



Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert, em teste de *Allium cepa*

Evaluation mutagenic and antimutagenic activity of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert in *Allium cepa* test

Cibele Merched Gallo⁽¹⁾; José Dailson Silva de Oliveira⁽²⁾;
Everton Ferreira dos Santos⁽²⁾; Renato Vieira de Carvalho Filho⁽²⁾;
Wyslaine Larissa Almeida Santos Rocha e Silva⁽³⁾; Maria da Graça Martino-Roth⁽⁴⁾

⁽¹⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0157-8504> Professora; Faculdade São Vicente de Pão de Açúcar (FASVIPA), Pão de Açúcar, Alagoas; cibele.gallo@hotmail.com;

⁽²⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8395-2856>; <https://orcid.org/0000-0002-6190-8704>; <https://orcid.org/0000-0001-5983-4681>; Estudante de pós-graduação em agronomia; Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Rio Largo, Alagoas; dailsonoliveira00@gmail.com, evertonfsagro@gmail.com, rvcf10@gmail.com;

⁽³⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2719-5285> Estudante de graduação em agronomia; Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Rio Largo, Alagoas; wyslaineagro@gmail.com;

⁽⁴⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1671-6615> Professora; Universidade Católica de Pelotas (UCPEL); Pelotas, Rio Grande do Sul; gmartinoroth@yahoo.com.br

Recebido em: 12 de novembro de 2019; Aceito em: 09 de junho de 2020; publicado em 10 de 07 de 2020. Copyright © Autor, 2020.

RESUMO: O uso de *Chamomilla recutita* como chá calmante, antiinflamatório, analgésico é baseado no conhecimento empírico das plantas medicinais. Este trabalho visa avaliar o potencial mutagênico e antimutagênico, através do teste de *Allium cepa*, da infusão de flores secas de camomila. Foram realizados onze tratamentos com quatro repetições cada: T1 – controle negativo; T2- paracetamol, 800mg L⁻¹ (controle positivo); T3- camomila na dose usual, 12g L⁻¹; T4- 60g de camomila L⁻¹; T5- 120g L⁻¹ de camomila; Co-tratamentos: T6- paracetamol 800mg L⁻¹ e camomila 12g L⁻¹; T7- paracetamol 800mg L⁻¹ e camomila 60g L⁻¹; T8- paracetamol 800mg L⁻¹ e camomila 120g L⁻¹; T9- paracetamol 800mg L⁻¹ e, 24 horas após, camomila 12g L⁻¹; T10- paracetamol 800mg L⁻¹ e, 24 horas após, camomila 60g L⁻¹; T11- paracetamol 800mg L⁻¹ e, após, camomila 120g L⁻¹. Observou-se que tanto a infusão de 12g L⁻¹ quanto as mais concentradas diminuíram significativamente o índice mitótico. Quanto às anomalias mitóticas, apenas o T11 aumentou significativamente em relação ao T1 (p=0,012). Todos os tratamentos aumentaram a frequência das anomalias interfásicas de forma significativa (p<0,018), em relação ao T1, havendo também aumento do total de anomalias (p<0,018). Porém tanto os co-tratamentos como os pós-tratamentos diminuíram as anomalias em relação ao controle positivo. Estes resultados demonstram que a camomila teve um efeito citotóxico, e protetor em relação ao controle positivo, nas células meristemáticas de *Allium cepa*.

PALAVRAS-CHAVE: camomila, antimutagenicidade, mutagenicidade.

ABSTRACT: The use of *Chamomilla recutita* as a tranquilizing, anti-inflammatory, and analgesic tea is based on the empirical knowledge of medicinal plants. This work aims at assessing the mutagenic and antimutagenic potential – by means of the *Allium cepa* test – of an infusion of dry chamomile leaves. Eleven trials were conducted, with four replicates each, as such: T1 – negative control; T2 – paracetamol, 800mg L⁻¹ (positive control); T3 – chamomile in the usual dose, 12g L⁻¹; T4 – 60g L⁻¹ of chamomile; T5 – 120g L⁻¹ of chamomile; T6 – paracetamol 800mg L⁻¹ and chamomile 12g L⁻¹; T7 – paracetamol 800mg L⁻¹ and chamomile 60g L⁻¹; T8 – paracetamol 800mg L⁻¹ and chamomile 120g L⁻¹; T9 – paracetamol 800mg L⁻¹ and, 24 hours later, chamomile 12g L⁻¹; T10 – paracetamol 800mg L⁻¹ and, 24 hours later, chamomile 60g L⁻¹; T11 – paracetamol 800mg L⁻¹ and, 24 hours later, chamomile 120g L⁻¹. It was found that both the 12g L⁻¹ infusion and the stronger ones significantly reduced the mitotic index. In regard to mitotic anomalies, only T11 was significantly increased relative to T1 (p=0.012). All trials increased the frequency of interphase anomalies in a significant way (p<0.018), thus also showing an increase in the total of anomalies (p<0.018). Such results show that chamomile had a cytotoxic effect and protects against the positive control, on meristematic cells of *Allium cepa*.

KEYWORDS: chamomile, antimutagenicity, mutagenicity.

INTRODUÇÃO

Com o grande crescimento da população, os altos índices de doenças existentes que afligem a humanidade e o aumento do número de formas de patógenos que debelam a saúde e o bem estar do ser humano, havendo maior interesse da população pelos efeitos terapêuticos dos compostos bioativos das plantas (RUBIRA et al., 2016).

A camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] é uma planta herbácea, anual e aromática, originária do sul e leste da Europa, bem como do oeste asiático. Suas flores são reunidas em capítulos com flores centrais amarelas e as marginais de corola ligulada e tubulosa branca. É usada na medicina popular como calmante, antiinflamatória, analgésica, antiespasmódica, carminativa, cicatrizante, emenagoga, clareadora de cabelos e também como aromatizante. A parte utilizada para fins tanto aromáticos quanto medicinais é o capítulo floral (SOUZA et al., 2007).

A *Chamomilla recutita* é uma das poucas plantas medicinais cujos constituintes químicos foram exaustivamente avaliados farmacologicamente, inclusive em testes clínicos. A atividade antiinflamatória da droga deve-se à presença de óleos essenciais, ricos em azuleno, matricina e alfa-bisabolol, enquanto a atividade espasmolítica é atribuída à presença de grande concentração de flavonóides e outros constituintes fenólicos (BRANDÃO et al., 1998) as quais são propriedades potencialmente benéficas tais como, antioxidante, hipoglicemiante, antiviral ou hepatoprotetora de modo geral, que podem ser testadas tanto in vitro como in vivo em estudos epidemiológicos. Tradicionalmente as flores da camomila são preparadas em forma de infusão para fazer chá (HARBOURNE et al., 2009).

As plantas medicinais utilizadas para chá além das substâncias benéficas como flavonóides, possuem concentrações de metais, conforme estudo realizado por Kara (2009) que classifica a camomila como uma planta do grupo 2, ou seja, que apresentam altas concentrações de Cu, P, Cr, Na, Co e K.

Agentes genotóxicos são capazes de induzir instabilidade cromossômica, como por exemplo, aberrações cromossômicas não casuais, principalmente deleções, translocações e o ganho ou perda de cromossomos inteiros, contribuindo para o desenvolvimento de processos celulares malignos (PACHECO & HAECKEL, 2002).

Segundo Verschaeve e Staden (2008) um fator importante em plantas medicinais

que deve ser ressaltado é o fato de que essas plantas nunca foram objeto de exaustivos estudos toxicológicos. Entretanto alguns trabalhos tem mostrado que algumas plantas que são usadas como temperos ou como plantas medicinais, apresentam efeito mutagênico, ou tóxico ou carcinogênico *in vitro*. Por essa razão é importante a realização de triagem dessas plantas para o potencial mutagênico, por outro lado, plantas com propriedades mutagênicas podem ser úteis no tratamento anticâncer, assim como as drogas anticancerígenas o são (por exemplo: alterações no fuso de divisão).

Atualmente, há uma tendência geral, no campo das investigações farmacológicas, de investigar o efeito genotóxico, carcinogênico, embriotóxico e ou teratogênico das plantas utilizadas como medicinais (STURBELLE et al; 2006).

Sistemas testes vegetais como o de *Vicia Faba* e principalmente o de *Allium cepa*, tem sido utilizados para o estudo dos efeitos de extratos vegetais, visando a detecção de genotoxicidade. O método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de *Allium cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (INEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (BAGATINI et al., 2007).

O presente trabalho visou avaliar o potencial mutagênico e antimutagênico de *Chamomilla recutita*, *in vivo*, por meio do teste de *Allium cepa* e intervir se for o caso, no sentido de orientar sobre o uso dessa planta medicinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado o teste *in vivo* (Teste de *Allium cepa*) para avaliar a mutagenicidade e antimutagenicidade da *Chamomilla recutita*; desenvolvido no Laboratório de Genética da Universidade Católica de Pelotas.

A *Chamomilla recutita* foi preparada sob a forma de infusão. Os capítulos florais secos foram colocados em um recipiente e imersos em água fervente, ficando cobertos por 15 min. A infusão foi então extraída e resfriada. As soluções da planta foram preparadas em três concentrações, uma como normalmente é usada (12g L⁻¹), a outra, cinco vezes mais concentrada (60g L⁻¹), e a última, dez vezes mais concentrada (120g L⁻¹).

¹). A infusão foi utilizada diretamente no experimento com ponta de raiz de *Allium cepa*. Os bulbos de cebola foram colocados nas soluções de tratamento por 24h.

Após este período foram removidas e fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético), por 24 horas, sendo a seguir transferidas para etanol 70%. Para a análise microscópica foram coradas com orceína acética a 2%. As lâminas foram avaliadas, usando microscópio óptico com 400 vezes de aumento. Para verificar a atividade mutagênica e antimutagênica da *Chamomilla recutita*, foram realizados 11 tratamentos com 4 repetições cada: T1 – controle negativo; T2- paracetamol, 800mg L⁻¹; T3- camomila na dose usual, 12g L⁻¹; T4- camomila dose cinco vezes mais concentrada, 60g L⁻¹; Co-tratamentos: T5- camomila dose dez vezes mais concentrada, 120g L⁻¹; T6- paracetamol 800mg L⁻¹ e camomila 12g L⁻¹; T7- paracetamol 800mg L⁻¹ e camomila 60g L⁻¹; T8- paracetamol 800mg L⁻¹ e camomila 120g L⁻¹; Pós-tratamentos: T9- paracetamol 800mg L⁻¹ e, 24 horas após, camomila 12g L⁻¹; T10- paracetamol 800mg L⁻¹ e, 24 horas após, camomila 60g L⁻¹; T11- paracetamol 800mg L⁻¹ e, 24 horas após, camomila 120g L⁻¹.

Foram analisadas 2.000 células por repetição, totalizando 8.000 células por tratamento. Foi avaliado o índice mitótico (IM), as anomalias do ciclo mitótico (ACM), como cromossomos perdidos e pontes anafásicas, as anomalias interfásicas (AI), como células com micronúcleos, células binucleadas, células com núcleos ligados e brotos nucleares e o total de anomalias (TA).

Para a análise estatística, foi elaborado um banco de dados no programa estatístico SPSS, versão 10.0 “for Windows” e utilizado o teste de Mann-Witney U, com um nível de significância de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos realizados com *Allium cepa* tiveram dois objetivos: O primeiro foi testar o efeito da camomila nas células meristemáticas quanto ao índice de divisão celular e quanto às alterações do ciclo mitótico e interfásicas. O segundo foi verificar se a infusão de camomila tem efeito protetor nessas células.

A partir dos dados obtidos (Tabela 1), observa-se que tanto a infusão de 12g L⁻¹

(dose usual) quanto as mais concentradas diminuíram significativamente o índice mitótico, em relação ao controle negativo. Porém, quanto às anomalias do ciclo mitótico, apenas o tratamento 11 (submissão ao paracetamol e 24h após à concentração dez vezes mais concentrada de camomila), aumentou significativamente em relação ao controle negativo (T1). Foram englobadas como anomalias do ciclo mitótico, as células com pontes anafásicas, com fragmentos cromossômicos e com cromossomos perdidos. Por essa razão, o aumento desta variável representa efeito clastogênico, bem como aneugênico exercido pela infusão de camomila nas células de *Allium cepa*.

TABELA 1 –Índice mitótico (IM), número médio e desvio padrão de células em divisão (CD), com anomalia do ciclo mitótico (ACM), com anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA).

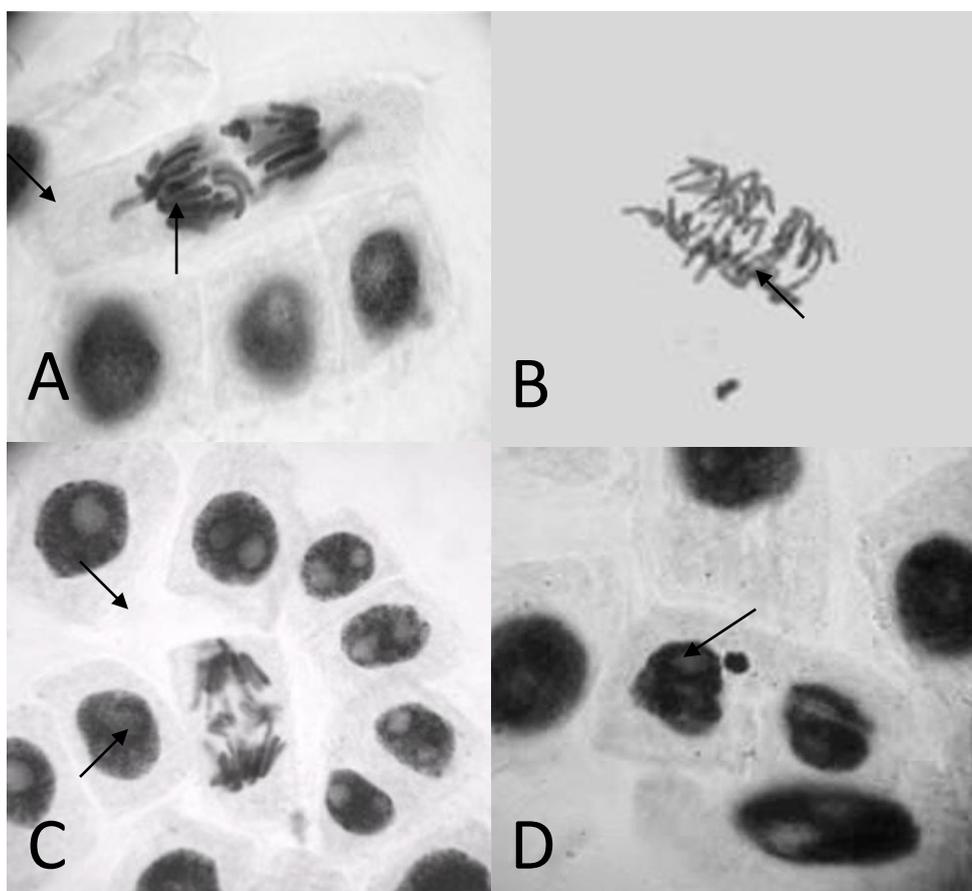
T1 = controle negativo; T2 = paracetamol, 800mg L⁻¹; T3 = camomila na dose usual, 12g L⁻¹; T4 = camomila dose cinco vezes mais concentrada 60g L⁻¹; T5 = camomila dose dez vezes mais concentrada, 120g L⁻¹; T6 = paracetamol 800mg L⁻¹ e camomila 12g L⁻¹; T7 = paracetamol 800mg L⁻¹, e camomila 60g L⁻¹, juntos; T8 = paracetamol 800mg L⁻¹, e camomila 120g L⁻¹; T9 = paracetamol 800mg L⁻¹ e, 24 horas após, camomila 12g L⁻¹; T10 = paracetamol 800mg L⁻¹ e, 24 horas após, camomila 60g L⁻¹; T11 = paracetamol 800mg L⁻¹ e, 24 horas após, camomila 120g L⁻¹. Todos os tratamentos foram comparados ao T1 através do teste de Mann-Whitney U. \bar{X} / DP = Média e desvio padrão.

TRATAMEN TO	IM	CD	ACM	AI	TA
		\bar{X} /DP	\bar{X} /DP	\bar{X} /DP	\bar{X} /DP
T1	7,81%	39,12 ± 20,08	6,25 ± 0,25	0,87 ± 1,02	0,93 ± 1,06
T2	0,11%	0,56 ± 1,31 p= 0,0001	0 p= 0,317	8,43 ± 2,09 p= 0,0001	8,43 ± 2,09 p= 0,0001
T3	0,37%	1,87 ± 1,40 p=0,0001	0 p= 0,317	5,62 ± 2,02 p= 0,0001	5,62 ± 2,02 p= 0,0001
T4	0,23%	1,18 ± 1,72 p= 0,0001	6,25 ± 0,25 p=1	5,75 ± 1,61 p= 0,0001	5,81 ± 1,64 p= 0,0001
T5	0,07%	0,37 ± 0,88 p= 0,0001	0 p=1	10,00 ± 1,54 p= 0,0001	10,06 ± 1,52 p=0,0001
T6	0,08%	0,40 ± 0,82 p= 0,0001	0 p= 0,33	2,56 ± 1,67 p= 0,003	2,53 ± 1,67 p= 0,007
T7	0,37%	1,87 ± 2,27 p= 0,0001	6,25 ± 0,25 p=1	2,43 ± 2,03 p= 0,007	2,43 ± 2,03 p= 0,012
T8	1,70%	8,50 ± 7,09 p= 0,0001	0,31 ± 0,60 p= 0,143	1,81 ± 0,98 p=0,010	2,12 ± 1,08 p= 0,007
T9	0,12%	0,56 ± 1,15 p=0,0001	0 p=0,317	2,26 ± 1,62 p=0,011	2,26 ± 1,62 p=0,018
T10	0,22%	1,12 ± 1,20 p=0,0001	6,25 ± 0,25 p=1	3,00 ± 1,67 p=0,0001	3,06 ± 1,80 p=0,001
T11	6,26%	33,12±113,86 p=0,0001	29,25±113,80 p=0,012	1,87±1,20 p=0,018	31,12 ± 113,84 p=0,001

Todos os tratamentos aumentaram a frequência das anomalias interfásicas de forma significativa e como consequência houve, também, aumento do total de anomalias. Porém, verificou-se um efeito protetor naqueles tratamentos que foram realizados com o objetivo de testar a inibição pela camomila ao efeito do paracetamol (T6 ao T11, $p=0,0001$), quando comparados ao controle positivo. Esses tratamentos, portanto, aumentaram as anomalias em relação ao controle negativo, mas diminuíram em, aproximadamente 50%, em relação ao controle positivo, apresentando um efeito protetor em células vegetais.

FIGURA 1 – Anomalias observadas em células de *Allium cepa* submetidas a diferentes concentrações de infusões de camomila. **A**: cromossomo perdido em anáfase; **B**: ponte anafásica; **C**: anáfase multipolar e cromossomo atrasado. **D**: célula com micronúcleo.

Fonte: Laboratório de genética da Universidade Católica de Pelotas do Centro de Ciências da Vida e da Saúde.



Estes resultados são concordantes com os encontrados por Hernández Ceruelos et al (2002) em medula de ratos. Eles detectaram efeito protetor do óleo essencial de camomila em ratos tratados com metil-metano-sulfonato e daunorubicina, com a redução de 50% da frequência de micronúcleos o que sugere um efeito antígenotóxico dos compostos da camomila *in vivo* em sistema teste-animal. Já o trabalho de Gomes-Carneiro et al., (2005) demonstra que o componente alfa-bisabolol não apresentou efeito mutagênico em cepas de *salmonella typhimurium* e tampouco efeito antimutagênico.

Algumas plantas têm sido estudadas para determinar esses efeitos potenciais (mutagenicidade e antimutagenicidade), como o chá verde, preto, chá de hibisco e chá mate que são conhecidos por apresentar efeito emagrecedor, anticarcinogênico e antimutagênico. Nestes estudos foi verificado que o efeito tóxico depende da concentração das infusões testadas, as quais inclusive influenciou no crescimento das raízes (HERNÁNDES-CERUELOS et al., 2002) (ROCHA et al., 2017).

O efeito potencial da camomila indica ação protetora, embora, também tenha se observado, uma ação mutagênica. Estes resultados indicam a ação dos componentes da camomila em células vegetais e, portanto, se fazem necessários mais estudos que determinem o seu efeito em outros sistemas-teste.

CONCLUSÃO

Os extratos de camomila possuem ação protetora e mutagênica. Estudos com outros sistemas-teste como linfócitos humanos são necessários.

REFERÊNCIAS

1. BAGATINI, M.D., SILVA, A.C.F. & TEDESCO. S.B., 2007, Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia, 17, 3: 444-447.
2. BRANDÃO, M.G.L., FREIRE, N. & SOARES, C.D.V., 1998, Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. Cadernos de Saúde Pública, 14, 3:613-616.

3. FRANZ, C. Genetics. In: HAY, R.K.M., WATERMAN, P.G., 1993, Volatile oil crops: their Essex: Longman Group, 63-96.
4. CERUELOS, H. E., MADRIGAL-BUJAI DAR, C. DE LA CRUZ, 2002, Inhibitory effect of chamomile essential oil on the sister chromatid exchanges induced by daunorubicin and methyl methanesulfonate in mouse bone marrow. *Toxicology Letters*, 135:103-110.
5. GOMES-CARNEIRO M. R., DIAS D. M., DE-OLIVEIRA A. C., PAUMGARTTEN F. J., 2005, Evaluation of mutagenic and antimutagenic activities of alpha-bisabolol in the Salmonella/microsome assay. *Mutation Research*, 585:105-112.
6. L. VERSCHAEVE, J. VAN STADEN, 2008, Mutagenic and antimutagenic properties of extracts from African traditional medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 119(3):575-87.
7. PACHECO, A. O. HACKEL, C. 2002, Instabilidade cromossômica induzida por agroquímicos em trabalhadores rurais na região de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, 14(3):1675-1683.
8. PERON, A. P., MARCOS, M. C., CARDOSO, S. C., VICENTINI, V. E. P. 2008, Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia* vahl em sistema teste vegetal. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, Umuarama, v. 12, n. 1, p. 51-54.
9. SOUZA, J. R. P., TAKAHASHI, L.S.A., YOSHIDA, A.E., GUIRAUD, M.C. & ROCHA, J.N., 2007, Tempo de armazenamento e temperatura na porcentagem e velocidade de germinação das sementes de camomila. *Revista Ciência Rural*, 37, 4:982-986.
10. STURBELLE, R.T., PINHO, D.S., CORRÊA, N.S., BENDER, A.E.; MARTINO-ROTH, M.G., GARCIA S, G.; DODE, L.B., SANTOS, S.C. & COSTA, M.A., 2004, Avaliação da mutagenicidade da babosa (*Alloe vera*) por meio do teste de *Allium cepa*. Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas na Universidade Católica de Pelotas.
11. ROCHA, L. S. S.; CABRAL, L. I. A.; PIO, P. B. S.; OLIVEIRA, R. M. C.; COUTINHO, L. C.; ALMEIDA, D. M. P. F.. 2017, Análise da toxicidade de infusões de chás de emagrecimento através do teste *Allium cepa*. *Revista*

Biotecnologia & Ciência v.6, n.1, p.55-62.

12. RUBIRA, T. H. S.; DOS SANTOS, J. F.; VIANA, A. C. 2016, O uso do
hibiscus sabdariffa como alimento funcional. Rev. Conexão Eletrônica, v. 13, n. 1.