



**SISTEMA TESTE DE *Allium cepa* COMO BIOINDICADOR DE CITOTOXIDADE DE  
SUBSTÂNCIAS USADAS NA CONSERVA DE *Olea europaea* L.**

SYSTEMTEST OF *Allium cepa* as bioindicator cytotoxicity SUBSTANCES USED IN  
THE PRESERVED *Olea europaea* L.

SILVA<sup>1</sup>, Bruna Mezzalira da; NISHIMUTA<sup>1</sup>, Hingrid Ayumy; SANTOS<sup>1</sup>, Evelin Taisa  
Borba dos; COSTA<sup>1</sup>, Carla Daniela Nicodemo Gasparetto; ROSSI<sup>2</sup>, Ana Aparecida  
Bandini.

<sup>1</sup>Acadêmicas do curso de Ciências Biológicas – UNEMAT/AF. e-mail: bruna\_mezzalira@hotmail.com.

<sup>2</sup>Professora Doutora da Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, UNEMAT/AF.

**Resumo** - O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito citotóxico das substâncias usadas na conserva da azeitona de mesa por meio do teste de *Allium cepa*. Para a realização do estudo foi adquirido no comércio local azeitonas de mesa em conserva, sendo utilizado no experimento o líquido no qual o material estava conservado em quatro concentrações (100%, 50%, 25% e 12,5%), mais o controle (água destilada). Foram analisadas 2.000 células por tratamento totalizando 8.000 células. Verificou-se que a maior frequência de células em divisão ocorreu na prófase e menor frequência nas outras fases subsequentes, no tratamento com 100% do extrato ocorreu à necrose celular. O valor do índice mitótico foi estimulado no tratamento 12,5% e 25% e o tratamento 50% resultou em um efeito depressivo. O conservante de *Olea europaea* tem efeito citotóxico sobre as raízes de *Allium cepa*.

**Palavras-chave** - Divisão Celular; Conservantes; cebola.

**Abstract** - The aim of this study was to determine the cytotoxic effect of the substances used in canned table olives by means of *Allium cepa* test. For the study was acquired in a local table olives preserved, being used in the experiment the liquid in which the material was preserved in four concentrations (100%, 50%, 25% and 12.5%), more control (distilled water). Cells were 2.000 analyzed per treatment to taling 8,000 cells. It was found that a higher frequency of cell division occurred in prophase and less frequently in other subsequent steps, treatment with the extract was 100% to cell necrosis. The value of the mitotic index was stimulated in the treatment 12.5% and 25% and 50% resulted in treating a depressive effect. The preserved *Olea europaea* has cytotoxic effect on the roots of *Allium cepa*.

**Keywords** - Cell Division; Preserved; onion.

## INTRODUÇÃO

A conservação de alimentos é uma das mais antigas tecnologias utilizadas pelo homem, conservantes químicos são usados pela indústria sendo o melhor e mais eficaz método de preservação de alimentos por um longo período (AIUB e FELZENSZWALB, 2011).



No entanto, conservantes alimentares devem obedecer a critérios para sua utilização, uma vez que apresentam efeitos mutagênicos. Dentre esses conservantes o Benzoato de sódio (BS) é utilizado em alimentos, como: presunto, molhos de saladas, sucos e conservas. Tem sido relatado que o BS aumenta o número basal de aberrações cromossômicas, diminuindo a taxa de mitoses (índice mitótico – I.M.) em *Allium cepa* (NJAGIE & GOPALAN, 1982; DÖNBAK et al. 2003).

A citotoxicidade de uma substância pode ser avaliada, respectivamente, através de alterações no processo de divisão celular sobre o organismo-teste e pela incidência de mutações cromossômicas, como quebras cromatídicas, pontes anafásicas, perda de cromossomos inteiros ou formação de micronúcleos (SOUZA et al. 2005).

A utilização de bioensaios biológicos vegetais para o monitoramento da bioatividade de extrato, frações e compostos isolados de plantas tem sido frequentemente incorporado à identificação e monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas (NOLDIN et al, 2003).

O método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de *Allium cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS,OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (CABRERA e RODRIGUEZ, 1999).

Sistemas testes vegetais como o de *Vicia faba* e principalmente o de *Allium cepa*, têm sido utilizados para o estudo dos efeitos de extratos vegetais, visando a detecção de genotoxicidade (TEIXEIRA et al. 2003; FACHINETTO et al. 2007). Esses sistemas também têm importância no monitoramento da poluição ambiental e avaliação do potencial mutagênico de muitos compostos químicos (MA et al. 1995).

A oliveira, *Olea europaea* L. é uma das frutíferas mais antigas utilizadas pelo homem, no Brasil, tanto a área de plantio como a de produção são insignificantes, sendo o quinto maior importador mundial de azeite de oliva e o quarto maior importador mundial de azeitonas de mesa (COUTINHO et al. 2009).

Diante do grande consumo de *Olea europaea* L. (azeitona) no Brasil em forma de conserva, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito citotóxico das substâncias usadas na conserva da azeitona de mesa por meio do teste de *Allium cepa*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus Universitário de Alta Floresta, MT.

Para a realização deste estudo foi adquirido no comércio local azeitonas de mesa em conserva. Nos experimentos utilizou-se o líquido no qual o material estava conservado.

O organismo teste utilizado foram bulbos de cebola. Primeiramente os bulbos foram germinados em água destilada e posteriormente foram transferidos para recipientes contendo o líquido conservante das azeitonas de mesa. O conservante foi diluído com água destilada em quatro diferentes concentrações. O experimento foi composto de cinco tratamentos, sendo um controle (água destilada) e quatro

concentrações do conservante: 100%, 50%, 25% e 12,5%. Cada tratamento foi constituído de cinco repetições (bulbos de cebola).

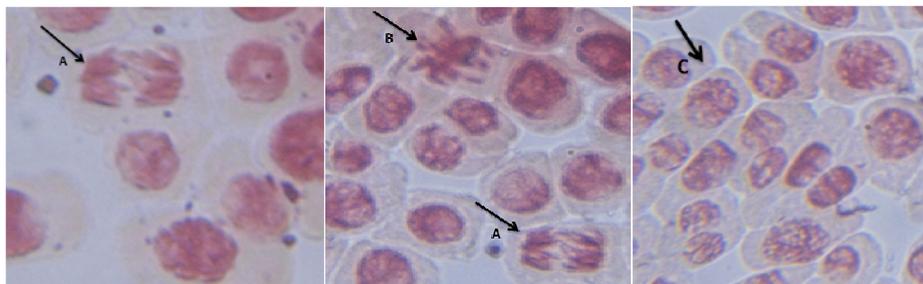
As raízes dos bulbos de cada tratamento foram coletadas com aproximadamente 1 cm de comprimento, fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético) e mantidas em freezer até a confecção de lâminas.

O Índice mitótico foi determinado através da técnica de esmagamento (GUERRA e SOUZA, 2002). As radículas foram hidrolisadas em HCl 5N e coradas com orceína acética 2%, sendo realizada contagem de 2000 células/tratamento em microscópio óptico numa magnitude de 400x.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e a comparação das médias foi realizada através do teste de Tukey a 5% de probabilidade com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2003). O índice mitótico foi obtido dividindo-se o número de células em mitose pelo número total de células observado e multiplicando-se por 100 (PIRES et al. 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das fases de divisão mitóticas encontradas (Figura 01) em cada um dos tratamentos aplicados permitiu a realização do cálculo de frequência das diferentes fases da mitose e do índice mitótico.



**Figura 01.** Fases da divisão celular observadas em células meristemáticas radiculares de cebola (400x). (A) Anáfase, (B) Metáfase e (C) Prófase.

Comparando-se as frequências das diferentes fases da mitose entre os tratamentos (Tabela 01), observou-se que a maior frequência de células em divisão ocorreu na prófase e menor frequência nas outras fases subsequentes, no tratamento com 100% do conservante não foi possível observar o índice mitótico devido à necrose celular. Os agentes mutagênicos podem ser detectados, citologicamente pela inibição do ciclo celular, interrupção em metáfases, indução de alterações cromossômicas (VIEIRA e VICENTINI, 1997).

**Tabela 01.** Frequência das diferentes fases da mitose em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* desenvolvidas sob diferentes concentrações das substâncias usadas na conserva da azeitona de mesa.

Tratamentos	% de fases nas células				
	Interfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase



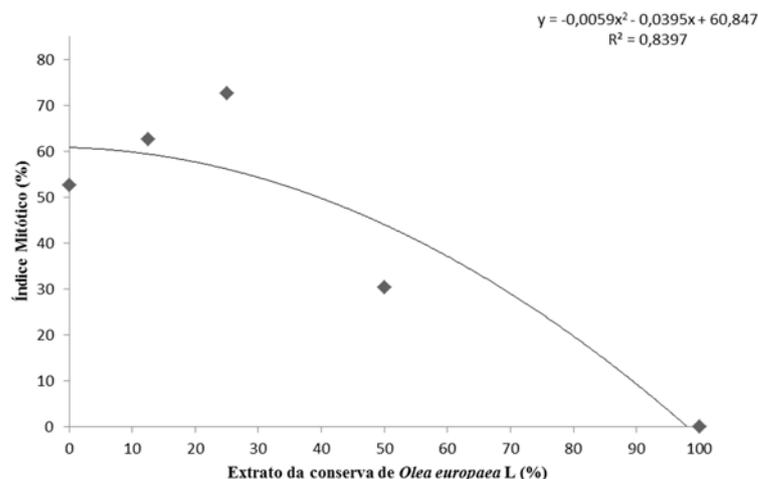
## I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

Controle	47,35 B	36,40 B	7,15 A	6,15 A	2,95 A
12,5%	37,45 C	58,80 A	1,55 B	1,20 B	1,00 B
25%	27,45 D	53,15 A	9,45 A	6,55 A	3,40 A
50%	61,60 A	35,10 B	1,85 B	1,00 B	0,45 B
100%	-	-	-	-	-

Letras iguais na coluna, não diferem entre si estaticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O valor do índice mitótico em células meristemáticas de cebola tratadas com o líquido utilizado na conserva da azeitona de mesa obedeceu a uma linha de tendência polinomial de 2º grau, apresentando valor de  $R = 0,8397$ . Nos tratamentos com 12,5% e 25%, o índice mitótico foi estimulado resultando em um crescimento linear, porém com o aumento da dose de extrato para 50% e 100% houve redução do índice mitótico, atingindo o ponto de saturação (Figura 02). O efeito citotóxico foi observado nas duas maiores concentrações em relação às concentrações intermediárias e ao controle.



**Figura 02.** Índice mitótico em células meristemáticas de raízes de cebola tratadas com concentrações de 0% - 12,5% - 25% - 50% - 100% do líquido utilizado na conserva de *Olea europaea*.

Giustina et al. (2010) em suas análises com extrato aquoso de *Cinnamomum zeylanicum* obteve resultados semelhantes ao encontrado neste trabalho que ao aumentar as concentrações de extrato ocorreu a diminuição das divisões celulares.

### CONCLUSÕES

O extrato aquoso de conservantes das azeitonas de mesa influenciou o aumento do índice mitótico nos tratamentos com 12,5% e 25%, estimulando a aceleração da divisão celular, porém com o aumento do extrato para 50% e 100% houve redução do índice mitótico, atingindo o ponto de saturação chegando a ocorrer à necrose celular. Portanto o conservante das azeitonas em altas



concentrações é potencialmente citotóxico. Além disto, a cebola mostrou ser um biomonitor sensível a estes extratos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIUB, C.A.F; FELZENSZWALB, I. O uso de *Allium cepa* como modelo experimental para investigar genotoxicidade de substâncias usadas em conservantes alimentares. **Genética na escola**, Rio de Janeiro. PP 12-15, 2011.
- CABRERA.G, L.; RODRIGUEZ.D, M, G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutat Res** 426: 211-214, 1999.
- COUTINHO,E. F.; CAPPELLARO, T. H.;RIBEIRO,F. C.; HAERTER,J. A. Introdução e Importância Econômica. In:COUTINHO,E. F.; RIBEIRO,F. C.;CAPPELLARO, T. H. **Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.)**.Pelotas:Embrapa Clima Temperado, 2009.
- FACHINETTO, BAGATINI, M. D; DURIGON, J; SILVA, A. C. F da; TEDESCO, S. B. Efeito Anti-proliferativo das Infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) Sobre o Ciclo Celular de *Allium cepa*.**Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n 1, p. 49-54, 2007
- FERREIRA, D. F. **Sisvar versão 4.3**. DEX/UFLA, 2003.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: Uma Área Emergente da Ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** v.12 (Edição Especial), p. 175-204, 2000.
- GIUSTINA, L.D.; VIEIRA, F.S. Avaliação do Potencial citotóxico de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn. Em sistema teste vegetal de *Allium cepa*. **Anais...** 3ª Jornada Científica da UNEMAT, Cáceres - MT, Brasil, 20 a 24 setembro 2010.
- GUERRA, M.; SOUZA. M.J..**Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002.
- MA, T. H.; 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. **Mutat Res** 334: 185-195, 1995.
- NJAGI, G.D.E.; GOPALAN,H.N.B. Cytogenetic effects of the food preservatives—sodium benzoate and sodium sulphite on *Vicia faba* root meristems.**Mutat Res**.102 pp. 213–219, 1982.
- NOLDIN, V.H.; MONACHE, F. D.; YUNES, R.A. Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo. V.26, n3, p. 331-334, 2003.
- OLIVEIRA, L. A.; SILVA, E.; RAMOS, Al. P.; RIBEIRO, S. F.; AZEVEDO, F.; ROSSI, A. A. B. Efeito citotóxico e genotóxico do extrato aquoso de *Luffa operculata*(L.) Cogn. por meio do teste de *Allium cepa*, **Anais...** 2º Jornada Científica da UNEMAT, Cáceres – MT, Brasil, 5 a 6 de outubro 2009.
- PIRES, N. M.; SOUZA, I. R. P.;PRATES, H. T.; FARIA, T. C. L.; FILHO, A. P.; MAGALHÃES, P. C. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.1, p.909-914, 2001.
- 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



## I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

---

avaliação de efeitos citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revistas de Biologia e Ciências da Terra**, Belo Horizonte, v.5, n.1, 2005. Disponível em: <<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/500/50050101.pdf>> Acesso em: 23 ago. 2013.

TEIXEIRA, R. O.; CAMPAROTO, M. L.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in vivo assays. **Genet Mol Biol** 26: 551-555, 2003.

VIEIRA, D., VICENTINI, V.E.P. Estudo do efeito mutagênico do floxacina em *Allium cepa*. **Genet Mol Biol Supplement**. 42º Congresso Nacional de Genética, Goiânia, Brasil. 1997.