial citotóxico e genotóxico dos mesmos, uma vez que estes podem ser influenciados pela metodologia de preparo e pela concentração utilizada (BEZERRA et al., 2016).

Existem diversos modelos de testes para avaliação de citotoxicidade, dentre os quais a cultura de células, onde se destacam a metodologia de difusão em ágar e a incorporação do corante vermelho neutro (ROGERO et al., 2003; BEDNARCZUK et al., 2010), o teste do micronúcleo e o teste *Allium cepa* L. (STURBELLE et al., 2010).

A utilização do *A. cepa* como organismo teste foi iniciada por Levan (LEVAN, 1938) que, após ter demonstrado que a colchicina poderia causar alterações no fuso mitótico de células desta espécie, também demonstrou que diferentes soluções de sais orgânicos induziam o surgimento de aberrações cromossômicas em células meristemáticas de raízes (LEVAN, 1945). Desde então, o teste tem sido aprimorado e adequado para avaliação de citotoxicidade e genotoxicidade (FISKESJÖ, 1985; RANK; NIELSEN, 1993; MA et al., 1995; BABICH et al., 1997).

A eficiência do teste *A. cepa* está relacionada ao fato de a espécie possuir cromossomos grandes, o que facilita a avaliação microscópica, e em número reduzido ($2n = 2x = 16$) (FISKESJÖ, 1985). Outros fatores importantes são a disponibilidade de bulbos a preços acessíveis durante todo o ano, o crescimento rápido de suas raízes, apresentando grande número de células em divisão, e a não exigência de conhecimento específico para o manuseio.

O teste *A. cepa* é validado pelo International Programme on Chemical Safety (IPCS, OMS) e pelo United Nations Environment Programme (UNEP) (CABRERA; RODRIGUES, 1999) e atua como uma primeira avaliação em estudos relacionados à saúde humana, sendo que os resultados obtidos são indicativos de respostas semelhantes em mamíferos ou outros organismos (FISKESJÖ, 1985; CHAUHAN et al., 1999; BAGATINI et al., 2007).

Diante da ampla utilização do *Z. officinale* como fitoterápico tradicional, este estudo avaliou, por meio do teste *Allium cepa*, diferentes concentrações de extratos da planta preparados de acordo com as formas mais comuns de utilização e também por meio da extração hidroalcoólica, objetivando identificar os possíveis efeitos citotóxicos e genotóxicos da espécie. A identificação de propriedades citogenotóxicas são importantes tanto para

orientação quanto ao consumo, diminuindo os riscos à saúde humana, quanto para pesquisas relacionadas às propriedades medicinais da espécie e a produção de medicamentos em escala industrial.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do CETAM (Centro de Tecnologia da Amazônia Meridional), na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, MT, e os rizomas de *Z. officinale* foram coletados em propriedade rural do município de Alta Floresta, localizado no norte do Estado de Mato Grosso.

O município de Alta Floresta (Figura 1) dista 797 km da capital do Estado, Cuiabá, e abrange uma área de 8.953,191 km², sendo que a população estimada em 2017 é de 50.189 habitantes (IBGE, 2017). O clima é do tipo Am, com estação chuvosa e seca, temperatura média superior a 26 °C e precipitação pluviométrica variando entre 2500 e 3100 mm, anualmente (ALVARES et al., 2013). A vegetação do município constitui-se por floresta ombrófila, floresta estacional e áreas de cerrado (MOREIRA; VASCONCELOS, 2007; LIRA, 2011).

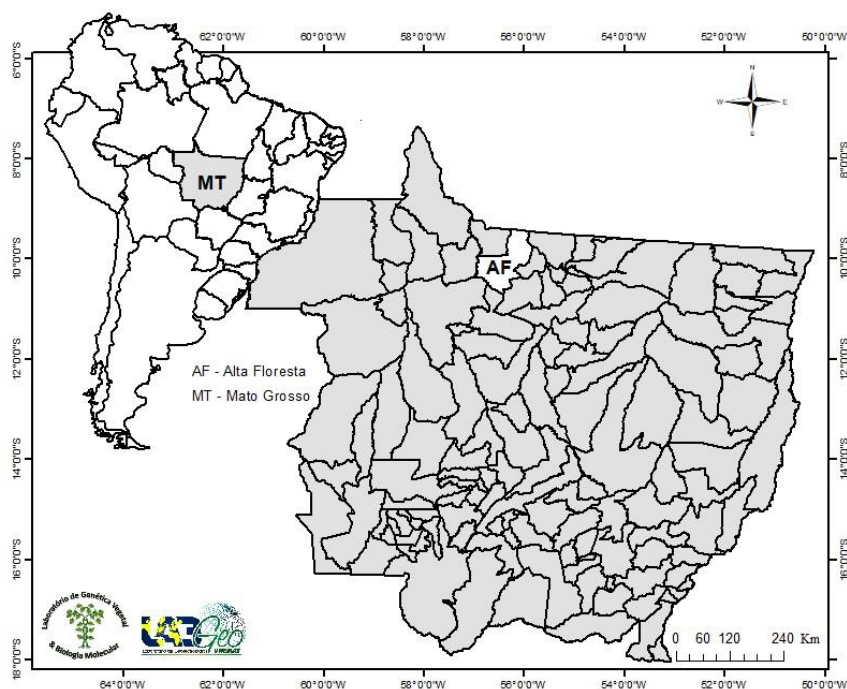


Figura 1. Localização geográfica do município de Alta Floresta, onde o experimento foi realizado.

Obtenção dos Extratos

Extratos aquosos

Foram preparadas cinco concentrações de extratos aquosos do tipo infuso (EAI) e decocto (EAD) a partir dos rizomas coletados. Utilizando 90 g de

rizoma de gengibre *in natura* e 900 mL de água destilada obteve-se o extrato de maior concentração (100 mg mL⁻¹) e a partir da diluição deste foram obtidas as demais concentrações (6,25; 12,5; 25 e 50 mg mL⁻¹).

O extrato aquoso do tipo infuso foi obtido a partir do aquecimento da água até o ponto de fervura (100 °C), sendo a mesma vertida sobre as frações do rizoma. O extrato foi abafado e deixado em repouso por 10 minutos, sendo posteriormente filtrado e diluído nas concentrações de uso. Para obtenção do extrato aquoso do tipo decocto, a água, juntamente com frações de rizoma, foi aquecida e mantida em fervura por cinco minutos. Em seguida, o extrato ficou em repouso e, ao atingir a temperatura ambiente, foi filtrado e diluído.

Extrato Hidroalcoólico

Para obtenção do extrato bruto hidroalcoólico (EHA), os rizomas de *Z. officinale* foram fragmentados e secos em estufa (60°C) com ventilação, triturados e macerado por 7 dias em etanol 70%. Após este período, o extrato foi filtrado e concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida (600mmHg) a 40°C. O extrato obtido foi então liofilizado para obtenção do pó (GIORDANI et al., 2015).

Para utilização no teste *A. cepa*, 7,2 g do EHA foi diluído em 900 mL de água destilada para obtenção da concentração 8 mg mL⁻¹, a partir da qual, por meio de diluição, foram preparadas as demais concentrações (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg mL⁻¹).

Teste *Allium cepa* L.

O teste *A. cepa* foi realizado de acordo com a metodologia de Fiskesjö (1985), com alterações propostas por Babich et al. (1997).

Foram utilizados 80 bulbos de *A. cepa*, cujas escamas externas e raízes secas foram retiradas cuidadosamente. Para o teste, utilizou-se o tratamento descontínuo, sendo os bulbos previamente colocados em água destilada para emissão de raízes e, 36h depois, quando as mesmas mediam aproximadamente 10 mm, foram transferidos para os extratos a serem testados.

Os bulbos de *A. cepa*, foram submetidos a cinco concentrações de extratos aquosos do tipo infuso e decocto (6,25; 12,5; 25; 50 e 100 mg mL⁻¹) e de extrato hidroalcoólico (0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg mL⁻¹), sendo que a água

destilada, considerada como concentração 0 mg mL⁻¹ foi utilizada como controle negativo e o glifosato, diluído a 1%, como controle positivo (Figura 2).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os bulbos organizados em um esquema fatorial 3 x 5 + 2, sendo três tipos de extrato (EAI, EAD e EHA), cinco concentrações e dois tratamentos controle (água destilada e glifosato 1%), com 5 repetições cada. Os bulbos foram mantidos em câmara de germinação do tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), onde permaneceram em temperatura controlada (25 °C ± 2) e na ausência de luz por 48 horas, conforme metodologia proposta por Babich et al. (1997).

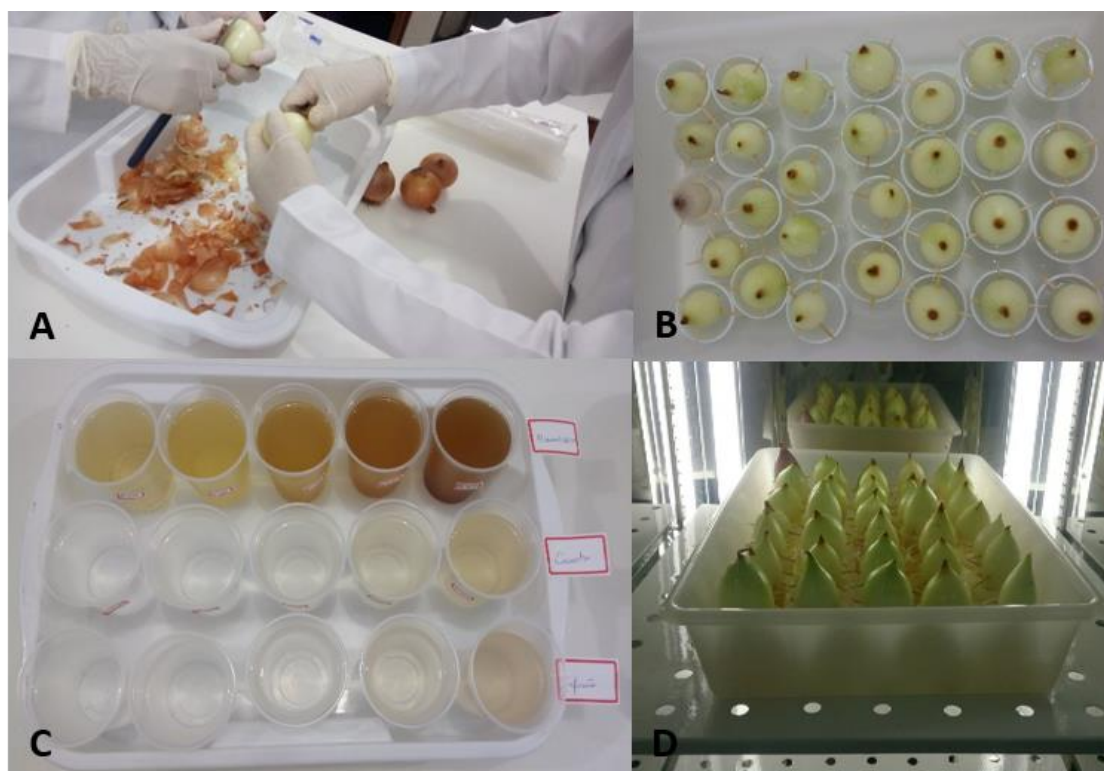


Figura 2. Teste *Allium cepa*. Limpeza dos bulbos (A), tratamento descontínuo: pré-enraizamento (B), extratos aquosos e hidroalcoólico (C), manutenção do experimento em câmara de germinação do tipo B.O.D. (D).

Após permanecerem expostos aos extratos de gengibre por 48 horas, os bulbos foram retirados da câmara de germinação e para cada concentração dos EAI, EAD e EHA, assim como dos controles negativo e positivo, 10 raízes foram selecionadas ao acaso e mensuradas com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo.

Em seguida, foram coletadas, aleatoriamente, raízes de cada concentração de cada um dos extratos avaliados e fixadas em solução de Carnoy (3:1, etanol: ácido acético) por 24 horas em temperatura ambiente, sendo então transferidas para etanol 70% e mantidas sob refrigeração (± 4 °C) até o uso.

O potencial citotóxico foi avaliado a partir do crescimento das raízes e da análise do índice mitótico (IM), enquanto que o potencial genotóxico foi avaliado a partir da frequência de alterações cromossômicas e/ou anormalidades nas fases da divisão celular. Na preparação das lâminas para avaliação do potencial citotóxico e genotóxico, as raízes foram lavadas em água destilada por cinco minutos, hidrolisadas em HCl 1N por 15 minutos e, novamente lavadas em água destilada por cinco minutos. Para confecção de cada lâmina, utilizou-se o meristema apical de uma das raízes armazenadas, sendo este corado com, aproximadamente, 100 μ L de orceína acética 2%. Com auxílio de um bastão de vidro o meristema foi levemente pressionado e, posteriormente, coberto com lamínula.

Para avaliação do IM foram preparadas oito lâminas por concentração de cada um dos extratos avaliados, assim como dos controles negativo e positivo. Foram analisadas 250 células por lâmina, totalizando 2000 células por tratamento e 10.000 células por extrato. As lâminas foram observadas em microscópio óptico (Bioval), em magnitude de 400X, pelo método de varredura, sendo que para cada lâmina foi registrado o número de células em cada fase do ciclo celular (intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase), bem como, quando presentes, as alterações em cada uma delas. O registro fotográfico foi realizado utilizando uma câmera digital CMOS (1.3 MP), colorida, acoplada ao microscópio e para captura e edição de imagem utilizou-se o software TSview.

O índice mitótico (IM) foi obtido por meio da equação proposta por Pires et al.(2001) (1).

$$IM = \left(\frac{\text{n}^\circ \text{ de células em mitose}}{\text{n}^\circ \text{ total de células observadas}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Para verificar a normalidade, foi realizado o teste de Lilliefors. Antes de serem submetidos às análises, os resultados referentes à variável IM foram transformados em Arco Seno $\sqrt{x/100}$, onde x representa o percentual de células em mitose (VASCONCELOS et al., 2012). Os dados foram submetidos a análise

de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o fator concentração dos extratos foram ajustadas regressões polinomiais, sendo que a escolha do modelo foi feita com base no maior valor do coeficiente de determinação (R^2) e no menor desvio. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Genes[®] (CRUZ, 2013).

Resultados e Discussão

Os bulbos de *A. cepa* responderam de forma distinta tanto aos extratos quanto às concentrações testadas e o aumento na concentração dos extratos promoveu efeito negativo no processo de crescimento radicular (Figura 3).

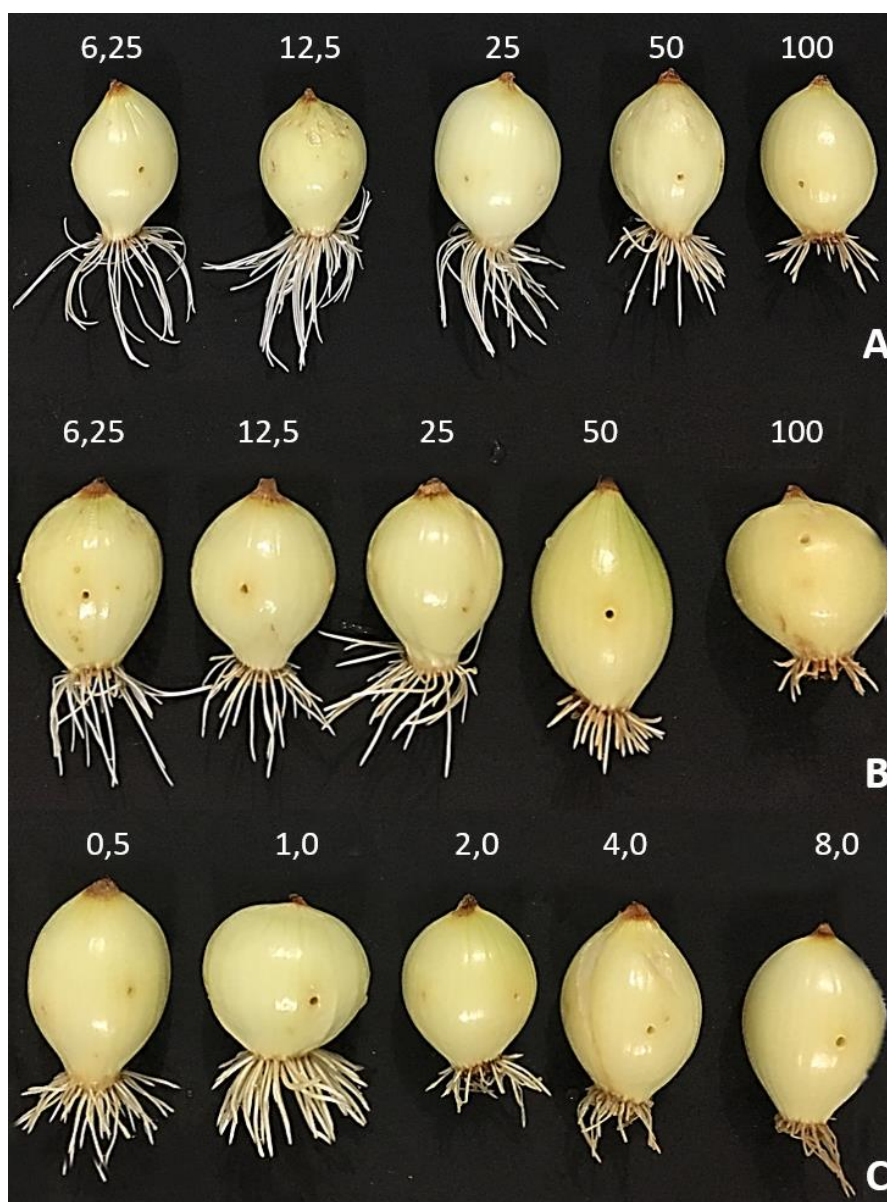


Figura 3. Crescimento das raízes após exposição a diferentes concentrações (mg mL⁻¹) de extratos de *Zingiber officinale*. Extrato aquoso do tipo infuso (A), do tipo decocto (B) e extrato hidroalcoólico (C).

Avaliações toxicológicas por meio do teste *A. cepa* permitem a avaliação da citotoxicidade por meio de parâmetros macroscópicos, como a cor, o formato e o comprimento da raiz, e também de parâmetros microscópicos,

como alterações no índice mitótico e aberrações cromossômicas (BAGATINI et al., 2007)

Ao proceder a análise de variância (Tabela 1), foi comprovado efeito significativo dos diferentes extratos de *Z. officinale* sobre o desenvolvimento do sistema radicular de *A. cepa*.

Tabela 1. Resultado da Análise de Variância (ANOVA) para o crescimento do sistema radicular de bulbos de *Allium cepa* expostos a extratos aquosos (infuso e decocto) e hidroalcoólico de *Zingiber officinale*.

Extratos Aquosos		
Fonte de Variação	GL	QM
Extrato	1	1197,20**
Concentração	5	1351,29**
Tratamento x Concentração	5	190,52**
CV (%)	20,44	
Média Geral	28,00	
Extrato Hidroalcoólico		
Concentração	5	833,42**
CV (%)	21,11	
Média Geral	19,24	

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. GL (Grau de Liberdade); QM (Quadrado Médio); CV (Coeficiente de Variação).

Para os extratos aquosos do tipo infuso e decocto, a concentração de 100 mg mL⁻¹ promove resposta similar ao controle positivo quanto a redução no comprimento da raiz, enquanto que para o extrato hidroalcoólico esta resposta ocorre a partir da concentração de 4,0 mg mL⁻¹ (Figura 4).

A maior atividade antiproliferativa do EHA pode ser explicada pelo fato de que, quando comparado ao EAI e ao EAD, diverge tanto na composição quanto na quantidade de metabólitos extraídos. O EHA é mais eficiente na degradação da parede celular e da membrana plasmática, potencializando a extração, especialmente, de polifenóis e flavonoides e outros compostos orgânicos. Além disso, ainda é preciso considerar que as altas temperaturas utilizadas na obtenção de EAI e EAD podem provocar mudanças estruturais irreversíveis em substâncias termolábeis (TIWARI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2016; SÁ JR. et al., 2016).

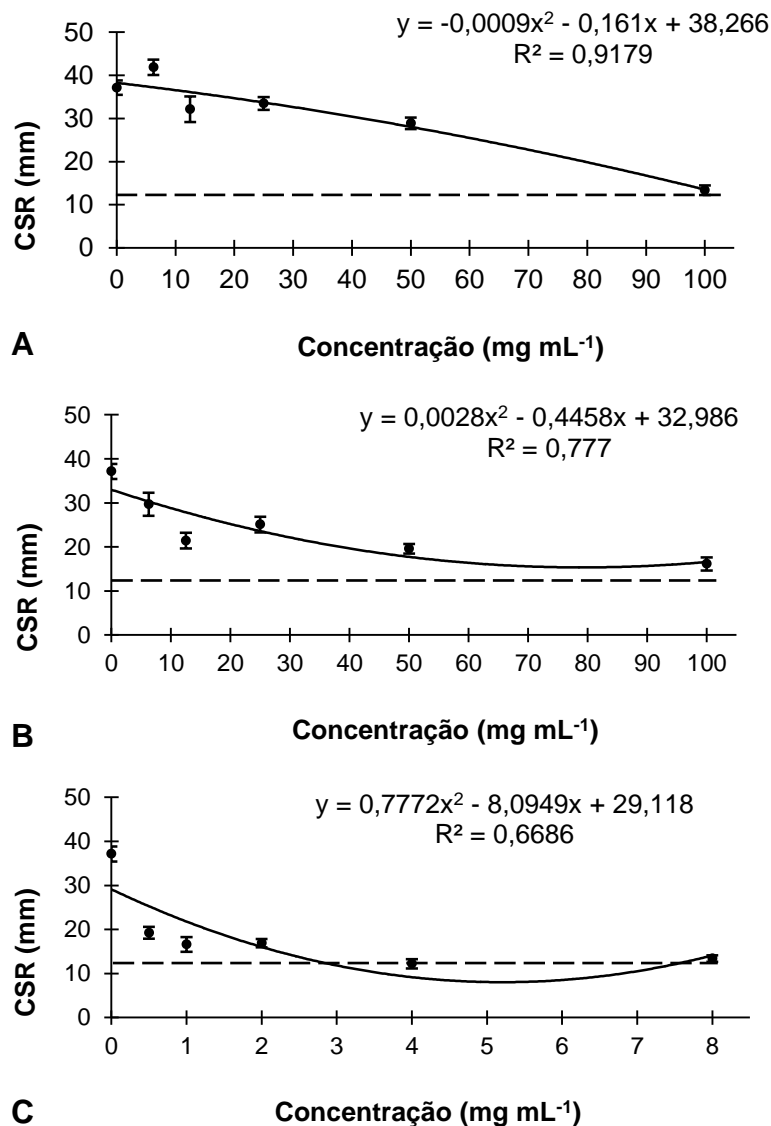


Figura 4. Comprimento do sistema radicular (CSR) de bulbos de *Allium cepa* expostos ao extrato aquoso do tipo infuso (A), decocto (B) e extrato hidroalcoólico (C). A linha tracejada representa a média do CSR do controle positivo e $\bar{x} \pm \text{erro}$, o erro padrão da média.

O crescimento radicular é produto da intensa atividade mitótica que ocorre no tecido meristemático e, subsequente, alongamento das células por ela originadas (BEZERRA et al., 2016). A redução no comprimento das raízes permite inferir que os extratos inibiram o processo de divisão celular, o que foi corroborado pela análise microscópica, com avaliação do índice mitótico, que expôs a redução do número de células em divisão. O número total de células analisadas, o número observado em diferentes estágios do ciclo celular e os valores dos índices mitóticos estão representados na tabela 2.

Tabela 2. Número de células meristemáticas de *Allium cepa* em diferentes etapas do ciclo celular, submetidas à diferentes concentrações e extratos de *Zingiber officinale*. IM = índice mitótico.

Concentração	Extrato Aquoso – Infuso					
	Intérfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)
6,25 mg mL ⁻¹	1252 ± 11,11	614 ± 10,71	49 ± 3,56	35 ± 22,50	50 ± 3,01	37,40 ± 4,44
12,5 mg mL ⁻¹	1380 ± 9,75	526 ± 8,91	37 ± 2,77	21 ± 1,60	36 ± 2,33	31,00 ± 3,90
25 mg mL ⁻¹	1425 ± 9,70	480 ± 8,93	33 ± 2,03	24 ± 1,85	38 ± 1,98	28,75 ± 3,88
50 mg mL ⁻¹	1511 ± 13,27	420 ± 16,16	17 ± 1,89	20 ± 2,14	32 ± 2,93	24,45 ± 5,31
100 mg mL ⁻¹	1568 ± 10,41	402 ± 9,41	15 ± 3,56	4 ± 0,93	11 ± 2,00	21,60 ± 4,16
Concentração	Extrato Aquoso – Decocto					
	Intérfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)
6,25 mg mL ⁻¹	1507 ± 7,78	380 ± 9,74	36 ± 2,27	24 ± 1,50	53 ± 2,50	24,65 ± 3,11
12,5 mg mL ⁻¹	1596 ± 16,86	311 ± 15,14	28 ± 2,56	24 ± 1,31	41 ± 2,75	20,20 ± 6,74
25 mg mL ⁻¹	1720 ± 7,21	234 ± 5,26	15 ± 2,80	8 ± 1,07	23 ± 3,04	14,00 ± 2,88
50 mg mL ⁻¹	1692 ± 10,10	244 ± 11,24	24 ± 2,93	16 ± 1,69	24 ± 2,23	15,40 ± 4,04
100 mg mL ⁻¹	1829 ± 5,48	145 ± 3,60	11 ± 1,19	3 ± 0,52	12 ± 1,62	8,55 ± 2,19
Concentração	Extrato Hidroalcoólico					
	Intérfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)
0,5 mg mL ⁻¹	1737 ± 6,73	215 ± 5,74	12 ± 1,60	12 ± 1,07	24 ± 1,60	13,15 ± 2,69
1,0 mg mL ⁻¹	1800 ± 6,99	114 ± 6,39	30 ± 2,82	18 ± 1,49	38 ± 1,90	10,00 ± 2,80
2,0 mg mL ⁻¹	1829 ± 6,89	151 ± 4,29	11 ± 2,13	2 ± 0,71	7 ± 1,81	8,55 ± 2,75
4,0 mg mL ⁻¹	1907 ± 6,44	86 ± 6,04	5 ± 0,74	0 ± 0,00	2 ± 0,71	4,65 ± 2,57
8,0 mg mL ⁻¹	1956 ± 2,78	32 ± 2,07	4 ± 0,76	0 ± 0,00	8 ± 1,20	2,20 ± 1,11
Controle Negativo¹	1223 ± 12,18	682 ± 16,34	43 ± 3,70	29 ± 2,50	23 ± 2,36	38,85 ± 4,87
Controle Positivo²	1781 ± 4,76	172 ± 3,92	13 ± 1,16	14 ± 1,25	20 ± 0,71	2,85 ± 1,91

^{1, 2} Água destilada e Glifosato 1%, respectivamente. Os valores são $\bar{x} \pm \sigma$ (média \pm desvio padrão).

Para o extrato aquoso do tipo infuso não foram observadas anormalidades ou aberrações, enquanto para o decocto foram registradas três células com pontes anafásicas (50 mg mL⁻¹) e para o hidroalcoólico, um total de 15 células com metáfase irregular (distribuídas em todas as concentrações) e três células com ponte anafásica (0,5; 1,0 e 2,0 mg mL⁻¹).

Embora os extratos de *Z. officinale* tenham reduzido significativamente o número de células em mitose, o mesmo não ocorreu para frequência de aberração cromossômicas ou anormalidade nas fases da divisão celular (Figura 5).

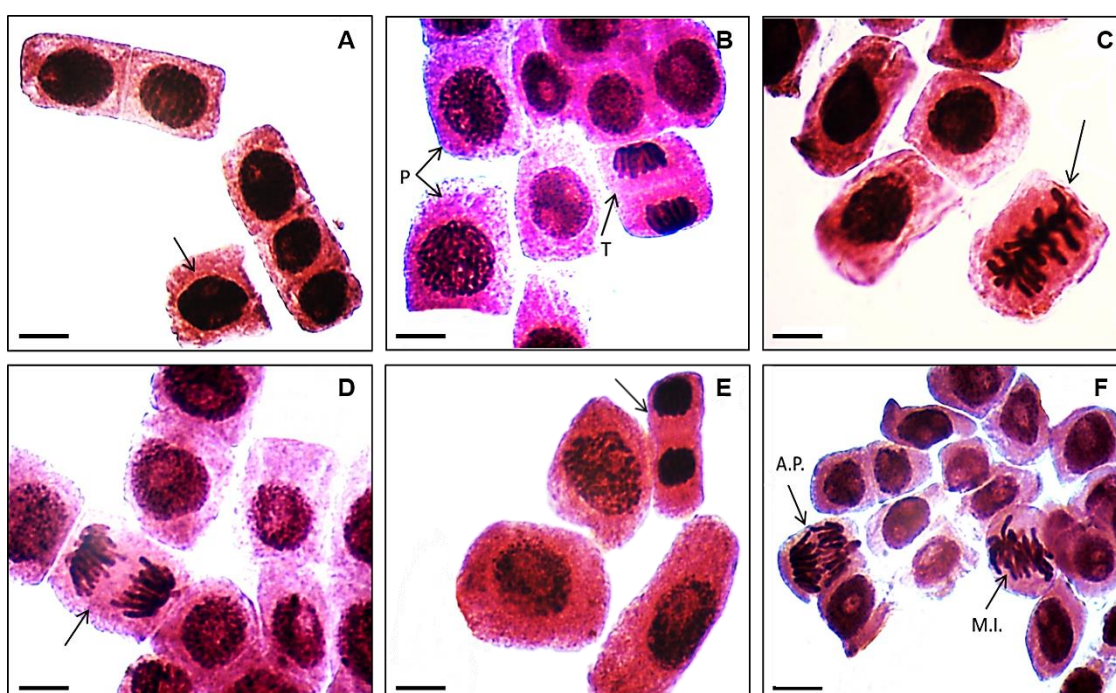


Figura 5. Fases do ciclo celular observadas em células meristemáticas radiculares de *Allium cepa* (400x) submetidas a diferentes concentrações e extratos de *Zingiber officinale*. Intérfase – Decocto 6,25 mg mL⁻¹ (A), prófases e telófase – Infuso 6,25 mg mL⁻¹ (B), metáfase – Infuso 12,5 mg mL⁻¹ (C), anáfase – Decocto 12,5 mg mL⁻¹ (D), telófase – Infuso 25 mg mL⁻¹ (E), anáfase com ponte cromossômica e metáfase irregular – Hidroalcoólico 2 mg mL⁻¹ (F). P = prófase; T = Telófase; A.P.= Anáfase com ponte cromossômica; M.I. = Metáfase irregular; Barra = 4,58 µm.

O número de células com anormalidades observadas nas fases da divisão celular é pequeno e não significativo, sugerindo que os extratos de *Z.*

officinale testados não possuem potencial genotóxico sobre células meristemáticas de *A. cepa*.

O índice mitótico (IM) é um indicador utilizado para avaliar o potencial citotóxico de extratos vegetais, onde resultados que divergem daqueles apresentados pelo controle negativo indicam a ação de compostos químicos sobre o ciclo celular, seja inibindo-o ou estimulando-o.

O controle negativo (água destilada) e o positivo (glifosato 1%) apresentaram índice mitótico de 38,85 e 2,85%, respectivamente. A análise de variância indicou efeito significativo dos extratos de *Z. officinale* sobre o IM em *A. cepa*. Ao comparar as médias do IM entre os tratamentos, constatou-se diferença estatística entre os resultados obtidos para todos os extratos e o controle negativo, evidenciando a inibição da divisão celular e o efeito antiproliferativo dos extratos de *Z. officinale*, sendo o extrato hidroalcoólico o que apresenta maior citotoxicidade, uma vez que não difere significativamente do controle positivo (Tabela 3).

Tabela 3. Resultado do teste de média para o índice mitótico entre os controles positivo e negativo e os extratos de *Zingiber officinale* utilizados no teste *Allium cepa*.

Tratamento	Índice Mitótico (%)
Controle Negativo ¹	38,85 a
E.A. Infuso	28,64 b
E.A. Decocto	16,56 c
E. Hidroalcoólico	7,71 d
Controle Positivo ²	2,85 d

Médias seguidas pelas mesmas letras minúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹Água destilada; ²Glifosato 1%; E.A.: Extrato aquoso;

A diferença de potencial antiproliferativo entre os extratos avaliados indica que a metodologia utilizada na preparação dos extratos está diretamente relacionada à sua capacidade de ação. Ao definir a metodologia, é necessário considerar fatores que influenciam a eficiência na extração dos compostos bioativos, como a parte vegetal, a temperatura e o solvente utilizado, sendo este diretamente relacionado à especificidade do composto que se pretende extrair. Dentre os diversos métodos de extração estão a infusão, a decocção e a

maceração, onde o solvente pode ser a água ou o etanol (TIWARI et al., 2011; KARABEGOVIĆ et al., 2014).

Os resultados deste estudo confirmam que extratos obtidos a partir de uma mesma planta, e até mesmo da mesma parte vegetal, podem promover respostas diferenciadas de acordo com o método utilizado. As alterações no índice mitótico promovidas pelos extratos de *Z. officinale* diferiram estatisticamente entre si, sendo que quando comparado com o EAI, o EAD exerceu maior efeito inibitório sobre o índice mitótico. A diferenças entre os extratos aquosos pode ser explicada pela escolha do material vegetal, pois extratos do tipo decocto são mais eficazes na extração de metabólitos de partes relativamente duras e resistentes da planta, como o rizoma, enquanto o infuso se mostra mais eficiente na extração de partes tenras do vegetal, como as folhas (SANTOS et al, 2013). A eficiência da decocção, independente do material vegetal utilizado, pode ser atribuída a manutenção da temperatura de fervura (100 °C) por um período de cinco minutos.

Já os resultados obtidos para o extrato hidroalcoólico podem estar relacionados ao solvente utilizado, uma vez que, sendo uma solução anfifílica, possibilita a extração de compostos polares e apolares (OLIVEIRA et al., 2016), ou seja, de compostos que seriam extraídos tanto por extratos aquosos quanto por extratos etanólicos. Outros fatores que devem ser considerados são a temperatura mais amena, a superfície e o tempo de contato entre o solvente e o gengibre em pó.

Além do método de extração, a concentração do extrato utilizado também atua sobre o metabolismo celular, como pode ser observado nas figuras 6A, B e C.

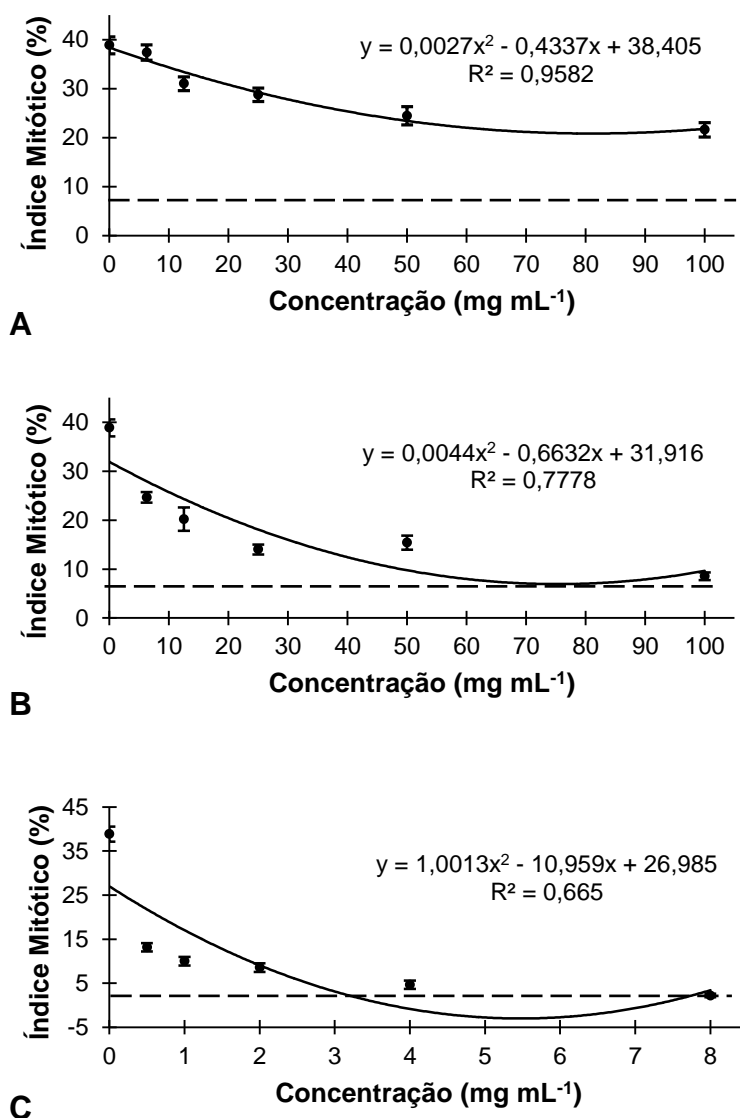


Figura 6. Índice mitótico das células meristemáticas de *Allium cepa* expostas aos extratos aquosos do tipo infuso e decocto (A e B, respectivamente) e extrato hidroalcoólico (C). A linha tracejada representa a média do CSR do controle positivo e \bar{x} , o erro padrão da média.

Todos os extratos e concentrações testadas tiveram efeito antiproliferativo sobre as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, sendo que a redução do índice mitótico foi diretamente proporcional ao aumento na concentração dos extratos testados.

Estes resultados permitem inferir que extratos de *Z. officinale*, nas condições aqui utilizadas, possuem potencial citotóxico. Dias et al. (2014) e Silva et al (2015), ao avaliar os efeitos de extratos de plantas utilizadas pela medicina tradicional sobre o ciclo celular de *A. cepa*, obtiveram resultados semelhantes ao

deste estudo, evidenciando que fitoterápicos podem interferir no processo de divisão celular.

O potencial antiproliferativo de plantas e seus derivados têm sido explorados em pesquisas relacionadas ao tratamento e prevenção de câncer, uma vez que, ao inibir o processo de divisão celular, podem ter efeito significativo sobre o crescimento do tumor e também da metástase (SHIN et al., 2000; DA ROCHA et al., 2001; FUZER et al., 2010). Os resultados deste estudo indicam o gengibre como uma espécie promissora para pesquisas relacionadas à sua utilização como alimento funcional ou fármaco utilizado no combate ao câncer.

O gengibre é utilizado principalmente como condimento e como fitoterápico no tratamento problemas gastrointestinais e respiratórios, bem como no controle dos níveis de colesterol e glicose (USHA; KRISHNAPURA, 2010; PALATTY et al., 2013), todavia estudos recentes exploram o potencial dos compostos químicos do gengibre no tratamento e prevenção de diferentes tipos de câncer (SHUKLA; SHING, 2007; JUSTO et al., 2008; KARNA et al.,2012).

Conclusões

O extrato hidroalcoólico e os extratos aquosos, infuso e decocto, de *Zingiber officinale* avaliados possuem potencial citotóxico sobre células meristemáticas de *Allium cepa*. No entanto, a baixa frequência de células com alterações cromossômicas indica que os mesmos extratos não apresentam potencial genotóxico.

A eficiência e ação dos extratos é influenciada diretamente pela metodologia empregada, solvente e concentrações utilizadas.

O potencial citotóxico de extratos de *Zingiber officinale* identificado neste estudo reafirma a necessidade de pesquisas para identificação dos fitoquímicos presentes em plantas utilizadas como condimentos ou como medicinais, bem como sua toxicidade. Essas informações são fundamentais para orientação quanto ao uso adequado destas plantas e para o direcionamento de pesquisas voltadas para produção de medicamentos.

A ação antiproliferativa de *Zingiber officinale* sobre o ciclo celular de *Allium cepa* indica que trata-se de uma espécie promissora para o tratamento de tumores, entretanto, são necessários mais estudos relacionados tanto a este mecanismo de ação quanto ao seu potencial como antimutagênico, a eficiência na extração e no isolamento e utilização de seus compostos bioativos.

Referências Bibliográficas

ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, n.6, p.711–728, 2013. DOI: 10.1127/0941-2948/2013/0507.

BABICH, H.; SEGAL, M.A.; FOX, K.D. The *Allium* test - a simple, eukaryote genotoxicity assay. **American Biology Teacher**, vol.59, n.9, p.580–583, 1997. DOI: 10.2307/4450386.

BAGATINI, M.D.; SILVA, A.C.F.; TEDESCO, S.B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.444-447, 2007. DOI: 10.1590/S0102-695X2007000300019.

BALIGA, M.S.; HANIADKA, R.; PEREIRA, M.M.; THILAKCHAN, K.R.; RAO, S.; ARORA, R. Radioprotective effects of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger): past, present and future. **Food & Function**. v.3, n.7, p.714-723, 2012. DOI: 10.1039/c2fo10225k.

BEDNARCZUK, V.O.; VERDAM, M.C.S.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v.11, n.2, p. 43-50, 2010.

BEZERRA, C.M.; SILVA OLIVEIRA, M.A. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso de malva-santa (*Plectranthus barbatus* - LAMIACEAE) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.13, n.4, p.220-228, 2016. DOI: 10.5216/ref.v13i4.36887.

CABRERA, G.L.; RODRIGUES, D.M.G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutatuion Research**, v.426, p.211-214, 1999.

CHAUHAN, L.K.S.; SAXENA, P.N.; GUPTA, S.K. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Environmental and Experimental Botany**, v.42, n.3, p.181-189, 1999. DOI: 10.1016/S0098-8472(99)00033-7.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v.35, n.3, p.271-276, 2013. DOI: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251.

DA ROCHA, A.B.; LOPES, R.M.; SCHWARTSMANN, G. Natural products in anticancer therapy. **Current Opinion in Pharmacology**, v.1, n.4, p.364-369, 2001. DOI: 10.1016/S1471-4892(01)00063-7.

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*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.2, p.202-208, 2014. DOI: 10.1590/S1516-05722014000200006.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, p.99–112, 1985. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x.

FUZER, A.M.; LEE, S-Y.; MOTT, J.D.; COMINETTI, M.R. [10]-gingerol reverts malignant phenotype of breast cancer cells in 3D culture. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.118, n.9, p.2693-2699, 2017. DOI: 10.1002/jcb.25906.

GIORDANI M.A.; COLLICCHIO, T.C.; ASCÊNCIO, S.D.; MARTINS, D.T.; BALOGUN, S.O.; BIESKI, I.G.; SILVA, L.A.; COLODEL, E.M.; SOUZA, R.L.; SOUZA, D.L.; FRANÇA, S.A.; ANDRADE, C.M.; KAWASHITA, N.H. Hydroethanolic extract of the inner stem bark of *Cedrela odorata* has low toxicity and reduces hyperglycemia induced by an overload of sucrose and glucose. **Journal of Ethnopharmacology**, v.162, p.353-361, 2015. DOI: 10.1016/j.jep.2014.12.059.

HANIADKA, R.; SALDANHA, E.; SUNITA, V.; PALATTY, P.L.; FAYAD, R.; BALIGA, M.S. A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Food & Function**, v.4, n.6, p.845-855, 2013. DOI: 10.1039/C3FO30337C.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Panorama - Alta Floresta, IBGE 2017. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/alta-floresta/panorama>>. Acesso em 24 out 2017.

IPCS-OMS. **Substâncias químicas perigosas à saúde e ao ambiente**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2008. 119p.

JAGETIA, G.; BALIGA, M.; VENKATESH, P.; ULLOOR, J. Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. **Radiation Research**, v.160, n.5, p.584-592, 2003. DOI: 10.1667/RR3057.

JUSTO, O.R.; MORAES, A.M.; BARRETO, G.P.M.; MERCADANTE, A.Z.; VIEIRA E ROSA, P.T. Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Química Nova**, v.31, n.7, p.1699-1705, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000700019.

KARABEGOVIĆ, I.T.; STOJIČEVIĆ, S.S.; VELIČKOVIĆ, D.T.; TODOROVIĆ, Z.B.; NIKOLIĆ, N.Č.; LAZIĆ, M.L. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. **Industrial Crops and Products**, v.54, p.142-148, 2014. DOI 10.1016/j.indcrop.2013.12.047.

KARNA, P.; CHAGANI, S.; GUNDALA, S.R.; RIDA, P.C.G.; ASIF, G.; SHARMA, V.; GUPTA, M.V.; ANEJA, R. Benefits of whole ginger extract in prostate cancer. **British Journal of Nutrition**, v.107, n.4, p.473-484, 2012. DOI: 10.1017/S0007114511003308.

LEVAN, A. The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. **Hereditas**, v.24, n.4. p.471-486, 1938. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.x

_____. Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. **Nature**, v.156, p.751-752, 1945. DOI: 10.1038/156751a0.

LIRA, G. **Conhecendo o Estado de Mato Grosso**: IV microrregião de Alta Floresta, Mato Grosso, 2011. 38p.

MA, TH; XU, Z.; XU, C.; McCONNELL, H.; RABAGO, E.V.; ARREOLA, G.A.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research**, v.334, n.2, p.185-195, 1995. DOI: 10.1016/0165-1161(95)90010-1.

MOREIRA, M.L.C.; VASCONCELOS, T.N.N. **Mato Grosso**: solos e paisagens. Cuiabá: Entrelinhas, 2007. 271p.

OLIVEIRA, V.B.; ZUCHETTO, M.; OLIVEIRA, C.F.; PAULA, A.F.S.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, Dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, supl.I, p.230-239, 2016. DOI: 10.1590/1983-084x/15_106.

PALATTY, P.L.; HANIADKA, R.; VALDER, B.; ARORA, R.; BALIGA, M.S. Ginger in the prevention of nausea and vomiting: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.53, n.7, p.659-669, 2013. DOI: 10.1080/10408398.2011.553751.

PIRES, N.D.M.; SOUZA, I.R.P.; PRATES, H.T.; FARIA, T.C.L.D.; PEREIRA FILHO, I.A.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.55-65, 2001.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, v.18, p.49-53, 1993. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1993.t01-3-00049.x.

ROGERO, S.O.; LUGÃO, A.B.; IKEDA, T.I.; CRUZ, Á.S. Teste *in vitro* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v.6, n.3, p.317-320, 2003. DOI: 10.1590/S1516-14392003000300003.

SÁ JR. P.F.; MUNIZ, E.B.; PEREIRA, N.A.; OLIVEIRA, M.A.S. Atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos aquosos, hidroalcoólicos e alcoólicos de espécies da Anarcadiaceae. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.15, n.1, p.56-61, 2016. DOI: 10.9771/cmbio.v15i1.14098.

SALES, M.D.C.; SARTOR, E.B.; GENTILLI, R.M.L. Etnobotânica e etnofarmacologia: medicina tradicional e bioprospecção de fitoterápicos. **Salus Journal Health Sciences**, v.1, n.1, p.17-26, 2015. DOI:10.5935/2447-7826.20150003.

SANTOS, P.L.; PRANDO, M.B.; MORANDO, R.; PEREIRA, G.V.N.; KRONKA, A.Z. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.17, p.2562-2576, 2013.

SHIN, H.R.; KIM, J.Y.; YUN, T.K.; MORGAN, G.; VAINIO, H. The cancer-preventive potential of *Panax ginseng*: a review of human and experimental evidence. **Cancer Causes & Control**, v.11, n.6, p.565-576, 2000.

SILVA, F.D.B.; SALES, M.A.G.; SÁ, O.R.M.; SANTANA, G.M.; DEUS, M.S.M.; CASTRO E SOUSA, J.M.C.; FERREIRA, P.M.P.; PERON, A.P. Potencial citotóxico, genotóxico e citoprotetor de extratos aquosos de *Caesalpinia pyramidalis* Tul., *Caesalpinia ferrea* Mart., e *Caesalpinia pulcherrima* Sw.. **Revista Brasileira de Biociências**, v.13, n.2, p.101-109, 2015.

SOUSA, L.S.; SILVA, Í.R.C.; ASSIS, D.J.; PASCOAL, D.R.C.; DRUZIAN, J.I. Estudo prospectivo sobre as propriedades terapêuticas do *Zingiber officinale* (gengibre) com ênfase na ação antimicrobiana. **GEINTEC**, v.3, n.5, p.427-436, 2013. DOI: 10.7198/geintec.v3i5.332.

STURBELLE, R.T.; PINHO, D.S.; 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. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.3, p.409-415, 2010. DOI: 10.1590/S0102-695X2010000300019.

SHUKLA, Y.; SINGH, M.; Cancer preventive properties of ginger: a brief review. **Food and Chemical Toxicology**, v.45, n.5, p.683-690, 2007. DOI: 10.1016/j.fct.2006.11.002.

TIWARI, P.; KUMAR, B.; KAUR, M.; KAUR, G.; KAUR, H. Phytochemical screening and extraction: a review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v.1, n.1, p.98-106, 2011.

USHA, N. S. P.; KRISHNAPURA, S. Gastrointestinal protective effect of dietary spices during ethanol-induced oxidant stress in experimental rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v.35, n.2, p.134-141, 2010. DOI: 10.1139/H09-133.

VASCONCELOS, E.S.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, T.; CRUZ, C.D. Estimativas de parâmetros genéticos da qualidade fisiológica de sementes de genótipos de soja produzidas em diferentes regiões de Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.1, p.65-76, 2012. DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n1p65.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v.29, n.2, p.326-337, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000200025.

3.4. CONHECIMENTO E UTILIZAÇÃO DE *Zingiber officinale* ROSCOE EM ALTA FLORESTA/MT.

Resumo – (Conhecimento e utilização de *Zingiber officinale* Roscoe em Alta Floresta/MT). O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) é uma planta utilizada como condimento e fitoterápico. Como fitoterápico é utilizado por meio de preparações tradicionais e medicamentos ou produtos fitoterápicos. A utilização das preparações tradicionais segue a cultura popular, um patrimônio cultural a ser preservado. O gengibre consta da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) e algumas de suas propriedades farmacêuticas já foram comprovadas. Diante do exposto, este estudo teve por objetivo realizar um levantamento quanto a utilização do gengibre como fitoterápico por moradores de Alta Floresta, MT. Informações socioeconômicas e relativas à utilização do gengibre foram obtidas por meio de entrevista estruturada e semiestruturada e observação participativa. Os resultados foram avaliados qualitativamente e quantitativamente com a concordância de uso entre os entrevistados. Os representantes das famílias entrevistadas são, em sua maioria, do sexo feminino (80,39%), com idade entre 21 e 40 anos (50,98%) e todos declararam conhecer e utilizar o gengibre como fitoterápico, sendo que informações quanto as formas de uso são obtidas, em 90,20% dos casos, junto ao núcleo familiar. As maiores concordâncias de uso entre os entrevistados, na categoria medicinal, foram para o tratamento de gripe (CUP_c=53%) e infecção de garganta (CUP_c=51%). Os resultados deste estudo reafirmam a necessidade de pesquisas científicas que registrem a utilização de plantas medicinais, preservando assim o patrimônio cultural e subsidiando pesquisas que visem o registro de fitoterápicos.

Palavras-chave: Fitoterápico, gengibre, patrimônio cultural.

Abstract – (Local knowledge and usage of *Zingiber officinale* Roscoe in the municipality of Alta Floresta, Mato Grosso state, Brazil.) Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) is a plant used in herbal medicine and as a condiment. In herbal medicine it is used in traditional medicine and in phytotherapeutic products. Traditional preparations of ginger are a form of cultural heritage which should be preserved. Ginger appears in the National Report on Medicinal Plants of Interest to the Brazilian Health Service (RENISUS), and some of its pharmaceutical properties have already been examined. This study aimed to survey the use of ginger in phytotherapy amongst residents of the municipality of Alta Floresta, Mato Grosso state, Brazil. Socio-economic information related to the use of ginger was obtained through structured and semi-structured interviews and participative observation. Results were evaluated qualitatively and quantitatively with respect to overlap between usages reported by respondents. The majority of the representatives of the families interviewed were female (80.39%), mostly between the ages of 21 and 40 years (50.98%). All respondents affirmed their awareness of ginger and its phytotherapeutic properties; in 90.20% of cases knowledge of the medicinal properties of ginger was obtained from family members. Medicinal usages most frequently reported were treatment of

colds and flu (CUP_c=53%) and treatment of throat infections (CUP_c=51%). The results of this study reaffirm the importance of further surveys of the usage of medicinal plants, to preserve cultural heritage and also to direct future research of phytotherapy and the species used in herbal medicine.

Keywords: Phytotherapeutic, ginger, cultural heritage.

Introdução

A utilização de recursos vegetais para prevenção, tratamento ou cura de doenças é uma prática milenar, sendo que os primeiros registros datam de 4000 a.C., enquanto o primeiro registro médico data de 2100 a.C. (FIRMO et al., 2011), constituindo-se assim na forma mais antiga de práticas medicinais.

Plantas utilizadas pela medicina tradicional representam um recurso biológico utilizado na produção de remédios caseiros e como matéria prima pela indústria farmacêutica. Nas últimas décadas, a medicina tradicional, considerada como popular e informal, foi classificada como alternativa ou complementar, quando os tratamentos substituem ou são utilizados juntamente com os indicados pela medicina convencional (SPADACIO; BARROS, 2009).

Terapias tradicionais por meio de recursos vegetais estão associadas aos saberes populares, sendo estes construídos ao longo da história e transmitidos ao longo das gerações. Esses saberes constituem, portanto, um patrimônio cultural que deve ser preservado, haja vista que compreendem um vasto acervo de conhecimento sobre plantas utilizadas pela medicina tradicional, suas indicações e formas de preparo.

Até o século XIX, os recursos terapêuticos procediam essencialmente de plantas medicinais e extratos vegetais, contudo, no século XX, tem início a prática de isolar os princípios ativos e produzir medicamentos alopáticos, bem como consolidam-se, no ambiente acadêmico, investigações na área de plantas medicinais e registros do patrimônio cultural a elas relacionadas (FERNANDES, 2004).

Embora o uso de plantas medicinais geralmente siga a sabedoria popular, atualmente existe um grande número de medicamentos e produtos fitoterápicos disponível no mercado. De acordo com a ANVISA (BRASIL, 2014), medicamento fitoterápico é aquele que foi testado clinicamente, enquanto o produto fitoterápico tem sua eficiência comprovada pela demonstração de tempo de uso mediante publicações técnico-científicas.

Registros científicos da utilização de plantas como fitoterápicos são importantes não só por preservarem os saberes populares, mas também por fornecerem informações úteis a pesquisas na área farmacêutica. Algumas plantas medicinais como, por exemplo, o ginseng (*Panax spp.*) e o gengibre (*Z.*

officinale) são utilizadas pela medicina tradicional e exploradas pela indústria farmacêutica e o registro de sua utilização data de 1500 a.C. no manuscrito Egípcio “Ebers Papyrus” e no texto sagrado “Ayurveda”, respectivamente (FIRMO et al., 2011).

No Brasil, o conhecimento atual sobre o uso tradicional de plantas medicinais é fruto de uma mistura, uma fusão, do conhecimento complexo que os nativos detinham com aquele trazido pelos colonizadores europeus e por africanos escravizados (ALMEIDA, 2011).

A utilização de plantas medicinais é uma prática comum por parte da população brasileira, sendo relacionada tanto a fatores econômicos quanto a mudanças no estilo de vida em busca de mais qualidade (BRUNNING et al., 2012).

Dentre as diversas plantas utilizadas na fitoterapia tradicional, está o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), sendo que algumas de suas propriedades terapêuticas já foram comprovadas cientificamente (SOUSA et al., 2013), e atualmente, o mesmo consta da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), cujo objetivo é orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a utilização de fitoterápicos de forma segura e eficaz, tornando-se assim mais uma ferramenta a ser utilizada em estratégias para melhoria na qualidade da saúde pública no Brasil (BRASIL, 2009).

Z. officinale é uma monocotiledônea herbácea, perene, com rizoma revestido por epiderme de cor pardacenta, raízes adventícias, pseudocaulis eretos e pedúnculos com flores hermafroditas (ELPO; NEGRELLE, 2004). É originário da Ásia e cultivado comercialmente apenas pelos estados do Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (SOUSA et al., 2013). Todavia, o gengibre é cultivado por pequenos produtores e mantenedores de quintais, urbanos ou rurais, para consumo próprio ou comercialização em comércio ou feiras locais, sendo utilizado tanto para fins medicinais quanto culinários.

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo realizar um levantamento quanto ao conhecimento tradicional e utilização de *Z. officinale* pela população de Alta Floresta, MT, e assim contribuir para preservação do patrimônio cultural e servir de subsídio para pesquisas que visem o registro de produtos fitoterápicos.

Material e Métodos

Área de estudo

A pesquisa foi realizada nas comunidades escolares das Escolas Estaduais Jardim Universitário (EE J.U.) e Rui Barbosa (EE R.B.), localizadas, respectivamente, nos bairros Jardim Universitário e Cidade Alta, em Alta Floresta, norte de Mato Grosso (Figura 1). O município está localizado a 797 km da capital do Estado, Cuiabá, e possui, aproximadamente, 50.189 habitantes (IBGE, 2017). O clima do município é do tipo Am (tropical e subtropical), precipitação pluviométrica anual entre 2500 e 2100 milímetros e temperaturas médias superiores a 26 °C (ALVARES et al., 2013).

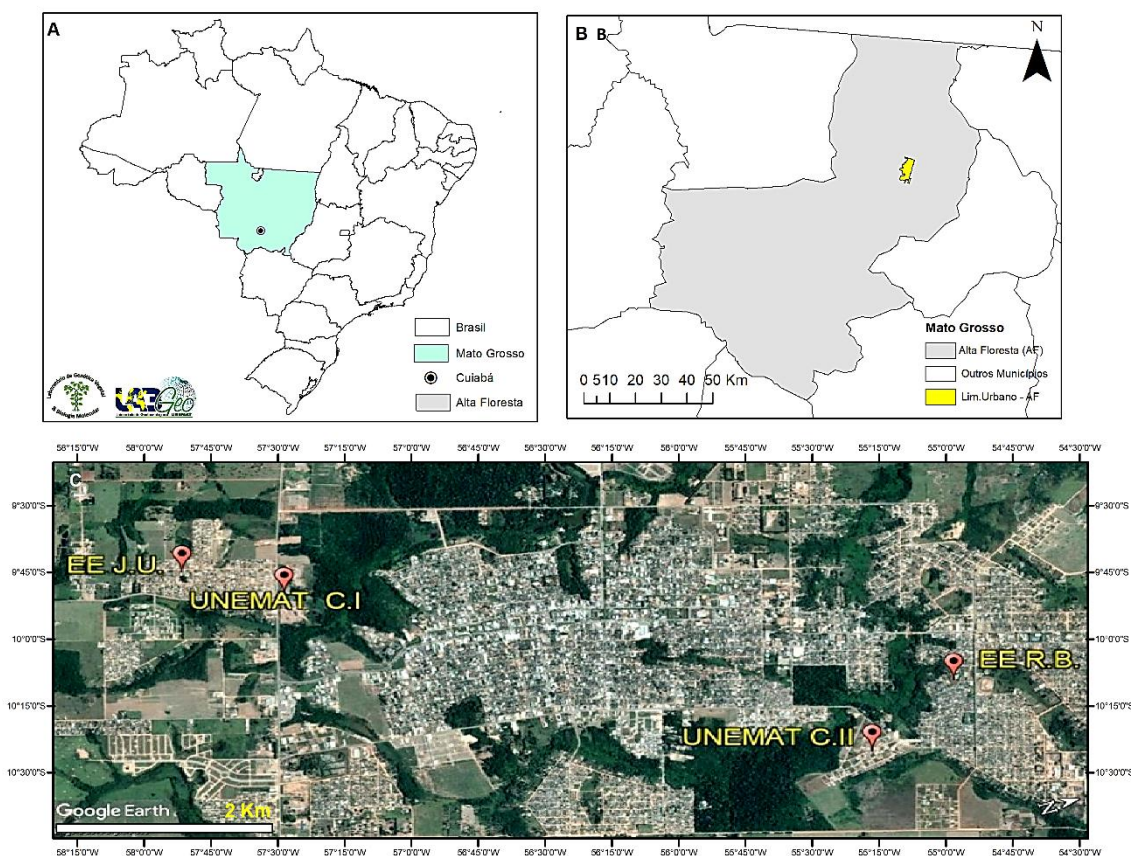


Figura 1. Localização geográfica do município de Alta Floresta e das comunidades escolares participantes da pesquisa.

Metodologia

O estudo foi realizado entre os meses de agosto de 2017 e janeiro de 2018 a partir de entrevistas realizadas com estudantes de Ensino Fundamental

e Médio das Escolas Estaduais Jardim Universitário (EE J.U.) e Rui Barbosa (EE R.B.) do município de Alta Floresta, MT.

O projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) sob o número 52641915.8.0000.5166, parecer consubstanciado 1.507.091 aprovado em 19 de dezembro de 2016 (Anexo A).

A primeira etapa da pesquisa consistiu em um levantamento, junto a EE J.U e a EE R.B., quanto ao uso do gengibre como planta medicinal. No primeiro contato com os alunos, o projeto de pesquisa foi apresentado e, logo em seguida, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A). Em se tratando de alunos menores de idade, o TCLE foi encaminhado aos responsáveis para que autorizassem sua participação na pesquisa (Apêndice B). Após a assinatura deste TCLE pelos responsáveis, os alunos menores de idade receberam um Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) (Apêndice C). Ao receber o TCLE ou o TALE, os alunos ou responsáveis eram livres para concordar, ou não, em participar da pesquisa. Após a assinatura dos termos, os alunos responderam à um questionário onde, além das informações pessoais, foram questionados sobre o conhecimento e utilização do gengibre como planta medicinal (Apêndice D).

Na segunda etapa da pesquisa foram realizadas visita às famílias de alunos que informaram utilizar o gengibre como planta medicinal. Nesta visita, o projeto foi explicado novamente e o TCLE apresentado. Assim como na primeira etapa, havia a liberdade em escolher participar ou não da entrevista. Após a assinatura do TCLE, a pesquisa teve continuidade com a realização de entrevista estruturada e semiestruturada, bem como com a observação participativa (MINAYO, 2014) (Apêndice E).

O guia de entrevista foi dividido em duas partes: a primeira relativa a informações pessoais e socioeconômicas e a segunda, relacionada ao conhecimento e utilização do gengibre. As respostas dos entrevistados foram registradas e analisadas quantitativamente para avaliar a importância relativa do uso pelos entrevistados.

Os Índices de Concordância de Uso (ICU) foram calculados de acordo com Amorozo e Gély (1988), com adequações. A porcentagem de concordância para cada forma de utilização (CUP), revelou a importância relativa do gengibre

como fitoterápico. Para a variável CUP, foram considerados as formas de utilização citadas por 3 ou mais entrevistados. Para obtenção do NECUP (número de entrevistados que citam determinada forma de uso) foram contabilizadas todas as formas de utilização. Os cálculos foram realizados de acordo com a equação 1:

$$CUP = \frac{NECUP}{NECC} \times 100 \quad (1)$$

onde,

CUP = % de concordância para cada utilização

NECUP = nº de entrevistados que citam determinada utilização para o gengibre

NECC = nº de entrevistados que citam a categoria de utilização

Posteriormente, foram calculados os fatores de correção para cada uma das categorias (equação 2) e o valor de importância de cada forma de utilização relativo à categoria mais citada pelos entrevistados (equação 3).

$$FC = \frac{NECC}{NECCM} \quad (2)$$

$$CUP_c = CUP \times FC \quad (3)$$

sendo,

FC = fator de correção da categoria

NECC = nº de entrevistados que citam a categoria de utilização

NECCM = nº de entrevistados que citaram a categoria mais utilizada

CUP_c = valor de importância relativo à forma de utilização mais citada pelos entrevistados

Resultados e Discussão

A primeira etapa da pesquisa foi realizada com 138 alunos do Ensino Médio da Modalidade Regular e do Ensino Fundamental e Médio da Modalidade de Educação de Jovens e Adultos (EJA). Dos alunos entrevistados, 58,70% tem idade igual ou inferior a 20 anos, 78,26% cursam o Ensino Médio, 58,70% são solteiros e 57,25% são do sexo feminino (Figura 2).

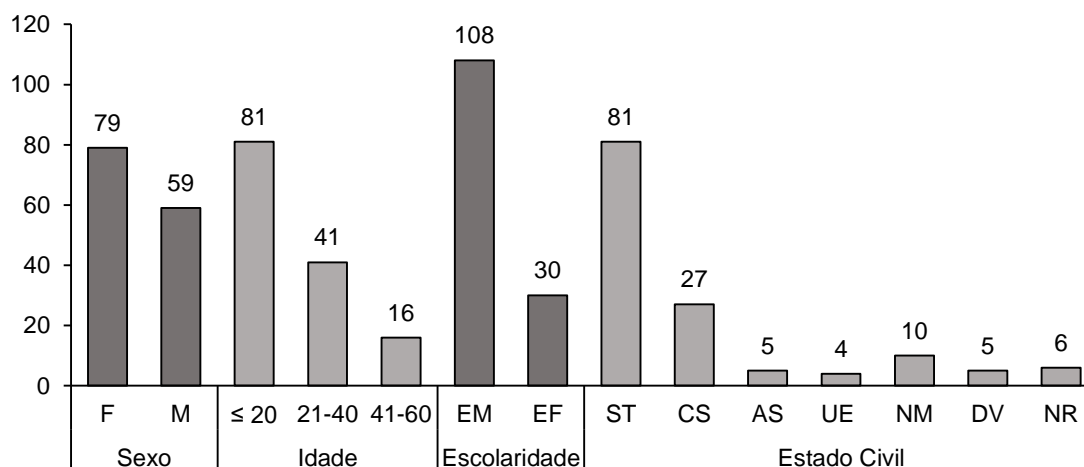


Figura 2. Distribuição dos alunos entrevistados, segundo o sexo, a idade, a escolaridade e o estado civil. F = Feminino; M = Masculino; EM = Ensino Médio; EF = Ensino Fundamental; ST = Solteiro; CS = Casado; AS = Amasiado; UE = União Estável; NM = Namorando; DV = Divorciado; NR = Não Responderam.

Quando questionados quanto ao conhecimento sobre a planta em estudo, 94,20% declaram conhece-la e 70,29% informaram que a família a utiliza como fitoterápico, embora apenas 21,81% a possuam plantada em sua propriedade (Figura 3).

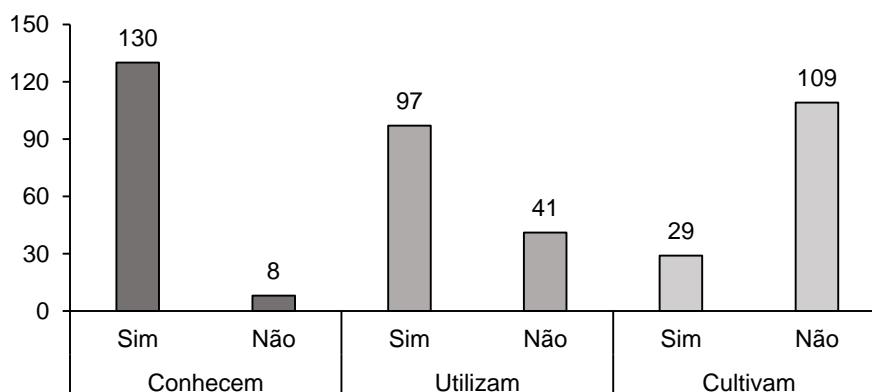


Figura 3. Classificação das respostas quanto ao conhecimento sobre o *Zingiber officinale*.

Dentre os entrevistados que informaram utilizar o *Z. officinale* como fitoterápico, foram escolhidos, aleatoriamente, 60 questionários, dos quais as famílias dos informantes foram visitadas para realização da segunda etapa da pesquisa, sendo que cinco (5) famílias optaram por não participar e quatro (4) não foram encontradas.

Os entrevistados na segunda etapa da pesquisa são, na sua maioria, do sexo feminino (80,39%), casados (49,02%), tem entre 21 e 40 anos de idade (50,98%) e são naturais, principalmente, dos Estados de Mato Grosso (33,33%) e Paraná (27,45%) (Figuras 4A e 4B).

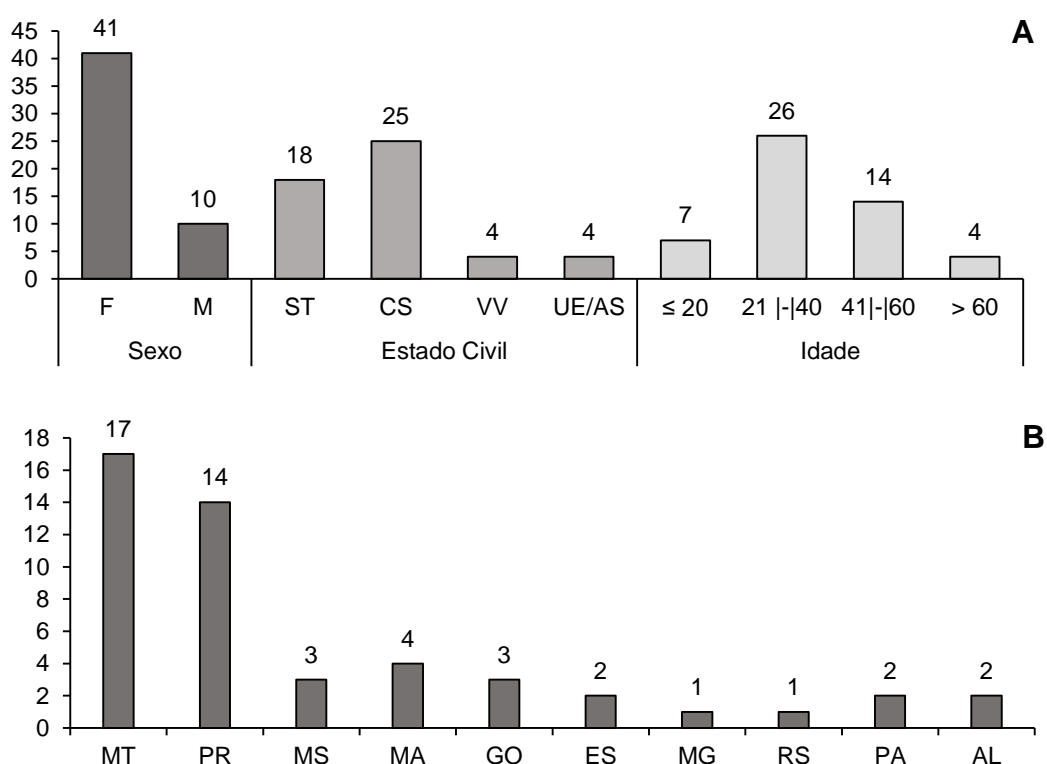


Figura 4. Distribuição dos entrevistados de acordo com: (A) sexo, estado civil e idade. (B) naturalidade. F = Feminino; M = Masculino; ST = Solteiro; CS = Casado; VV = Viúvo; UE/AS = União Estável/Amasiado; MT = Mato Grosso; PR = Paraná; MS = Mato Grosso do Sul; GO = Goiás; ES = Espírito Santo; MG = Minas Gerais; RS = Rio Grande do Sul; PA = Pará; AL = Alagoas.

A naturalidade dos entrevistados está relacionada ao processo de colonização do município e à idade dos mesmos, haja vista que pequenos agricultores e/ou comerciantes da região Sul do país se deslocaram para o norte

de MT em busca de melhor qualidade de vida e seus filhos aqui permaneceram e constituíram família (SELUCHINESK, 2008).

Os entrevistados residem na zona urbana do município de Alta Floresta e se encontram distribuídas em 15 bairros distintos, sendo que 33,33% residem no mesmo bairro há cinco anos, ou menos (Figura 5A e 5B). O número de moradores por residência variou entre um (1) e onze (11), sendo que em 35,29% eram apenas três moradores.

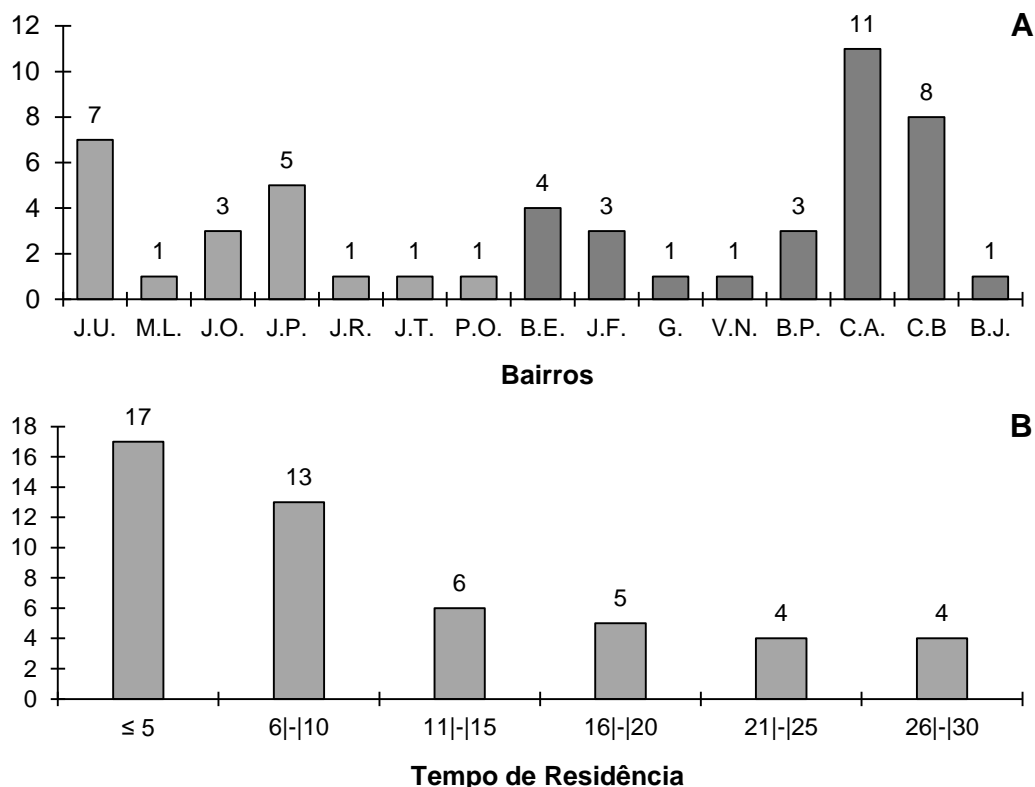


Figura 5. Distribuição dos entrevistados quanto ao: (A) bairro do município de Alta Floresta em que residem e (B) tempo de residência no mesmo. J.U. = Jardim Universitário; M.L. = Mirante dos Lagos; J.O. = Jardim das Oliveiras; J.P. = Jardim das Primaveras; J.R. = Jardim Renascer; J.T.: Jardim Tropical; P.O. Parque dos Oitis; B.E. = Boa Esperança; J.F. = Jardim das Flores; G. = Guaraná; V.N.=Vila Nova; B.P. = Bom Pastor; C.A. = Cidade Alta; C.B. = Cidade Bela; B.J. = Bom Jardim.

Quanto à escolaridade, 29,41% dos entrevistados possuem apenas o Ensino Fundamental Incompleto, dois (2) se declararam analfabetos e apenas três (3) possuem o Ensino Superior Completo. Foram citadas 19 ocupações/fontes de renda distintas, dentre as quais se destacam “do lar”

(39,21%) e autônomo (14,26%). A renda das famílias entrevistadas é, em sua maioria, de até três (3) salários mínimos (92,16%), sendo que do total de famílias, 11 são beneficiárias de algum programa de assistência social.

Todos os entrevistados declararam conhecer a planta *Z. officinale* e utilizar apenas o rizoma como fitoterápico, dos quais 38 declararam utilizar também como ingrediente culinário (Tabela 1). Apenas 20 entrevistados possuem a planta em sua propriedade e declararam que não existem recomendações especiais para o plantio, exceto que o mesmo deve ser feito em terra fofa.

Entrevistado 01: “Cultivar em local de terra fofa.”

Entrevistado 02: “(...) planta agora por esse tempo, uma terra bem adubada. Planta, rega, cuida e quando for lá pro mês de junho e julho colhe-se as raízes.”

Quanto aos que não possuem, 74,19% adquirem o rizoma da planta no comércio local (mercado ou feira) e os demais, com familiares, vizinhos e amigos.

Tabela 1. Categorias de uso e formas de utilização de *Zingiber officinale* no município de Alta Floresta. N.C. = número de citações

Categoria	Formas de Utilização	N.C.	Preparo
Culinária	Tempero	22	Ralado; Em pó
	Quentão	7	Decocção
	Bala	5	Decocção
	Bolachas	1	Ralado
	Bolos	1	Ralado
	Licor	1	Decocção
	Rapadura	1	Decocção
Medicinal	Infecção de Garganta	26	Infusão; Decocção; <i>In natura</i>
	Gripe	27	Infusão; Decocção; Xarope
	Inflamações	4	Infusão; Maceração
	Problemas digestivos	3	Infusão; <i>In natura</i>
	Emagrecer	13	<i>In natura</i> ; Infusão
	Câncer	3	<i>In natura</i>
	Tosse	3	Infusão; Decocção
	Resfriado	12	Infusão; Decocção
	Queda de cabelo	1	Azeite
	Diabetes	1	Decocção
	Cólica	1	Decocção
	Virose	1	Decocção

As formas de utilização do *Zingiber officinale* com maior concordância (CUP_c) entre os entrevistados estão apresentadas na tabela 2, destacando-se a gripe e a dor de garganta (53% e 51%, respectivamente) na categoria medicinal e o tempero (43%), na categoria culinária.

Tabela 2. Principais formas de utilização e concordância quanto a utilização de *Zingiber officinale* no município de Alta Floresta, Mato Grosso. NECC = nº de entrevistados que citaram a categoria de utilização; NECUP = nº de entrevistados que citaram determinada forma de utilização; CUP = índice de concordância de uso principal; FC = fator de correção; CUP_c = CUP corrigido.

Categoria	Formas de utilização	NECC	NECUP	CUP	FC	CUP_c
Medicinal	Infecção de Garganta	51	26	51%	1,00	51%
	Gripe	51	27	53%	1,00	53%
	Inflamações	51	4	8%	1,00	8%
	Problemas digestivos	51	3	6%	1,00	6%
	Emagrecer	51	13	25%	1,00	25%
	Câncer	51	3	6%	1,00	6%
	Tosse	51	3	6%	1,00	6%
	Resfriado	51	12	24%	1,00	24%
Culinária	Tempero	38	22	58%	0,75	43%
	Quentão	38	7	18%	0,75	14%
	Bala	38	5	13%	0,75	10%

As principais aplicações do gengibre como fitoterápico citadas neste estudo foram para gripe e infecções de garganta, sendo, portanto, concordantes com as indicações de utilização do gengibre presentes no estudo etnofarmacológico realizado nos biomas da Amazônia e Mata Atlântica (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002), no levantamento do uso de plantas medicinais por moradores de Governador Valadares, MG (BRASILEIRO et al., 2008), de Demerval Lobão, PI (AGUIAR; BARROS, 2012), de Lima Duarte, MG (OLIVEIRA; MENINI NETO, 2012) e no distrito de Marudá, PA (FLOR; BARBOSA, 2015). Marmitt et al. (2015), ao realizarem levantamento sistemático em três bancos de dados quanto a pesquisas relativas às plantas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) no tratamento de infecções/inflamações, apontam o *Z. officinale* como a segunda planta mais pesquisada para esta finalidade, ficando atrás

apenas do número de estudos sobre *Curcuma longa* L., que também pertence à família Zingiberaceae.

A principal fonte de informação sobre as propriedades medicinais do *Z. officinale* citada pelos entrevistados foi a família (90,20%), sendo estas as responsáveis por transmitir não apenas informações quanto as indicações como também quanto a forma de preparo dos fitoterápicos. A importância da família na manutenção do patrimônio cultural relacionado as plantas medicinais também foi relatada por Paulino et al. (2011) ao realizar levantamento quanto ao conhecimento sobre plantas medicinais entre alunos da Universidade Federal do Semi Arido, em Mossoró, Rio Grande do Norte, e por Oliveira et al. (2016) ao realizarem pesquisa junto a alunos de Ensino Fundamental de duas escolas de Viçosa do Ceará.

Além da decocção e infusão, que são as formais mais comuns de preparação do gengibre como fitoterápico, foram descritas também a preparação de xarope e diferentes formas de consumo *in natura* (Apêndice F). Um dos entrevistados relatou utilizar o azeite de gengibre para combater a queda de cabelo:

Entrevistado 35: “maceta o gengibre e frita no óleo de oliva. Quando tostar, desligar o fogo e filtrar o óleo para passar no cabelo.”

Conclusões

O conhecimento dos entrevistados neste estudo quanto a forma de utilização e modo de preparo do *Zingiber officinale* como fitoterápico é transmitido ao longo das gerações, o que reafirma a importância de pesquisas científicas que registram esse patrimônio cultural, e assim, além de preservá-lo, contribuam para estudos e pesquisas com intuito de promover o registro de produtos fitoterápicos.

A principal categoria de utilização do *Zingiber officinale* pelos entrevistados é a medicinal, embora muitos também o utilizem na culinária

Referências Bibliográficas

AGUIAR, L.C.G.G.; BARROS, R.F.M. Plantas medicinais cultivadas em quintais de comunidades rurais no domínio do cerrado piauiense (Município de Demerval Lobão, Piauí, Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.3, p.419-432, 2012.

ALMEIDA, M.Z. **Plantas medicinais**. 3.ed. Salvador: EDUFBA, 2011. 221p.

ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, n.6, p.711-728, 2013. DOI: 10.1127/0941-2948/2013/0507.

AMOROZO, M.C.M.; GÉLY, A. Uso de plantas medicinais por caboclos do Baixo Amazonas. Barcarena, PA, Brasil. **Boletim do Museu Emílio Goeldi**, Série Botânica, Suplemento, v.4, p.47-129, 1988.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Porta da Saúde. **Plantas Medicinais de Interesse ao SUS: RENISUS**. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/junho/06/renisus.pdf>>. Acesso em 8 jan 2018.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada n.26, 13 de maio de 2014. **O registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos**. Brasília, DF, mai 2014.

BRASILEIRO, B.G.; PIZZIOLLO, V.R.; MATOS, D.S.; GERMANO, A.M.; JAMAL, C.M. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no "Programa de Saúde da Família", Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.4, p.629-633, 2008.

BRUNING, M.C.R.; MOSEGUI, G.B.G.; VIANNA, C.M.M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciências & Saúde Coletiva**, v.17, n.10, p.2675-2685, 2012. DOI: 10.1590/S1413-81232012001000017.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: UNESPE, 2002. 600p.

ELPO, E.R.S.; NEGRELLE, R.R.B. *Zingiber officinale* Roscoe: aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p.27-32, 2004.

FERNANDES, T.M. **Plantas Medicinais**: memória da ciência no Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2004. 260p.

FIRMO, W.C.A.; MENEZES, V.J.M.; PASSOS, C.E.C.; DIAS, C.N.; ALVES, L.P.L.; DIAS, I.C.L.; SANTOS NETO, M.; OLEA, R.S.G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisas**, v.18, n.esp., p.90-95, 2011.

FLOR, A.S.S.O.; BARBOSA, W.L.R. Sabedoria popular no uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro do sossego no distrito de Marudá-PA. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.17, n.4, Supl.1, p.757-768, 2015.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Panorama - Alta Floresta, IBGE 2017. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/alta-floresta/panorama>>. Acesso em 7 jan 2018.

MARMITT, D.J.; REMPEL, C.; GOETTERT, M.I.; SILVA, A.C. Plantas medicinais da RENISUS com potencial anti-inflamatório: Revisão sistemática em três bases de dados científicas. **Fitos**, v.9, n.2, p.73-150, 2015. DOI: 10.5935/2446-4775.20150011.

MINAYO, M.C.S. **O desafio do conhecimento**: pesquisa qualitativa em saúde. 14.ed. São Paulo: Hucitec, 2014, 407p.

OLIVEIRA, E.R.; MININI NETO, L. Levantamento de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte - MG. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.2, p.311-320, 2012.

OLIVEIRA, I.P.; ARAÚJO, M.P.; MEIRELES, V.J.S.; LEMOS, J.R. Conhecimento de plantas medicinais e relação com o ambiente por alunos de duas escolas de ensino fundamental do município de Viçosa do Ceará, Ceará. **Pesquisa em Educação Ambiental**, v.11, n.1, p.81-93, 2016. DOI: 10.18675/2177-580X.vol11.n1.p.81-93.

PAULINO, R.C.; HENRIQUES, G.P.S.A.; COELHO, M.F.B.; MAIA, S.S.S.S. Conhecimento sobre plantas medicinais entre alunos da Universidade Federal do Semiárido, Mossoró, RN. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.4, p.78-90, 2011.

SELUCHINESK, R.D.C. **De heróis a vilões**: imagem e autoimagem dos colonos da Amazônia mato-grossense. 2008. 263f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável) - Centro de Desenvolvimento Sustentável da Universidade de Brasília. Brasília, 2008.

SOUSA, L.S.; SILVA, Í.R.C.; ASSIS, D.J.; PASCOAL, D.R.C.; DRUZIAN, J.I. Estudo prospectivo sobre as propriedades terapêuticas do *Zingiber officinale* (gengibre) com ênfase na ação antimicrobiana. **GEINTEC**, v. 3, n.5, p.427-436, 2013. DOI: 10.7198/geintec.v3i5.332

SPADACIO, C.; BARROS, N.F. Terapêuticas convencionais e não convencionais no tratamento do câncer: os sentidos das práticas religiosas. **Interface**, v.13, n.30, p.45-52, 2009. DOI: 10.1590/S1414-32832009000300005.

4. CONCLUSÕES GERAIS

Os *primers* ISSR utilizados foram eficientes na detecção de polimorfismo, revelando a existência de variabilidade genética entre os indivíduos de *Zingiber officinale* avaliados neste estudo. Os indivíduos não foram agrupados de acordo com o local de coleta e não foi registrada a presença de duplicatas, indicando que os mesmos podem ser utilizados para composição de uma coleção ativa de germoplasma.

Os extratos aquosos tipo decocto e infuso do rizoma de *Zingiber officinale* diminuíram o vigor da semente de *Lactuca sativa*, embora não tenham inibido significativamente o percentual de germinação.

Os resultados do teste *Allium cepa* demonstraram que os extratos do rizoma de *Zingiber officinale* avaliados possuem potencial citotóxico mas não apresentam potencial genotóxico e que a eficiência dos extratos é influenciada, principalmente, pela metodologia de preparo e concentração utilizada. O potencial antiproliferativo identificado neste estudo indica a necessidade de estudos que explorem essa característica para produção de medicamentos que combatam o câncer.

A principal forma de utilização de *Zingiber officinale* por moradores de Alta Floresta é a medicinal, sendo que o conhecimento quanto as suas propriedades, indicações de tratamento e forma de preparo do medicamento fitoterápico, é transmitido dentro do núcleo familiar, reforçando a importância do conhecimento tradicional e a necessidade de registro do mesmo, visando sua preservação.

APÊNDICES

A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTA FLORESTA



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Unemat pelo telefone: (65) 3221-0067.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Título do projeto: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, EFEITO ALELOPÁTICO, CITOTÓXICO E UTILIZAÇÃO DO GENGIBRE PELA POPULAÇÃO DOS MUNICÍPIOS DE ALTA FLORESTA E PEIXOTO DE AZEVEDO, MT, BRASIL.

Responsável pela pesquisa: Ana Aparecida Bandini Rossi

Endereço e telefone para contato: Setor G - Rua G4 - Centro Nº 413 Cel: (066) 9915-5080

Equipe de pesquisa:

Ana Aparecida Bandini Rossi
Elisa dos Santos Cardoso

O presente estudo objetiva identificar, por meio de entrevistas abertas, semiestruturadas e estruturadas, moradores nos municípios de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, região norte de Mato Grosso que utilizem o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) como fitoterápico. Esta etapa do projeto busca responder as questões: Quais são as enfermidades prevenidas/tratadas com uso do gengibre nos municípios de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, norte de Mato Grosso? Quais as formas de preparo dos 'medicamentos' a base de gengibre? Qual a importância relativa do uso do gengibre no tratamento de enfermidades entre os conhecedores pesquisados? Qual a similaridade de usos do gengibre entre os conhecedores pesquisados?

Os conhecedores serão escolhidos através entrevista realizada com alunos das EE Jardim Universitário e Rui Barbosa. Esta entrevista visa identificar as famílias que utilizam o gengibre como fitoterápico. Posteriormente, será organizada uma Assembleia Geral com a comunidade escolar de cada uma das escolas envolvidas para apresentação do projeto e coleta de assinaturas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE); As famílias que assinarem serão visitadas e as informações socioeconômicas serão obtidas; as entrevistas (abertas, semiestruturadas e estruturadas) serão realizadas nas casas dos conhecedores e também pela observação do participante (ALBUQUERQUE & LUCENA, 2004). As informações



Av. Tancredo Neves – 1095 - Cavalhada
CEP 78.200-000, Cáceres/MT
Tel: (65) 3211 2840
E-mail: cep@unemat.br



serão anotadas em planilhas e gravadas. A pesquisa não apresenta riscos diretos aos participantes, porém pode provocar alguns incômodos (sociais, culturais) aos mesmos, pois serão em um primeiro momento visitados em suas residências ou trabalhos para esclarecimentos da pesquisa e se concordarem em participar, posteriormente, serão visitados novamente para entrevista objetivando identificar os diferentes tipos de uso que fazem do gengibre. Para minimizar, ou evitar, estes riscos, a equipe usará linguagem clara e acessível, utilizando-se de estratégias mais apropriadas à cultura, faixa etária e condição socioeconômica dos participantes da pesquisa, garantindo assim que os danos previsíveis sejam evitados.

Os benefícios advindos desta pesquisa para os participantes serão a socialização e a preservação dos conhecimentos sobre o uso do gengibre como fitoterápico, de modo que este patrimônio cultural não se perca no decorrer do tempo. Os participantes serão esclarecidos a respeito da pesquisa e aqueles que concordarem em participar assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido para início do estudo. A pesquisa só terá início após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP UNEMAT.

Alta Floresta, dezembro de 2017.

Nome _____

Endereço: _____

RG/ou CPF _____

Assinatura do entrevistado ou responsável:

Responsável pela Pesquisa:

B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para os responsáveis por menores de idade.



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O menor _____, sob sua responsabilidade, está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“Caracterização molecular, efeito alelopático, citotóxico e utilização do gengibre pela população dos municípios de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, MT, Brasil”**. Nesta pesquisa pretendemos identificar o uso do gengibre como planta medicinal, bem como sua forma de preparação e indicação de uso, por moradores de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, com intuito de promover registro, preservação e divulgação dos resultados obtidos tanto do saber popular quanto das análises de laboratório. Em laboratório serão realizados testes de alelopatia, citotoxicidade e genotoxicidade para identificar se o gengibre, de acordo com a forma de preparo e também às concentrações, pode ser tóxico à espécie humana ou à germinação e desenvolvimento de plantas, no intuito de diminuir os riscos do uso como fitoterápico e possível aplicação na agroecologia. Ainda em laboratório será realizada a caracterização molecular para avaliação da biodiversidade.

O motivo que nos leva a estudar esse assunto é o fato do gengibre ser uma planta utilizada como medicamento há milhares de anos e o conhecimento popular à esse respeito pode se perder ao longo do tempo, caso não seja feito um registro documental. Sendo o gengibre utilizado como fitoterápico, são necessários estudos que analisem a forma de preparo e as concentrações para que não venham a causar prejuízo à espécie humana (citotoxicidade e genotoxicidade) e que possam ser utilizadas como alternativas a agroquímicos (alelopatia) na agroecologia ou em quintais urbanos. Para participar desta pesquisa, o menor sob sua responsabilidade não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Ele será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. O (A) Sr. (a), como responsável pelo menor, poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação dele a qualquer momento. A participação dele é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a). O pesquisador irá tratar a identidade do menor com padrões profissionais de sigilo. O menor não será identificado em nenhuma publicação. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em riscos mínimos, pois a entrevista, assembleia geral e posterior visita à residência dos participantes podem gerar alguns incômodos (sociais e/ou culturais). Visando evitar ou mitigar esses riscos, os pesquisadores farão uso de linguagem clara e simplificada, adotando uma postura que respeite a cultura, a faixa etária e a condição socioeconômica dos

1



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



participantes da pesquisa, evitando assim os danos previsíveis. A pesquisa contribuirá para resgate, preservação e socialização do conhecimento popular sobre o uso do gengibre como planta medicinal, além de avaliar sua possível toxicidade relacionada à forma de preparo e concentração, bem como apresentar o gengibre como uma alternativa ao uso de agroquímicos e analisar sua diversidade genética.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada. O nome ou o material que indique a participação do menor não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável, por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Escola Estadual _____ e a outra será fornecida ao Sr. (a).

Eu, _____, portador (a) do documento de Identidade _____, responsável pelo menor _____, fui informado (a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas.

Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar a decisão do menor sob minha responsabilidade de participar, se assim o desejar. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Alta Floresta, _____ de _____ de 20 ____.

Assinatura do (a) Responsável

Assinatura do (a) Pesquisador (a)

Nome do Pesquisador Responsável: Ana Aparecida Bandini Rossi

Endereço: Rua G4, nº413, Setor G- Centro / CEP: 78.580-000 /Alta Floresta - MT

Fone: (66) 3521 5080

E-mail: anabanrossi@unemat.br

2



Av. Tancredo Neves – 1095 - Cavalhada
CEP 78.200-000, Cáceres/MT
Tel: (65) 3211 2840
E-mail: cep@unemat.br



C- Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE)



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“Caracterização molecular, efeito alelopático, citotóxico e utilização do gengibre pela população dos municípios de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, MT, Brasil”**. Nesta pesquisa pretendemos identificar o uso do gengibre como planta medicinal, bem como sua forma de preparação e indicação de uso, por moradores de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, com intuito de promover registro, preservação e divulgação dos resultados obtidos tanto do saber popular quanto das análises de laboratório. Em laboratório serão realizados testes de alelopatia, citotoxicidade e genotoxicidade para identificar se o gengibre, de acordo com a forma de preparo e também às concentrações, pode ser tóxico à espécie humana ou à germinação e desenvolvimento de plantas, no intuito de diminuir os riscos do uso como fitoterápico e possível aplicação na agroecologia. Ainda em laboratório será realizada a caracterização molecular para avaliação da biodiversidade.

O motivo que nos leva a estudar esse assunto é o fato do gengibre ser uma planta utilizada como medicamento há milhares de anos e o conhecimento popular à esse respeito pode se perder ao longo do tempo, caso não seja feito um registro documental. Sendo o gengibre utilizado como fitoterápico, são necessários estudos que analisem a forma de preparo e as concentrações para que não venham a causar prejuízo à espécie humana (citotoxicidade e genotoxicidade) e que possam ser utilizadas como alternativas a agroquímicos (alelopatia) na agroecologia ou em quintais urbanos. Para esta pesquisa adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s): Você responderá ao questionamento sobre o fato de sua família utilizar, ou não, o gengibre como planta medicinal.

Para participar desta pesquisa, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo e nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido(a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a). O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em riscos mínimos, pois a entrevista, assembleia geral e posterior visita à residência dos participantes podem gerar alguns incômodos (sociais e/ou culturais). Visando evitar ou mitigar esses riscos, os pesquisadores farão uso de linguagem clara e simplificada,

1



Av. Tancredo Neves – 1095 - Cavalhada
CEP 78.200-000, Cáceres/MT
Tel: (65) 3211 2840
E-mail: cep@unemat.br





ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



adotando uma postura que respeite a cultura, a faixa etária e a condição socioeconômica dos participantes da pesquisa, evitando assim os danos previsíveis. A pesquisa contribuirá para resgate, preservação e socialização do conhecimento popular sobre o uso do gengibre como planta medicinal, além de avaliar sua possível toxicidade relacionada à forma de preparo e concentração, bem como apresentar o gengibre como uma alternativa ao uso de agroquímicos e analisar sua diversidade genética.

Os resultados estarão à sua disposição quando a pesquisa for finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais: sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, portador (a) do Documento de Identidade _____ (se já tiver documento), fui informado (a) dos objetivos da presente pesquisa, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar dessa pesquisa. Recebi o termo de assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

_____, _____ de _____ de 20____.

Assinatura do (a) menor

Assinatura do (a) pesquisador (a)

Nome do Pesquisador Responsável: Ana Aparecida Bandini Rossi

Endereço: Rua G4, nº413, Setor G- Centro / CEP: 78.580-000 /Alta Floresta - MT

Fone: (66) 3521 5080

E-mail: anabanrossi@unemat.br

2



Av. Tancredo Neves – 1095 - Cavalhada
CEP 78.200-000, Cáceres/MT
Tel: (65) 3211 2840
E-mail: cep@unemat.br



D – Questionário aplicado aos alunos



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTA FLORESTA



Pesquisa: Uso do gengibre como fitoterápico

Identificação – Dados Pessoais

- 1) Nome: _____
- 2) Idade: _____ Sexo: () masculino () Feminino
- 3) Estado civil: _____
- 4) Naturalidade: _____
- 5) Mora na: () Zona Urbana () Zona Rural
- 8) Comunidade e/ou bairro em que reside: _____
- 9) Tempo de moradia na comunidade e/ou bairro no município?

Dados da Planta – Gengibre

- 1) Você conhece a planta gengibre?
() sim () não
- 2) Você possui gengibre em sua propriedade?
() sim () não
- 3) Você e sua família fazem uso do gengibre como planta medicinal?
() sim () não

E – Guia de entrevista



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTA FLORESTA



Pesquisa: Uso do gengibre como fitoterápico

Identificação – Dados Pessoais

- 1) Nome: _____
- 2) Idade: _____ Sexo: () masculino () Feminino
- 3) Estado civil: _____ Naturalidade: _____
- 4) Mora na: () Zona Urbana () Zona Rural
- 5) Comunidade e/ou bairro em que reside: _____

- 6) Tempo de moradia na comunidade e/ou bairro no município?

- 7) Número de pessoas que residem na moradia:
 - a) () duas
 - b) () três
 - c) () quatro
 - d) () cinco
 - e) () 6 pessoas
 - f) () outro. Número: _____
- 8) Escolaridade:
 - a) () analfabeto
 - b) () Ens. Fundamental Incompleto
 - c) () Ens. Fundamental Completo
 - d) () Ens. Médio Incompleto
 - e) () Ens. Médio Completo
 - f) () Superior Incompleto
 - g) () Superior Completo
 - h) () Especialização
- 9) Profissão: _____
- 10) Renda aproximada da família:
 - a) () Até 1 salário mínimo
 - b) () De 1 a 2 salários mínimos
 - c) () de 2 a 3 salários mínimos
 - d) () de 3 a 4 salários mínimos
 - e) () mais de 4 salários mínimos
- 11) É beneficiário de algum programa social? () sim () não

Dados da Planta – Gengibre

- 1) Você conhece a planta gengibre? () sim () não
- 2) Quais as formas de utilização do gengibre que você conhece? _____

3) Você possui gengibre em sua propriedade? () Sim () Não

4) Se a resposta for SIM, alguma recomendação especial para culti



Av. Tancredo Neves - 1055 - Cavalieta
CEP 78.200-000, Cáceres/MT
Tel: (65) 3211 2840
E-mail: cep@unemat.br



5) Se a resposta for NÃO, onde adquire o gengibre? _____

6) Você utiliza o gengibre como planta medicinal? () sim () não

7) Como obteve informações sobre as propriedades medicinais do gengibre?

() reportagem na TV () artigos científicos () livros/revistas
() pais, avós, familiares... () conversas com vizinhos () redes sociais

() outros: _____

8) Você utiliza o gengibre para prevenção/tratamento de quais enfermidades?

9) Qual parte do gengibre você usa?

() rizoma () folhas () raízes

10) Como você prepara o 'medicamento' feito com gengibre?

() infusão () maceração () decocção (fervimento) () in natura

() outros: _____

11) Descreva a maneira de preparo (quantidade de água, quantidade da planta, tempo...):

12) Além do uso medicinal, quais as outras formas de uso que faz do gengibre?

F – Formas de preparo de *Zingiber officinale* como fitoterápico descritas pelos entrevistados.

Entrevistado 03. Xarope (gripe e resfriado): “250 ml de água, meio copo de açúcar (utiliza copo americano para medir a quantidade de açúcar), folhas de hortelã, flor de mamão macho, acrescentar o gengibre ralado e colocar tudo em uma panela e levar ao fogo baixo. Mexer até o ponto de xarope”.

Entrevistado 07. Decocto (gripe e resfriado): “um pedaço de 5 cm de gengibre cortado e 2 xícaras de chá de água já é suficiente a cada pessoa. Depois de começar a ferver, 5 minutos já é o suficiente para desligar o fogo. Esfriar e tomar”.

Entrevistado 14. Infuso (gripe, resfriado e dor de garganta): “200 mL de água, 1 colher de sopa de gengibre ralado ou cortado. Fervo a água, despejo em cima e abafa por cerca de 20 minutos e pronto”.

Entrevistado 15. *In natura* (suco detox): “200 mL de laranja. Duas folhas de couve, gengibre a gosto. Bata tudo e coe e beba a vontade”.

Entrevistado 36. Chá abafado (Infecção de garganta e tosse): “Lava a batata, corta em pedaços e joga água sobre ela. Abafar por 15 minutos. Tomar durante o dia. Observação: não tomar o chá quente”.

Xarope (tosse): “Derrete o açúcar, coloca os pedaços pequenos, adiciona água e deixar apurar até virar um xarope. Tomar uma colher, três vezes ao dia”.

Entrevistado 38. *In natura* (tosse): “Limpa, retira a casca e mastiga os pedacinhos várias vezes ao dia”.

Entrevistado 42. Decocto (gripe e resfriado): “Corta o gengibre em pedaço, coloca mel e um limão e meio litro de água. Coloca para ferver e toma a noite.”

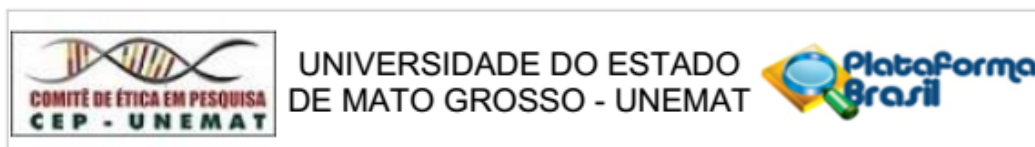
In natura (dor de garganta): “Mascar um pedaço toda noite durante três dias ou até sarar a dor.”

Entrevistado 44. *In natura* (emagrecer): “Ralar um pequeno pedaço de gengibre, cortar algumas rodela de berinjela e espremer um limão em uma jarra com 1 litro de água e tomar durante o dia. Tomar durante 15 dias e renovar os ingredientes a cada dois dias”.

Entrevistado 51. *In natura* (câncer): “Cortar três rodela do gengibre, 1 limão (suco), 4 a 5 folha de couve. Colocar mais ou menos 1 litro e meio de água. Bater no liquidificador e tomar durante o dia. Manter na geladeira. Ajuda a não abaixar a imunidade”.

ANEXO

A – Parecer consubstanciado do projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT).



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, EFEITO ALELOPÁTICO, CITOTÓTIXO E UTILIZAÇÃO DO GENGIBRE PELA POPULAÇÃO DOS MUNICÍPIOS DE ALTA FLORESTA E PEIXOTO DE AZEVEDO, MT, BRASIL.

Pesquisador: Ana Aparecida Bandini Rossi

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 60333616.8.0000.5166

Instituição Proponente: Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.851.604

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de mestrado, do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS – PPGBioAgro, que objetiva identificar, por meio de entrevistas abertas, semiestruturadas e estruturadas, moradores nos municípios de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, região norte de Mato Grosso que utilizem o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) como fitoterápico, buscando responder questões sobre quais enfermidades prevenidas/tratadas com uso do gengibre, quais as formas de preparo do fitoterápico tradicional, a importância relativa do uso do gengibre no tratamento de enfermidades e qual a similaridade de usos do gengibre entre os conhecedores pesquisados. Serão selecionadas duas unidades escolares em cada município para o estudo. Em seguida, será realizada entrevista com os alunos (2o ano do Ensino Médio), para identificação das famílias que usam o gengibre como fitoterápico. A partir do resultado da pesquisa feita junto aos alunos das unidades escolares será realizada uma Assembleia Geral para apresentação do projeto, convite à participação e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) por parte dos que aceitarem participar

da pesquisa. Estas famílias serão visitadas e a pesquisa será conduzida por meio de entrevista semiestruturada e estruturada, bem como com a observação participativa.

Endereço: Av. Tancredo Neves, 1095

Bairro: Cavahada II

CEP: 78.200-000

UF: MT

Município: CACERES

Telefone: (65)3221-0067

E-mail: cep@unemat.br

Também serão realizados testes de alelopatia, citotoxicidade e genotoxicidade para identificar se o gengibre, de acordo com a forma de preparo e também às concentrações, podem ser tóxicos à espécie humana ou à germinação e desenvolvimento de plantas, no intuito de diminuir os riscos do uso como fitoterápico e possível aplicação na agroecologia.

O gengibre é uma espécie de reprodução vegetativa, o que reduz a diversidade genética que é fundamental para adaptação e evolução. A caracterização molecular de indivíduos coletados em diferentes municípios de Mato Grosso, permitirá, por meio de marcadores moleculares, a identificação de genótipos com maior diversidade, contribuindo para seleção de genótipos com características desejáveis para cultivo comercial e também para programas de melhoramento genético.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Analisar e avaliar o potencial alelopático e citotóxico do gengibre, caracterizá-lo a nível molecular e realizar levantamento de seu uso por parte dos moradores de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, ambos localizados no Norte do Estado de Mato Grosso.

Objetivo Secundário:

- Identificar as formas de uso do *Z. officinale* por moradores dos municípios de Alta Floresta e Peixoto de Azevedo, ambos localizados no Norte do Estado de Mato Grosso.
- Avaliar o potencial alelopático de extratos aquosos dos rizomas de *Z. officinale* sobre a germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L.
- Analisar os efeitos citotóxicos e genotóxicos dos extratos aquosos e hidroalcoólicos de rizomas de *Z. officinale* por meio do teste *Allium cepa*.
- Avaliar a diversidade genética entre genótipos de *Z. officinale*, cultivados por diferentes moradores do norte do estado de Mato Grosso, por meio de marcadores moleculares.
- Produzir e divulgar material informativo sobre o *Z. officinale*, fazendo a associação entre o saber popular e o científico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Nesta proposta consta:

Riscos:

"Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em riscos mínimos pois a entrevista, assembleia geral e posterior visita à residência dos participantes podem gerar alguns incômodos (sociais, culturais). Visando evitar ou mitigar esses riscos, os pesquisadores farão uso de linguagem clara e simplificada, adotando uma postura que respeite a cultura, a faixa etária e a condição

Endereço: Av. Tancredo Neves, 1095
Bairro: Cavallhada II CEP: 78.200-000
UF: MT Município: CACERES
Telefone: (65)3221-0067 E-mail: cep@unemat.br



Continuação do Parecer: 1.851.604

socioeconômica dos participantes da pesquisa, evitando assim os danos previsíveis."

Os TCLEs e Termo de Assentimento informam que a identidade do sujeito será preservada e que todos os esclarecimentos serão prestados a qualquer momento que o entrevistado desejar, ficando o mesmo livre para recusar ou interromper sua participação na pesquisa em qualquer uma de suas fases.

Benefícios:

Socialização e preservação dos conhecimentos sobre o uso do gengibre como fitoterápico, de modo que este patrimônio cultural não se perca no decorrer do tempo. Os participantes serão esclarecidos sobre os resultados dos experimentos de efeito citotóxico e genotóxico e assim poderão utilizar o gengibre como medicinal de uma forma mais segura, com as dosagens que não são prejudiciais ao organismo. Serão informados também sobre os resultados do experimento de alelopatia, de forma que aqueles que se interessarem poderão utilizar os extratos de gengibre em suas hortas como um inibidor de plantas daninhas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta:

- Respeito aos participantes da pesquisa em sua dignidade e autonomia, reconhecendo sua vulnerabilidade, assegurando sua vontade de contribuir e permanecer, ou não, na pesquisa, por intermédio de manifestação expressa, livre e esclarecida;
- Ponderação entre riscos e benefícios, tanto conhecidos como potenciais, individuais ou coletivos, comprometendo-se com o máximo de benefícios e o mínimo de danos e riscos;
- Garantia de que danos previsíveis serão evitados; e
- Relevância social da pesquisa, o que garante a igual consideração dos interesses envolvidos, não perdendo o sentido de sua destinação sócio-humanitária.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados de acordo com as exigências da resolução 466/2012 e a Norma Operacional 001/2013 do CNS-Conselho Nacional de Saúde.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado de Mato Grosso CEP/UNEMAT após análise do protocolo em comento, de acordo com a resolução 466/2012 e a Norma Operacional

Endereço: Av. Tancredo Neves, 1095

Bairro: Cavalhada II

CEP: 78.200-000

UF: MT

Município: CACERES

Telefone: (65)3221-0067

E-mail: cep@unemat.br

Continuação do Parecer: 1.851.604

001/2013 do CNS, é de parecer que não há restrição ética para o desenvolvimento da pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_788965.pdf	21/11/2016 11:12:35		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_para_os_responsaveis_dos_membros.pdf	21/11/2016 11:09:43	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Outros	Roteiro_de_entrevista_para_as_familias.pdf	21/11/2016 11:07:48	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Outros	Roteiro_de_entrevista_dos_alunos.pdf	21/11/2016 11:07:01	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento.pdf	21/11/2016 11:03:02	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	14/09/2016 16:44:17	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	14/09/2016 16:40:31	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Orçamento	Orcamento_financeiro.pdf	14/09/2016 14:06:03	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao_de_responsabilidade.pdf	14/09/2016 13:57:52	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Cronograma	Cronograma_de_atividades.pdf	14/09/2016 13:52:53	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Outros	Oficio.pdf	07/09/2016 15:24:46	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_do_pesquisador.pdf	07/09/2016 15:10:05	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	07/09/2016 15:07:00	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura.pdf	07/09/2016 15:06:24	Ana Aparecida Bandini Rossi	Aceito

Situação do Parecer:

Endereço: Av. Tancredo Neves, 1095
 Bairro: Cavallhada II CEP: 78.200-000
 UF: MT Município: CACERES
 Telefone: (65)3221-0067 E-mail: cep@unemat.br



UNIVERSIDADE DO ESTADO
DE MATO GROSSO - UNEMAT



Continuação do Parecer: 1.851.604

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CACERES, 06 de Dezembro de 2016

Assinado por:
Claumir Cesar Muniz
(Coordenador)