

CENTRO UNIVERSITÁRIO DO CERRADO
PATROCÍNIO
Graduação em Ciências Biológicas

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARCINOGÊNICA DOS
EXTRATOS ETANOLICO E HEXANO DE *Chenopodium
ambrosioides* PELO TESTE DE DETECÇÃO DE TUMOR
EPITELIAL EM *Drosophila melanogaster***

Naiara Ribeiro dos Santos

PATROCÍNIO – MG
2018

NAIARA RIBEIRO DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE CARCINOGÊNICA DOS
EXTRATOS ETANOLICO E HEXANO DE *Chenopodium
ambrosioides* PELO TESTE DE DETECÇÃO DE TUMOR
EPITELIAL EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como exigência parcial para
obtenção do grau de Bacharelado em
Ciências Biológicas, pelo Centro
Universitário do Cerrado Patrocínio.

Orientadora: Prof^ª. Dra.Lilian Cristina
Barbosa.

**PATROCÍNIO
2018**

Trabalho de conclusão de curso intitulado “**Avaliação da capacidade carcinogênica dos extratos Etanolico e Hexano da *Chenopodium ambrosioides* pelo teste de detecção de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster***”, de autoria da graduanda Naiara Ribeiro dos Santos, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof^a. Dra. Lilian Cristina Barbosa.

Instituição: UNICERP

Prof^a. Rafaela Cabral Marinho

Instituição: UNICERP

Prof. Rosângela Oliveira Araújo

Instituição: UNICERP

Data de aprovação:

Patrocínio, 10 Dezembro de 2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me fortalecido ao ponto de superar as dificuldades e também por toda saúde que me deu e que permitiu alcançar esta etapa tão importante da minha vida.

Agradeço aos meus pais, pelo incentivo e dedicação, meus maiores exemplos. Sou grata pela motivação, oração e todas as orações diárias que vocês me dedicaram. Obrigada por estarem sempre ao meu lado!

Agradeço minha irmã e todos os meus familiares que torceram por mim.

Agradeço a minha tia que me deu apoio, ânimo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço.

Sou grata aos meus queridos mestres que acompanharam meus estudos durante esses quatro anos, em especial, a Lilian Cristina Barbosa, por todo apoio, atenção e dedicação para me orientar nessa pesquisa.

Obrigado aos meus amigos e colegas que me deram o suporte necessário para chegar até aqui.

Meu muito obrigado a Deus pelo dom da vida e por seu amor infinito.

“Pois os nossos sofrimentos leves e momentâneos estão produzindo para nós uma glória eterna que pesa mais do que eles”

RESUMO

Introdução: A utilização de plantas como recurso terapêutico é uma prática bastante antiga, e desde então tem sido alvo de muitos estudos. Entre elas a *Chenopodium ambrosioides*, conhecida popularmente como erva-de-Santa-Maria, tem sido muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças. *C. ambrosioides* apresenta uma ampla distribuição pelo mundo, utilizada em muitos lugares como febrífugo, antiespasmódico, tônico, auxiliar da digestão, antirreumático e antipirético, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das espécies mais utilizadas entre os remédios tradicionais no mundo inteiro. No entanto é necessário ressaltar o risco do uso indiscriminado de plantas popularmente conhecidas como medicinais devido a vários compostos presentes em seus extratos dos quais muitos deles tem ação desconhecida. Muitas dessas substâncias podem atuar com a molécula de DNA induzindo danos a essa molécula, levando ao descontrole do ciclo celular, induzindo assim o surgimento do câncer. **Objetivo:** Diante do exposto este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade tumoral dos extratos Etanólico e Hexano da *C.ambrosioides*, pelo teste de detecção de clones de tumor (Warts) em *Drosophila melanogaster*. **Material e métodos:** O teste utilizado foi o teste de detecção de clones de tumor (Warts) em *Drosophilas melanogaster*. Larvas de *D. melanogaster* de 3º estágio, descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, Sb¹* e machos *mwh/mwh* foram expostas ao extrato Hexânico (concentração 0,0625%) da *C. ambrosioides* e extrato Etanólico (concentração 0,0625% e 0,125%). O teste *wts* foi acompanhado de controle negativo, água ultrapura. **Resultados:** Os resultados obtidos com o teste *wts*, para detecção de tumor epitelial em células somáticas de *D. melanogaster*, e em observação à frequência do aparecimento de tumor em várias partes do corpo das moscas, mostrou um resultado negativo para ação carcinogênica do extrato em todas as concentrações utilizadas. No entanto foi observado que nas concentrações maiores houve uma redução no desenvolvimento das *Drosophilas* nos dois estágios de pulpa e adulto quando comparadas ao controle negativo. **Conclusão** Nas condições experimentais utilizadas os EX.HEX e EX.ETA não apresentou efeito carcinogênico em nenhuma das concentrações utilizadas. Em relação à sua influência no desenvolvimento dos estágios da *Drosophila*, mais estudos são necessários para melhor elucidar o seu efeito repelente.

Palavras chave: *Chenopodiumambrosioides*,;carcinogenicidade;*Drosophilamelanogaster*; tumor.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 DESENVOLVIMENTO	14
3.1 INTRODUÇÃO	16
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.2.1 Agentes químicos e meio de cultura	19
3.2.2 Teste de detecção de tumor epitelial em <i>Drosophila melanogaster</i>	19
3.2.3 Linhagens de <i>Drosophila melanogaster</i>	19
3.2.4 Cruzamento	20
3.2.5 Tratamento	20
3.2.6 Análise do material biológico	21
3.2.7 Infraestrutura	21
3.2.8 Análise estatística	21
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
3.4. CONCLUSÕES	28
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
7 CONCLUSÕES	31
8. REFERÊNCIAS	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor <i>wt</i> s de <i>D. melanogaster</i> tratados com EX.HEX.....	22
Tabela 2. Mostra a taxa de sobrevivência do grupo EX.HEX da progênie resultante do cruzamento <i>mwh/mwh</i> x <i>wt</i> s/TM3.....	23

LISTA DE SIGLAS

EX. ETA Extrato etanolico

EX. HE Extrato hexano

WTS Warts

DNA Ácido desoxirribonucléico

B.O.D Biochemical *Oxygen Demand*

CN Controle Negativo

LISTA DE SÍMBOLOS

°C Graus Celsius

% Porcentagem

3° Terceiro(a)

ml Mililitro

g Grama

h Horas

± Mais ou menos

Cm Centímetros

mM Milímetros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 DESENVOLVIMENTO	14
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
7 CONCLUSÕES	31
8. REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Segundo Alvim (2006), o uso de plantas medicinais pode ser entendido como uma prática que atravessa milênios, estando historicamente presente na sabedoria do senso comum, articulando cultura e saúde, uma vez que estes aspectos não ocorrem isoladamente, mas inseridos em um contexto histórico determinado.

De acordo com Lopes et al. (2005), planta medicinal é toda planta que administrada ao homem ou animal, por qualquer via ou forma, exerça alguma ação terapêutica. O tratamento feito com uso de plantas medicinais é denominado de fitoterapia, e os fitoterápicos são os medicamentos produzidos a partir dessas plantas.

Sendo assim, a fitoterapia é caracterizada pelo tratamento com o uso de plantas medicinais e suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de princípios ativos isolados (SCHENKEL; GOSMAN; PETROVICK, 2000) permitindo que o ser humano se reconecte com o ambiente, acessando o poder da natureza para ajudar o organismo a normalizar funções fisiológicas prejudicadas, restaurar a imunidade enfraquecida, promover a desintoxicação e o rejuvenescimento (FRANÇA et al., 2008).

Segundo Tovar e Petzel (2009), as plantas produzem uma grande variedade de substâncias químicas que podem apresentar diversas atividades biológicas e constituem ainda hoje um recurso terapêutico relevante para uma parcela significativa da população mundial que, não tem acesso aos medicamentos industrializados (TÔRRES et al., 2005).

Existe uma percepção na população que o uso de plantas no tratamento de doenças é natural, seguro, barato e eficaz, sendo essas, muitas vezes, utilizadas no tratamento de doenças crônicas associadas com medicamentos convencionais.

No entanto, segundo a literatura as plantas apresentam muitas substâncias ainda desconhecidas e muitas dessas substâncias podem atuar com a molécula de DNA induzindo danos na molécula, levando ao descontrole do ciclo celular, induzindo assim o surgimento do câncer.

O câncer pode ser definido como um conjunto de doenças que apresentam o aspecto em comum de crescimento desordenado, que desencadeia na formação de uma massa de células denominada neoplasia ou tumor (ALVES, 2012).

Diante do exposto estudos que visem elucidar o mecanismo de ação de compostos que podem alterar o ciclo celular, levando ao surgimento do câncer é de extrema importância.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade tumoral do extrato Etanólico (EX.ETA) e Hexano (EX.HEX) da erva-de-Santa-Maria pelo teste de detecção de clones de tumor (*Warts*) em *Drosophila melanogaster*.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico (EX.ETA) e hexano (EX.HEX) de erva-de-Santa-Maria na sobrevivência da mosca *Drosophila melanogaster*;
- Avaliar a frequência de tumor nos diversos compartimentos da mosca (olhos, cabeça, asas, corpo, pernas e halteres), expostas à diferentes concentrações do EX.ETA e EX.HEX comparando os dados com moscas expostas ao controle negativo (água ultrapura).
- Inferir dados sobre o comportamento dos compostos presentes no extrato.

3 DESENVOLVIMENTO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARCINOGÊNICA DOS EXTRATOS ETANOLICO E HEXANO DE *Chenopodium ambrosioides* PELO TESTE DE DETECÇÃO DE TUMOR EPITELIAL EM *Drosophila melanogaster*

LILIAN CRISTINA BARBOSA¹
NAIARA RIBEIRO DOS SANTOS²

Introdução: A utilização de plantas como recurso terapêutico é uma prática bastante antiga, e desde então tem sido alvo de muitos estudos. Entre elas a *Chenopodium ambrosioides*, conhecida popularmente como erva-de-Santa-Maria, tem sido muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças. *C. ambrosioides* apresenta uma ampla distribuição pelo mundo, utilizada em muitos lugares como febrífugo, antiespasmódico, tônico, auxiliar da digestão, antirreumático e antipirético, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das espécies mais utilizadas entre os remédios tradicionais no mundo inteiro. No entanto é necessário ressaltar o risco do uso indiscriminado de plantas popularmente conhecidas como medicinais devido a vários compostos presentes em seus extratos dos quais muitos deles têm ação desconhecida. Muitas dessas substâncias podem atuar com a molécula de DNA induzindo danos a essa molécula, levando ao descontrole do ciclo celular, induzindo assim o surgimento do câncer. **Objetivo:** Diante do exposto este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade tumoral dos extratos Etanólico e Hexano da *C.ambrosioides* pelo teste de detecção de clones de tumor (Warts) em *Drosophila melanogaster*. **Material e métodos:** O teste utilizado foi o teste de detecção de clones de tumor (Warts) em *Drosophilas melanogaster*. Larvas de *D. melanogaster* de 3º estágio, descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, Sb¹* e machos *mwh/mwh* foram expostas ao extrato Hexânico (concentração 0,0625%) da *C. ambrosioides* e ao extrato Etanólico (concentração 0,0625% e 0,125%). O teste *wts* foi acompanhado de controle negativo, água ultrapura. **Resultados:** Os resultados obtidos com o teste *wts*, para detecção de tumor epitelial em células somáticas de *D. melanogaster*, e em observação à frequência do aparecimento de tumor em várias partes do corpo das moscas, mostrou um resultado negativo para ação carcinogênica do extrato em todas as concentrações utilizadas. No entanto foi observado que nas concentrações maiores houve uma redução no desenvolvimento das *Drosophilas* nos dois estágios de pulpa e adultos quando comparadas ao controle negativo. **Conclusão:** Nas condições experimentais utilizadas os EX.HEX e EX.ETA não apresentou efeito carcinogênico em nenhuma das concentrações utilizadas. Em relação à sua influência no desenvolvimento dos estágios da *Drosophila*, mais estudos são necessários para melhor elucidar o seu efeito repelente.

¹Professora orientadora. Doutora e docente do Curso de Ciências Biológicas, Medicina Veterinária e outros cursos de graduação do UNICERP: lilian@unicerp.edu.br.

²Discentado curso de Ciências Biológicas do UNICERP;

Palavras chave: *Chenopodium ambrosioides*; carcinogenicidade; *Drosophila melanogaster*; tumor.

ABSTRACT

Introduction: The use of plants as a therapeutic resource is a very old practice, and has since been the subject of much study. Among them *Chenopodium ambrosioides*, popularly known as Santa-Maria weed, has been widely used by the population for the treatment of various diseases. *C. ambrosioides* presents a wide distribution throughout the world, used in many places as febrifuge, antispasmodic, tonic, digestive aid, antirheumatic and antipyretic, being considered by the World Health Organization as one of the most used species among traditional remedies worldwide. However, it is necessary to emphasize the risk of the indiscriminate use of plants popularly known as medicinal because of several compounds present in their extracts of which many of them have unknown action. Many of these substances can act with the DNA molecule inducing damage to this molecule, leading to the uncontrolled cell cycle, thus inducing the onset of cancer. **Objective:** In view of the above, the objective of this study was to evaluate the tumor activity of the extracts Ethanol and Hexane of *C. ambrosioides*, (EX.DCL) by the detection test of tumor clones (Warts) in *Drosophila melanogaster*. **Material and methods:** The test used was the detection of tumor clones (Warts) in *Drosophila melanogaster*. *D. melanogaster* larvae of the 3rd stage, descendants of the crossbred between virgin wts / TM3, Sb1 and mwh / mwh males were exposed to the Hexanic extract (concentration 0.0625%) of *C. ambrosioides* and Ethanol extract (concentration 0.0625% and 0.125). **Results:** The results obtained with the wts test, for the detection of epithelial tumor in somatic cells of *D. melanogaster*, and in observing the frequency of tumor appearance in several parts of the body of the flies, showed a negative result for the carcinogenic action of the extract in all the concentrations used. However, it was observed that in the higher concentrations there was a reduction in the development of *Drosophila* in two stages of pupa and adult when compared to the negative control. **Conclusion:** In the experimental conditions used the EX.HEX and EX.ETA had no carcinogenic effect in any of the concentrations used. Regarding its influence on the development of *Drosophila* stages, further studies are needed to better elucidate its repellent effect.

Keywords: *Chenopodium ambrosioides*, carcinogenicity, *Drosophila melanogaster*; tumor.

3.1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pode ser entendido como uma prática que atravessa milênios, estando historicamente presente na sabedoria do senso comum, articulando cultura e saúde, uma vez que estes aspectos não ocorrem isoladamente, mas inseridos em um contexto histórico determinado (ALVIM et al, 2006).

De acordo com Lopes et al. (2005), planta medicinal é toda planta que administrada ao homem ou animal, por qualquer via ou forma, exerça alguma ação terapêutica. O tratamento feito com uso de plantas medicinais é denominado de fitoterapia, e os fitoterápicos são os medicamentos produzidos a partir dessas plantas. Sendo assim, a fitoterapia é caracterizada pelo tratamento com o uso de plantas medicinais e suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de princípios ativos isolados (SCHENKEL; GOSMAN; PETROVICK, 2000) permitindo que o ser humano se reconecte com o ambiente, acessando o poder da natureza para ajudar o organismo a normalizar funções fisiológicas prejudicadas, restaurar a imunidade enfraquecida, promover a desintoxicação e o rejuvenescimento (FRANÇA et al., 2008).

As plantas produzem uma grande variedade de substâncias químicas que podem apresentar diversas atividades biológicas e constituem ainda hoje um recurso terapêutico relevante para uma parcela significativa da população mundial que, não tem acesso aos medicamentos industrializados (TÔRRES et al., 2005). Existe uma percepção na população que o uso de plantas no tratamento de doenças é natural, seguro, barato e eficaz, sendo essas, muitas vezes, utilizadas no tratamento de doenças crônicas associadas com medicamentos convencionais (Tovar & Petzel, 2009).

A *Chenopodium ambrosioides* (*C. ambrosioides*), conhecida popularmente como erva-de-santa-maria, tem sido muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças.

A *Chenopodium ambrosioides* é uma erva perene ou anual, com até 1 metro de altura. Seus frutos são pequenos, ricos em óleo, e são facilmente confundidos com sementes. A planta toda tem cheiro forte e desagradável bem característico. Na

medicina popular brasileira é tida como estomáquica, anti-reumática, e anti-helmíntica. Seu óleo essencial foi usado por décadas para eliminar vermes intestinais, mas foi gradualmente substituído por outros químicos mais eficientes e seguros (SOUSA et al., 2004; LIMA et al., 2006).

No entanto, segundo a literatura muitas plantas podem apresentar além de substâncias benéficas, substâncias tóxicas que interagem com a molécula de DNA causando danos a ela, em um processo chamado de mutação. Já as substâncias que induzem as mutações são chamadas de mutagênicas.

O DNA é uma molécula extremamente estável que pode ter sua sequência de pares de bases alterada após um único ciclo de replicação com incorporação errônea de um nucleotídeo não reparado (alteração espontânea), ou sofrer mecanismo semelhante induzido por agentes físico-químicos e ou biológicos (alteração induzida). Essas alterações, definidas como mutações, se não sofrerem reparo antes do próximo ciclo celular, poderão ser fixadas e constituir mudanças herdáveis. Além das mutações pontuais, os rearranjos cromossômicos, por gerarem pareamentos desiguais, podem alterar de forma drástica a sequência original do DNA

Segundo a literatura muitas substâncias podem atuar com a molécula de DNA induzindo danos na molécula, levando ao descontrole do ciclo celular, induzindo assim o surgimento do câncer, definido como um conjunto de doenças que apresentam o aspecto em comum de crescimento desordenado, que desencadeia na formação de uma massa de células denominada neoplasia ou tumor (ALVES, 2012).

NEVES (2002) declara que o câncer apresenta uma etiologia muito complicada e sabe-se que diversos aspectos estão associados ao desenvolvimento da grande parte dos tumores malignos.

O câncer provém de mutações genéticas onde as células passam a adquirir capacidades especiais, como descontrole na reprodução celular, evasão de apoptose, invasão de outros tecidos e angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) (MARTINEZ et al., 2006).

Os proto-oncogênes e os genes supressores de tumor são de modo abrangente os principais grupos de genes causadores de modificações genéticas relacionadas ao aparecimento de um tumor (BRASIL, 2004). Quando acontecem mutações os proto-oncogênes se tornam oncogênes, que são carcinógenos e atuam na reprodução celular intensa. Os genes supressores de tumor irão ficar inertes por meio da mutação, o que

acarretará na perda da sua funcionalidade deixando a célula ausente de proteção para a prevenção do desenvolvimento inapropriado de tais células (RIVOIRE, 2001).

Vários testes são utilizados para avaliar a atividade tumoral das substâncias. Entre um dos mais recomendados é o teste em tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*.

Testes genéticos em *Drosophila melanogaster* têm sido utilizados por mais de 50 anos na identificação dos produtos mutagênicos e no estudo de seus mecanismos de ação.

A *D. melanogaster*, conhecida popularmente como da mosca-da-fruta, é um organismo eucarionte, da ordem Díptera, com $2n=8$ cromossomos, sendo 3 pares de autossomos e 1 par sexual. É um organismo teste muito utilizado pelos pesquisadores, por ser de fácil manutenção em laboratório, ter um ciclo reprodutivo curto, fornecer um grande número de indivíduos por progênie e apresentar reações metabólicas semelhantes às dos mamíferos, o que permite certo grau de extrapolação para humanos (GRAF, 1994).

Levando-se em consideração tais aspectos, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade tumoral do EX.ETA e EX.HE de erva-de-Santa-Maria em *Drosophila melanogaster*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Extrato Etanólico e Hexano da *C. ambrosioides*

Os Extratos etanólico e hexano foi gentilmente cedido pelo Prof. Dr. Wagner Antônio Bernardes, que produziu-os no laboratório de pesquisa do Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio.

3.2.2 Teste de detecção de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster*

3.2.3 Linhagens de *Drosophila melanogaster*

Para desenvolvimento do teste de detecção de tumor epitelial, foram utilizadas duas linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster*: linhagem *multiplewinghairs* (*mwh*, 3-0,3) e linhagem *warts*(*wts*,3-100).

1) Linhagem *multiplewinghairs*(*mwh*,3-0,3): mantida em homozigose recessiva para o marcador *mwh*, que se encontra localizado no cromossomo 3, na posição distal ao centrômero (*mwh*, 3-0,3). Quando expresso em homozigose recessiva o gene *mwh*, apresenta fenótipo de pelos múltiplos nas asas da mosca, diferente do fenótipo selvagem (um único pelo por célula).

2) Linhagem *warts*(*wts*,3-100): possui o marcador *wts* no cromossomo 3, que é conservado em homozigose na presença do balanceador cromossômico TM3, Sb¹. O marcador *wts*, quando expresso em condição selvagem, atua como um gene supressor de tumor.

Essas linhagens foram mantidas em estoque, em frascos contendo ¼ litro contendo meio de cultura a mingal de fubá (250 mL de água, 4,50 g de fermento biológico seco, 2,50g de farinha de soja, 1,50g de Agar, 30 mL de xarope de glicose, 1,25 mL de solução ácida, 1,50 mL de nipagin) em estufa B.O.D (SOLAB) em ciclos luz/escuro (12h:12h) na temperatura de 25 ± 2°C e 65 ± 5% de umidade relativa.

3.2.4 Cruzamento

O cruzamento foi realizado entre machos *mwh/mwhe* fêmeas virgens da linhagem *wts*. Serão geradas duas progênes desse cruzamento: a progênie MH, trans-heterozigoto marcado (*mwh+/+wts*) e a progênie BH, heterozigoto balanceado (*mwh+/+TM3, Sb¹*). No Teste de Detecção de Tumor epitelial (teste *wts*), apenas a progênie MH é analisada. A identificação é feita mediante a expressão do balanceador cromossômico TM3, Sb¹, aos quais as moscas apresentam fenotipicamente pelos curtos e espessos no seu corpo, sendo assim diferente da progênie MH, que apresenta fenótipo de pelos longos e finos, conforme **Figura 1**.



Figura 1: Fenótipo dos pelos (setas) no corpo da mosca das diferentes progênes.

Fonte: Cortesia do Laboratório de Genética (LABGEN) da Universidade Federal de Uberlândia (2015).

3.2.5 Tratamento

A coleta de ovos do cruzamento *mwh+/+mwhx wts+/TM3, Sb¹* ocorreu durante um período de 8 horas em frascos contendo meio de cultura a base de ágar (4%) e fermento biológico suplementado com sacarose. Após 72 ± 4 horas, as larvas de 3º estágio foram lavadas com água ultrapura MiliQ (Millipore) e coletadas com auxílio de peneira de malha fina. Em seguida as larvas foram mantidas em tratamento crônico (48

horas) até completar o processo da metamorfose. As larvas foram colocadas em *vials* (2,5 cm de diâmetro por 8 cm de comprimento) contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki® Alimentos S.A) e EX.DCL nas concentrações 0,50%; 0,25%; 0,125% e 0,0625%. O teste *wt*s foi acompanhado de controle negativo, água ultrapura.

3.2.6 Análise do material biológico

Após o termino da metamorfose os adultos eclodidos do cruzamento *mwh*^{+/+}*mwh*^x *wt*s⁺/TM3, Sb¹ foram fixados em etanol 70% (v/v) e posteriormente analisados sob lupa estereoscópica em placa de petri com glicerina, com auxílio de pinças entomológicas. Os resultados desta análise foram registrados em um diagrama padrão expressando os números de tumores observados em cada parte do corpo das moscas: cabeça, olhos, corpo, pernas, asas e halteres, separadamente para cada concentração testada.

3.2.7 Infraestrutura

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética da UNICERP, em parceria com a Universidade Federal de Uberlândia (UFU), que disponibilizou alguns materiais necessários ao experimento.

3.2.8 Análise estatística

As diferenças estatísticas entre a frequência de tumores epiteliais nas concentrações testadas e os controles (negativo e positivo) foram calculadas usando o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney, utilizando o nível de significância $P < 0,005$.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A **Tabela 1 e Tabela 2** mostram a frequência de clones de tumor por segmento da *Drosophilamelanogaster* no grupo controle negativo e grupo tratado com diferentes concentrações do EX.HEX e EX.ETA. Pode-se observar que o grupo controle negativo não apresentou frequência alta de tumores, conforme o esperado. Esta discreta indução de tumores observados no grupo tratado com água ocorre devido à predisposição genética do organismo teste.

Já os grupos tratamento com EX.HEX e EX.ETA nas suas diferentes concentrações apresentaram frequência de tumores bem próxima ao grupo controle negativo. Esses dados sugerem a ausência do efeito carcinogênico de ambos os extratos nas condições experimentais utilizadas.

Esses dados são muito importantes, pois sugere o uso seguro da Erva-de-Santa Maria nas condições experimentais utilizadas, uma vez que essa planta é muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças.

Tabela 1. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor *wt^s* de *D. melanogaster* tratados com EX.HEX.

Tratamento (mM)	Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)						Total
		Olhos	cabeça	asas	Corpo	pernas	halteres	
Controle negativo	50	0	0	1	1	0	0	2
EX.HEX 0,0625%	50	0	0	0	0	0	0	0

A **Tabela 2** Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor *wts* de *D. melanogaster* tratados com EX.ETA.

Tratamento (mM)	Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)						
		Olhos	cabeça	asas	Corpo	pernas	Halteres	Total
Controle negativo	50	0	0	1	1	0	0	2
EX.ETA 0,0625%	50	0	0	0	2	0	0	2
EX.ETA 0,125%	50	0	0	0	0	0	0	0

A *Drosophilamelanogaster* é considerada um eficiente organismo teste para avaliação de efeitos carcinogênicos e anticarcinogênicos, isso mediante a alta capacidade de detectar alterações nos genes de controle do ciclo de divisão celular e também por apresentar grande similaridade genômica com o ser humano (FARIA, 2006)apud (NEPOMUCENO E SILVA, 2011).

O estudo da genética tornou-se essencial para compreender afisiopatogenia de doenças, visto que os conhecimentos genéticos fornecem base para a compreensão das funções biológicas celulares do organismo, controladas a partir da expressão de genes codificadores de proteínas e enzimas funcionais e para a compreensão da ação de produtos gênicos (LOURO et al., 2002).

O cenário mundial atual da produção de produtos naturais revela o grande interesse quanto à qualidade e a segurança do que se é consumido pela população. O potencial risco à saúde humana da presença composto desconhecido nos produtos de origem vegetal tem buscado cada vez mais estudos para garantir o uso seguro pela população.

Em relação a atividade mutagênica, vale ressaltar que mais estudos são necessários para melhor elucidar o mecanismo da ação mutagênica do EX.DIC em condições experimentais diferentes.

A **Figura 1 e 2** mostra a taxa de sobrevivência do grupo de tratamento EX.HEX e EX. ETA da progênie resultante do cruzamento *mwh/mwh* x *wts/TM3*.

De acordo com os gráficos abaixo se pode observar que ambos os extratos interferiu no desenvolvimento do estágio de pulpa para adulto, principalmente nas concentrações 1%, 0,5%, 0,25% e 0125%. Esses dados sugerem um efeito inseticida desses extratos nas quatro concentrações maiores. Esses dados estão de acordo com os dados encontrado por Santos et al (2016) onde mostraram que o óleo essencial de *C. ambrosioides* apresentou atividade inseticida de efeito fumigante estatisticamente significativa. Nesse trabalho todos os insetos morreram após 12 horas de avaliação, sendo 100% eficientes causando a morte de todos os insetos.

A avaliação dos valores de redução do número de indivíduos, sobretudo nas concentrações mais altas de cada extrato em estudo, indica uma tendência de ação efetiva do tratamento com os extratos, no que diz respeito à emergência de novos indivíduos.

Assim, segundo os dados apresentados, a ação dos extratos parece inibir tanto a emergência de imagos, quanto a população adulta.

A ação seletiva de alguns inseticidas contra diferentes fases de vida de um dado inseto pode ser explicada, ao menos parcialmente, pelo mecanismo de ação. Neste contexto, inseticidas que agem seletivamente na metamorfose, por exemplo, tem uma probabilidade menor de causar efeitos tóxicos em insetos adultos (Omoto 2000).

O estudo de plantas com propriedades inseticidas tem aumentado em muito nos últimos tempos. As vantagens dos bioinseticidas têm merecido a atenção de especialistas e comunidade em geral, especialmente por suas vantagens potenciais se comparados aos inseticidas sintéticos (Quarles 1992).

Vários trabalhos na literatura reportam a atividades de vários extratos Etanólicos com atividade inseticida.

O trabalho de El-Shazly et al. (1996) reporta a atividade do extrato etanólico de *Neriumoleander* (Apocynaceae) sobre a mosca *Muscinastabulans* (Diptera: Muscidae), mostrando que o extrato aumenta o tempo de duração da fase larval e pupal, produz supressão da oviposição e diminui a longevidade de moscas.

O Extrato de *C. ambrosioides* apresenta vários metabólitos secundários entre eles Flavonóides, terpenos e moterpenos como escaridiol e α -terpineno encontrado no extrato hexânico bruto das folhas (JARDIM et al., 2010).

Segundo a literatura o escaridiol também está presente no óleo essencial de *C. ambrosioides*. Tapondjou et al. (2002) relata que o óleo essencial das folhas de *Cambrosoides* provocou a mortalidade de seis espécies de insetos sendo que a porcentagem em alguns deles chegou a 80%. Sendo assim podemos sugerir o efeito inseticida encontrado nesse extrato se deve principalmente a esse composto.

Flavonóides, saponinas, terpenos, alcalóides e esteróides são classes fitoquímicas importantes quando considerada a atividade bioinseticida de extratos vegetais. Embora preliminares, os resultados apresentados neste trabalho são importantes, uma vez que tentativas para o uso de bioinseticidas no controle de insetos, e porque o combate a inseto alvo requer medidas urgentes dada a sua importância para o setor de fruticultura no Brasil.

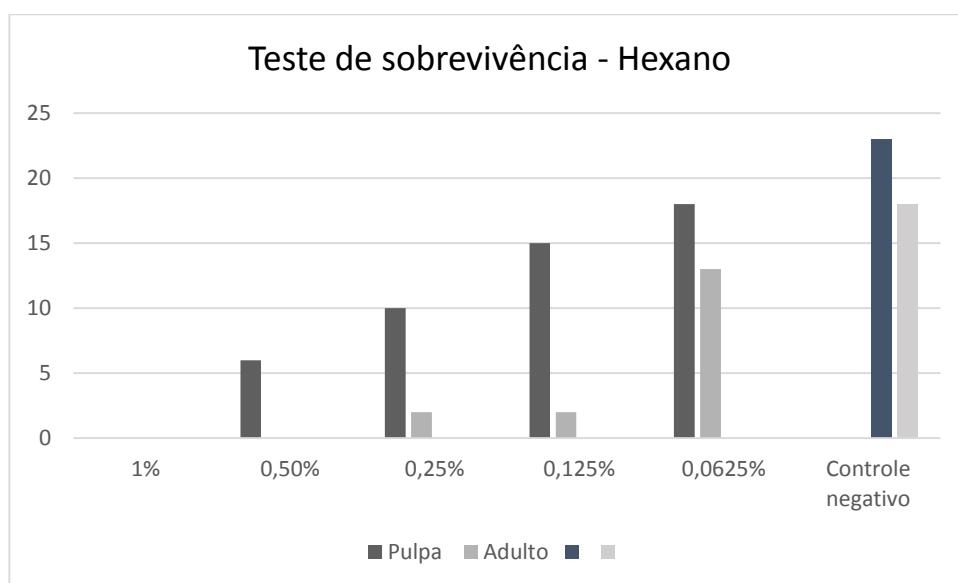


Figura 1: Taxa de sobrevivência da progênie resultante do cruzamento *mwh/mwh* x *wts/TM3*, Água - Controle negativo (CN); extrato Hexano de *C. ambrosioides*

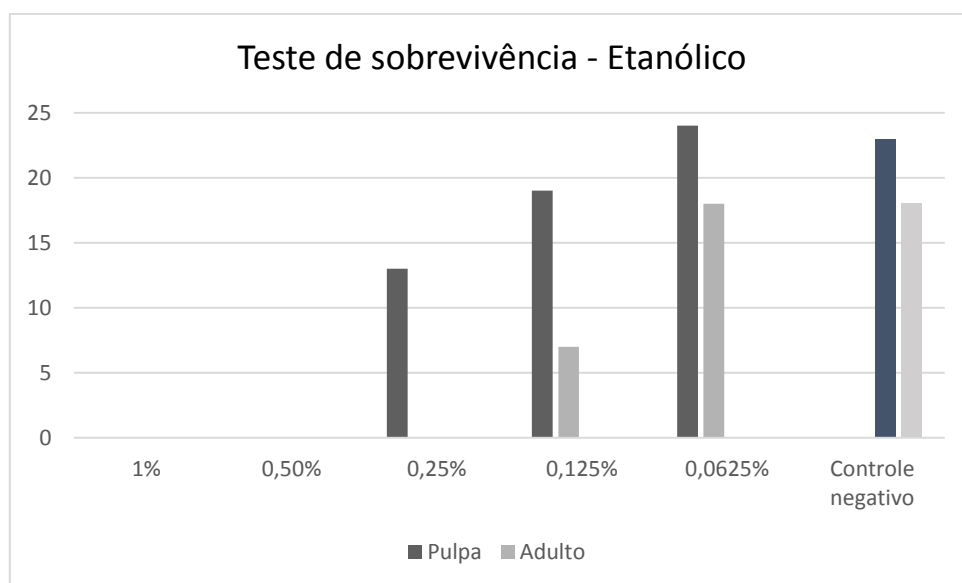


Figura 2: Taxa de sobrevivência da progênie resultante do cruzamento *mwh/mwh* x *wts/TM3*, Água - Controle negativo (CN); extrato Etanólico de *C. ambrosioides*

3.4 CONCLUSÕES

- O grupo controle negativo e tratamento com diferentes concentrações do EX.HEX e EX.ETA não apresentaram diferenças na frequência de clones de tumor por segmento da *Drosophila melanogaster*.
- Foi avaliado o efeito de diferentes concentrações do EX.HEX e EX.ETA na sobrevivência da mosca *Drosophila melanogaster*. Os resultados sugerem a ação inseticida de ambos os extratos nas concentrações.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

JARAMILLO, B. E.; DUARTE, E.; DELGADO, W. Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 17, n. 1, p. 54-64, 2012.

JARDIM, C. M. et al. Composition and antifungal activity of the essential oil of the brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, n. 9, p. 1213-1218, 2008.

JARDIM, C. M. et al. Chemical composition and antifungal activity of the hexane extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 1814-1818, 2010.

JIMÉNEZ-OSORNIO, F. M. V. Z. J.; KUMAMOTO, J.; WASSER, C. Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 3, p. 195- 205, 1996.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 13. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002.

OMOTO, C. 2000. Modo **de ação dos inseticidas e resistência de insetos a inseticidas**. In:GUEDES,J.C.;COSTA,I.D.;CASTIGLIONI,E.(Eds.). In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Eds.). **Bases e técnicas de manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM. p. 31-49.

QUARLES, W. 1992. **BotanicalpesticidesfromChenopodium**. IMPM Practitioner, 14: 1-11.

SOUSA, M. P. et al. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Editora UFC, 2004. 448p.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J.M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso, Goiás, GO, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006

TORRES, M. C. et al. Larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 12, p. 2724-2728, 2008.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A erva-de-Santa-Maria, tem sido muito utilizada pela população para o tratamento de várias doenças, pois seus óleos essenciais contém propriedades vermífugas, antibióticas, antifúngicas, digestivas, antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes.

Diversos estudos são realizados com o intuito de conhecer os potenciais químicos e farmacológicos de várias espécies de plantas medicinais e muitos dados já demonstraram que algumas espécies possuem substâncias mutagênicas e carcinogênicas.

O poder medicinal das plantas se deve a um conjunto de componentes ativos sintetizados em seus tecidos que, a princípio, podem ser considerados terapêuticos, mas também podem causar efeitos indesejados ou tóxicos. Esses componentes, quando introduzidos nos organismos animais, promovem respostas fisiológicas e homeostasia e, de um modo geral, os princípios ativos apresentam mecanismos de ação semelhantes às drogas sintéticas.

Sendo assim, estudos mostrem atividades genotóxicas, carcinogênicas dos compostos, são de extrema importância.

Os resultados encontrados no presente trabalho mostraram que a erva-de-Santa-Maria não apresentou efeito indutor de tumores nos indivíduos utilizados, sugerindo que ela mantém a estabilidade do DNA nas condições experimentais utilizadas. Esses dados são de grande relevância, uma vez que a erva-de-Santa-Maria é muito utilizada na medicina popular brasileira.

7 CONCLUSÕES

- O grupo controle negativo e tratamento com diferentes concentrações do EX.HEX e EX.ETA não apresentaram diferenças na frequência de clones de tumor por segmento da *Drosophila melanogaster*.
- Foi avaliado o efeito de diferentes concentrações do EX.HEX e EX.ETA na sobrevivência da mosca *Drosophila melanogaster*. Os resultados sugerem a ação inseticida de ambos os extratos nas concentrações.

8 REFERÊNCIAS

- JARAMILLO, B. E.; DUARTE, E.; DELGADO, W. Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 17, n. 1, p. 54-64, 2012.
- JARDIM, C. M. et al. Composition and antifungal activity of the essential oil of the brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, n. 9, p. 1213-1218, 2008.
- JARDIM, C. M. et al. Chemical composition and antifungal activity of the hexane extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 1814-1818, 2010.
- JIMÉNEZ-OSORNIO, F. M. V. Z. J.; KUMAMOTO, J.; WASSER, C. Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 3, p. 195- 205, 1996.
- JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 13. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002.
- OMOTO, C. 2000. Modo **de ação dos inseticidas e resistência de insetos a inseticidas**. In:GUEDES,J.C.;COSTA,I.D.;CASTIGLIONI,E.(Eds.). In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Eds.). **Bases e técnicas de manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM. p. 31-49.
- QUARLES, W. 1992. **BotanicalpesticidesfromChenopodium**. IMPM Practitioner, 14: 1-11.
- SOUSA, M. P. et al. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Editora UFC, 2004. 448p.
- SOUZA, C. D.; FELFILI, J.M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso, Goiás, GO, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006
- TORRES, M. C. et al. Larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 12, p. 2724-2728, 2008.