Avaliação da mutagenicidade e antimutagenicidade da *Chlorella* em teste de *Allium cepa*.

Nádia Calvo Martins Okuyama¹; Bruna Isabela Biazi¹; André Gustavo Yonezawa¹; Karina Gualtieri²; Rodrigo Juliano Oliveira³.

Centro de Estudos em Nutrição e Genética Toxicológica CENUGEN, Centro Universitário Filadélfia – UniFil, Londrina, PR

¹Discentes do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL

²Docente do Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL

³Doutor em Nutrição e Genética Toxicológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande – MS.

Palavras chave:, Allium cepa, antimutagenicidade, mutagenicidade.

A *Chlorella* acumula uma imensa quantidade de nutrientes, principalmente proteínas, vitaminas e clorofila. Ela possui proporcionalmente mais proteínas do que a soja, a carne bovina e o trigo. É considerada um importante agente desintoxicador contra metais pesados e ainda, é bastante utilizada como anti-colesterol (HASEGAWA et al.), diabetes, osteoporose e em pacientes em tratamento contra leucopenia. Atualmente, existe um grande interesse na identificação de substâncias presentes na dieta que possuam atividade protetora contra o câncer a fim de resguardar as gerações futuras (FERGUSON, 1994).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a ação mutagênica e antimutagênica da *Chlorella* por meio do ensaio de Allium cepa. Nesta pesquisa avaliou-se a alga em três concentrações distintas 0.075, 0.15 e 0.3g/L .Para a análise da mutagenicidade as células meristemáticas de Allium cepa foram cultivadas na presença de solução aquosa de *Chlorella*. Fez-se também o controle negativo onde as células germinaram somente com água destilada. Na antimutagenicidade, utilizaram-se os protocolos de prétratamento, simultâneo simples, simultâneo com pré-incubação e pós-tratamento. Os meristemas foram coletados ao meio-dia, devido à maior atividade mitótica ocorrer nesse período. As raízes foram fixadas em solução de Carnoy, hidrolisadas, coradas

com reativo de Schiff e Carmim acético. Em seguida fez-se o esmagamento dos meristemas e montagem de lâminas. Analisou-se 5000 células/tratamento, em microscopia de luz (40x), e a análise estatística foi realizada por Qui-quadrado e a pesquisa foi realizada em triplicata. A *Chlorella* não se mostrou mutagênica nas três concentrações avaliadas. Nos protocolos de antimugenicidade as porcentagens de redução de danos foram de 95.68%, 100.00% e 98.92% (pré-tratamento); 91.37%, 95.33% e 93.52% (simultâneo simples); 89.93%, 95.68% e 92.45% (simultâneo com pré-incubação) e 96.04%, 100.00% e 97.49% (pós-tratamento) referentes às três concentrações anteriormente citadas, respectivamente. Diante dos resultados apresentados, verifica-se que os melhores protocolos da pesquisa foram o pré-tratamento e o pós-tratamento, indicando a ação desmutagênica e bioantimutagênica da *Chlorella*. Substâncias desmutagênicas são as capazes de inativar um agente mutagênico por ação direta, podendo ser química ou enzimática, já no caso de substâncias bioantimutagênicas, elas atuam como moduladoras do reparo e replicação do DNA, agindo em nível celular.

O ensaio de Allium cepa é um bom teste seletivo para triagem de compostos antimutagênicos devido a sua rapidez e baixo custo e concordância com outros testes de genotoxicidade.

Tabela 1 – Células com danos e porcentagem de reduç Tratamentos RD	ão de danos referentes ao ensaio de . Células com danos	Allium cepa %
Mutagênicidade		
Controle MMS	11 ^a 104 ^a *	-
Chlorella [1]	13 ^a	-
Chlorella [2]	11 ^a	-
Chlorella [3]	13 ^a	-
Antimutagênicidade		
Pré – Tratamento [1]	15 ^b *	95,68
Pré- Tratamento [2]	11 ^b *	101,00
Pré- Tratamento [3]	12 ^b *	98,92
Tratamento Simultâneo Simples [1]	19 ^b *	91,37
Tratamento Simultâneo Simples [2]	15 ^{b*}	95,33
Tratamento Simultâneo Simples [3]	17 ^b *	95,52
Tratamento Simultâneo com Pré - Incubação [1]	20 ^b *	89,93
Tratamento Simultâneo com Pré - Incubação [2]	15 ^b *	95,68
Tratamento Simultâneo com Pré - Incubação [3]	18 ^b *	92,45
Pós- Tratamento [1]	15 ^b *	96,04

 Pós- Tratamento [2]
 11^{b*}
 100,00

 Pós- Tratamento [3]
 13^{b*}
 97,49

Legenda: [1] - 0,075 g/L; [2] - 0,15 g/L; [3] - 0,3 g/L. Controle - H₂Odestilada; MMS - H₂Odestilada por 72h + MMS (0,010g/L) por 48h; *Chlorella* - H₂Odestilada por 72h + *Chlorella* por 48h; Pré-Tratamento - H₂Odestilada por 24h + *Chlorella* por 48h + MMS 48h; Tratamento Simultâneo Simples-H₂Odestilada por 72h + MMS (0,010g/L) + *Chlorella* por 48h; Tratamento Simultâneo com Pré-Incubação - H₂Odestilada por 72h + MMS (0,010g/L) + *Chlorella* incubados por 1h a 37 0 C por 48h; Pós-Tratamento - H₂Odestilada por 24h + MMS por 48h + *Chlorella* por 48h. a Comparado com o Controle; b Comparado com o MMS; * Diferença estatisticamente significativa (Teste estatístico - Qui-Quadrado - p < 0,05).

REFERÊNCIA

FERGUSON, L. R.. Antimutagens as cancer chemopreventive agents in the diet. *Mutation Res.*, v. 307, p. 395-410, 1994.

Hasegawa, T., Noda, K., Kumamoto, S., Ando, Y., Yamada, A., Yoshikai, Y., 2000. *Chlorella vulgaris* culture supernatant (CVS) reduces psychological stress-induced apoptosis in thymocytes of mice. *Int. J. Immunopharmacol.*,

22(11):877-885. [doi:10.1016/S0192-0561 (00)00049-7]