ARTIGO ORIGINAL

Composição fitoquímica, efeito antiproliferativo e genotoxicidade do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) cultivado sob diferentes períodos de salinidade

Suany Maria Gomes Pinheiro Pinheiro[1], Ana Paula de Souza Mambrí[2], Viviane Dal Souto Frescura[3], Nadine Lysyk Funk[4], Andrielle Wouters Kuhn[1], Kássia Cauana Trapp[2], Jerônimo Luiz Andriolo[1], Aline Augusti Boligon[5], Cristiane de Bona da Silva[5], Solange Bosio Tedesco[1]

[1]Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, Brasil

[2]Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, Brasil

[3]Universidade Federal de Santa Maria, Av. Presidente Vargas,1958, 96506-302, Cachoeira do Sul, Brasil

[4]Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, Brasil

[5]Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, Brasil

**Autor para correspondência: suanygp@hotmail.com*

RESUMO: Este estudo teve como objetivo, identificar a composição química do óleo essencial de alecrim cultivado em diferentes períodos de salinidade, bem como seu efeito antiproliferativo e genotóxico sobre o material genético de *Allium cepa*. As plantas foram cultivadas em abrigo de polietileno no departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, sob diferentes períodos de salinidade. Na testemunha (T1) foi utilizada condutividade elétrica de 1,0 dS/m e nos demais quatro tratamentos a condutividade elétrica da solução nutritiva foi de 5,0 dS/m. Em T2 as plantas ficaram submetidas à solução salina por um período de 50 dias, em T3 por um período de 40 dias, em T4 e em T5 por períodos de 30 e 20 dias, respectivamente. Todas as plantas foram coletadas no dia 12 de dezembro de 2014, 190 dias após o plantio (DAP). Foi realizada extração de óleo das folhas por hidrodestilação em Clevenger e posteriormente realizada cromatografia gasosa. Os óleos essenciais foram avaliados quanto ao efeito antiproliferativo e genotóxico em células de *A. cepa* na concentração de 0,20%. Foram utilizados quatro bulbos de *A. cepa,* por tratamento. As preparações das lâminas foram feitas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética 2%. Os dados foram submetidos ao teste de Sott-Knott ($p<0,05$). Os compostos majoritários do óleo essencial foram, cânfora,1,8 cineol, verbenona, α-pineno e β-mirceno. E este óleo por sua vez, não se mostrou genotóxico e nem apresentou efeito antiproliferativo significativo, com exceção daquele obtido a partir das plantas que permaneceram por um maior período sob condições de salinidade, que inibiram a divisão celular, podendo assim aumentar interesse para a produção de fármacos.

Palavras-chave*: Allium cepa*; índice mitótico; alterações cromossômicas.

ABSTRACT: Phytochemical composition, antiproliferative effect and genotoxicity of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil cultivated under different salinity periods. This study aimed to identify the chemical composition of essential oil of rosemary grown in different periods of salinity and its antiproliferative and genotoxic effect on the genetic material of *Allium cepa*. Plants were grown in polyethylene under the Department of Plant Science the Federal University of Santa Maria, in different periods of salinity. In the control (T1) was used an electric conductivity of 1.0 dS/m and the other four treatments the electrical conductivity of the nutrient solution was 5.0 dS/m. T2 plants were submitted to the salt solution for a period of 50 days, at T3 for a period of 40 days, in T4 and T5 for periods of 30 and 20 days, respectively. All plants were collected on December 12, 2014, 190 days after planting (DAP). The Extraction of oil from the leaf by hydrodistillation in Clevenger was performed and then performed gas chromatography. The essential oils were evaluated for antiproliferative and genotoxic effects

Recebido para publicação em 09/06/2016
Aceito para publicação em 06/02/2022
Data de publicação em 11/02/2022
ISSN 1983-084X

https://doi.org/10.70151/jckkyx15

© 2020 **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**/Brazilian Journal of Medicinal Plants. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

at *A. cepa* cells at a concentration of 0.20%. Was used four *A. cepa*. bulbs per treatment. The preparations the blades were made by of the crushing technique and stained with 2% acetic orcein. The data were submitted to the test Sott-Knott ($p < 0.05$). The majority compounds of the essential oil were camphor, 1.8 cineol, verbenone, α-pinene, and β-myrcene. This oil in turn was not genotoxic and not showed significant antiproliferative effect, except than that was obtained from the plants have remained for a longer period under saline conditions which inhibit cell division, and may thereby increase interest for the production of pharmaceuticals.
Key words: *Allium cepa*; mitotic index; chromosomal alterations

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade as plantas medicinas já eram utilizadas pelo homem, para o tratamento de diversas doenças (Feijó et al. 2012). E, nos últimos anos o consumo dessas vem crescendo, principalmente pelo fato dos altos custos dos medicamentos industrializados, e a falta de assistência médica. Fazendo com que as populações mais carentes busquem nas plantas uma alternativa para a cura de algumas enfermidades (Brasileiro et al. 2008; Battisti 2013).

Uma espécie que é bastante utilizada pela população é o *Rosmarinus officinalis* L., popularmente conhecida como alecrim (Ferrari et al. 2011). Essa por sua vez tem um vasto uso terapêutico, devido à elevada quantidade de princípios ativos. Segundo Diniz e Ribeiro (2008) e Ferrari et al. (2011), o alecrim é utilizado como antisséptico, cicatrizante, digestivo, estimulante, desintoxicante, diurético, além de combater elevados níveis de colesterol e fortalecer o sistema imunológico (Beewick 1998). Esta espécie tem como principal produto o óleo essencial que é resultado do metabolismo secundário das plantas, sendo esse muito utilizado na indústria de cosmético e na indústria alimentícia como um antioxidante natural. (Bozin et al. 2007; Bertolinet et al. 2010).

No entanto, deve-se ter cautela na utilização desses produtos naturais, tendo em vista que a maioria não possui estudos suficientes, em relação ao efeito dessas substâncias sobre a divisão celular e material genético de um organismo alvo. Principalmente pelo fato de que se tratando de metabólitos secundários sabe-se que a composição desses pode variar conforme as condições em que a planta se desenvolve, ou seja, dependendo das condições de cultivo os teores de alguns compostos podem ser alterados, podendo modificar o efeito dessas substâncias no material genético. Sendo então de fundamental importância estudar o efeito do óleo essencial extraídos de plantas cultivadas em diferentes condições de cultivo sob a divisão celular e material genético, para que dessa forma seja possível orientar a população quanto ao seu uso seguro e eficaz. (Fachineto e Tedesco 2009; Frescura 2014)

Segundo Tedesco e Laughinghouse (2012), Frescura et al. (2013) e Pasqualli et al. (2015) um dos testes que vem sendo utilizado para a avaliação do efeito genotóxico e do efeito antiproliferativo de algumas substâncias é sistemas testes de *Allium cepa* L. Esse teste já foi utilizado por vários pesquisadores que compararam os resultados desses com o de testes em animais *in vitro*, obtendo-se resultados semelhantes, demonstrando assim sua eficiência (Camparoto et al. 2002; Teixeira et al. 2003; Pinho et al. 2010).

Luz et al. (2012) avaliando o potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste de *A. cepa* e no teste de micronúcleo em medula óssea de roedores também observaram resultados semelhantes para ambos os testes.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo identificar a composição química do óleo essencial de alecrim cultivado em diferentes períodos de salinidade assim como avaliar seu efeito genotóxico e antiproliferativo.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas de alecrim foram cultivadas em abrigo protegido de polietileno de baixa densidade com espessura de 100 µm, no departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) no período de junho a dezembro de 2014.

As mudas foram adquiridas em comercio local e transplantadas para os vasos de 3 dm^3, que foram preenchidos com areia lavada e colocados sobre as bancadas, sendo essas constituídas de telhas de fribrocimento, revestidas com filme transparente de polietileno de baixa densidade com espessura de 100 µm. Sobre os canais das telhas foram colocados britas basáltica média utilizada na construção civil. Em cada uma das cinco bancadas foram instalados reservatórios com capacidade de 500 l para a estocagem da solução nutritiva.

Para as fertirrigações foram instaladas fitas gotejadoras que eram acopladas a uma bomba de aquário (vazão de 520 l/h) no interior do reservatório que constava a solução nutritiva. As fitas gotejadoras ficaram dispostas de maneira que cada gotejador ficasse por vaso. A fertirrigação foi feita diariamente para repor o volume de água transpirado pelas plantas e essa por sua vez era controlada por

um programador horário. O sistema empregado é considerado fechado, já que a solução drenada era recolhida e retornada ao reservatório de origem. O volume da solução foi completado sempre que o volume era igual ou inferior a 50% do volume inicial.

A solução nutritiva utilizada foi a descrita por Frescura (2014) com a seguinte composição iônica mmol/l: 8,3 de NO_{3-}; 1,0 de NH_4^+; 0,7 de H_2PO_{4-}; 5,0 de K^+; 1,5 de Ca^{2+}; 1,25 de Mg^{2+} e 1,25 de SO_4^{2-}. Os micronutrientes foram fornecidos nas concentrações em mg/l,de 0,03 de Mo; 0,26 de B; 0,06 de Cu; 0,50 de Mn; 0,22 de Zn e 1,0 mg/l de Fe na forma quelatizada. Os macronutrientes foram fornecidos através dos fertilizantes, nitrato de potássio, fosfato monopotássico, nitrato de cálcio-Calcinit® e sulfato de magnésio.

Foram utilizados cinco tratamentos constituídos por quatro períodos de salinidade e a testemunha. Na testemunha (T1) foi utilizada uma condutividade elétrica de 1,0 dS/m e nos demais quatro tratamentos a condutividade elétrica da solução nutritiva foi de 5,0 dS/m, definida com base nos resultados de Frescura (2014). Em T2 as plantas foram submetidas à solução salina aos 140 dias após o plantio, em T3 aos 150 dias, em T4 e em T5 aos 160 e 170 dias após o plantio, respectivamente. Todas as plantas foram coletadas no dia 12 de dezembro de 2014, completando então um ciclo de 190 dias. Dessa forma, o período de salinidade nos quais as plantas ficaram submetidas antes da coleta foi de 50, 40, 30 e 20 dias em T2, T3, T4 e T5, respectivamente.

A condutividade elétrica das soluções nutritivas foi mantida próximo ao valor inicial, sendo corrigidas quando havia um desvio de 10% para mais ou para menos. As correções eram feitas com acréscimos de água ou alíquotas de nova solução nutritiva, dependendo da necessidade. O pH foi mantido entre 5,5 e 6,5 tolerando-se um desvio de 0,2 unidades, mediante adição de NaOH ou H_2SO_4 na concentração 1 *N*, conforme a necessidade.

As coletas foram feitas aos 190 dias após o plantio, nas quais foram coletadas as folhas de cinco plantas por tratamento para a extração do óleo essencial. Assim que foram colhidas, estas folhas foram armazenadas em freezer à temperatura de 4 ºC, até o momento da extração.

Para a extração do óleo essencial foram preparadas quatro amostras de 50 g de cada tratamento a partir das folhas coletadas, constituindo assim quatro repetições. E em seguida foram levadas ao Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Federal de Santa Maria, para ser realizada a extração do óleo essencial utilizando o processo de hidrodestilação em um aparelho de Clevenger durante 3 h, utilizando-se 50 g de folhas, em quatro repetições. O óleo foi seco sobre sulfato de sódio anidro e, após filtração, foi armazenado a 4 ºC.

Depois de extraído, o óleo foi diluído a uma concentração de 0,20% e levado ao Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências de Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, para a realização da análise cromatográfica. A análise do óleo essencial foi realizada por Cromatografia Gasosa com Detecção por Ionização em chama (CG-FID) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) utilizando uma coluna capilar de 30 m x 0,25 mm, espessura de filme 0,25 mm e hélio sendo empregado como gás de arraste.

A identificação dos componentes foi realizada com base no índice de retenção (IR), determinada com referência da série homóloga de *n*-alcanos, C7-C30, sob condições experimentais idênticas, comparando com a biblioteca espectros de massa (NIST e Wiley), e com dados de espectros de massa da literatura (Adams 1995). As quantidades relativas dos componentes individuais foram calculadas com base na área do pico da CG (resposta DIC).

Para a avaliação do efeito do óleo essencial sobre o ciclo celular e material genético de *A. cepa*, o óleo essencial utilizado foi diluído em etanol, obtendo-se a concentração de 0,20 %. A avaliação do efeito do óleo essencial de *R. officinalis* sobre o ciclo celular e material genético de *A. cepa* foi realizada no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade do Departamento de Biologia, do Centro de Ciências Naturais e Exatas na Universidade Federal de Santa Maria. Foram utilizados oito grupos de quatro bulbos, constituindo assim oito tratamentos com quatro repetições cada.

Os bulbos foram colocados em água destiladas por aproximadamente 72 h, para enraizarem e depois de emitidas as raízes, os bulbos foram transferidos para os tratamentos descritos na tabela 1, ficando as raízes submersas nos tratamentos por 24 h com exceção do controle (T1) que ficou em água destilada. Completada às 24 h, às raízes foram coletadas e fixadas em fixador Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético, v/v) por mais 24 h e em seguida transferidas para etanol 70% e armazenadas sob refrigeração até o preparo das lâminas.

Foi utilizada como controle negativo a água destilada e como controle positivo o glifosato 2,0%, que por sua vez já demonstrou induzir alterações cromossômicas em células meristemáticas de *A. cepa* (Souza et al. 2010; Frescura et al. 2012) além de um controle em etanol, pois o óleo foi diluído em etanol para obtenção da concentração de 0,20%.

As preparações das lâminas foram feitas pela técnica de esmagamento e coradas com

orceína acética 2% (Guerra e Souza 2002). Sendo utilizado para a análise das lâminas um microscópio ótico com o aumento de 40 X. Foi feita a contagem de células em interfase e divisão celular, e observadas às alterações cromossômicas totalizando 4000 células por tratamento e 32000 no total do experimento, então calculado o índice mitótico (IM) baseando-se na porcentagem de células em divisão e as porcentagens de alterações cromossômicas. As alterações cromossômicas foram analisadas observando-se as células durante a interfase e divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase), verificando os tipos de irregularidades ocorridas durante esse período.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e comparados pelo teste Scott-Knott ($p<0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, os efeitos antiproliferativo e genotóxico do óleo essencial de alecrim a uma concentração de 0,20% foram avaliados através do sistema teste vegetal de *A. cepa*. O número de células em interfase, e em mitose e o índice mitótico (IM), são mostrados na tabela 2.

Observa-se que o único tratamento de óleo essencial que diferiu estatisticamente do controle negativo (água destilada) foi o T5, ou seja, as plantas que foram cultivadas em um maior período de salinidade, produziram um óleo essencial que na concentração de 0,20% inibiu a divisão celular de *A. cepa*, levando a uma redução dos valores dos índices mitóticos, indicando por sua vez atividade antiproliferativa do óleo essencial da espécie. No entanto para os demais tratamentos não foram observados efeito antiproliferativo, já que o índice mitótico (IM), desses não diferiram da água destilada.

Frescura (2014), avaliando o óleo essencial do alecrim nas concentrações de 3 e 10%, observou uma redução na divisão celular de *A. cepa*, no entanto na concentração de 10% o efeito antiproliferativo foi maior. Resultado semelhante também foi encontrado por Stojanović-Radićet et al. (2010), quando analisaram o efeito do óleo essencial de alecrim sobre células de raízes de *A. cepa*.

Esses resultados podem estar relacionados à composição química do óleo essencial, que conforme a tabela 3, apesar de todos os tratamentos terem obtidos os mesmos compostos majoritários, como a cânfora,1,8 cineol, verbenona, α-pineno e β-mirceno, no T2 foram encontrados teores de

TABELA 1 - Tratamentos utilizados para avaliar o efeito antiproliferativo e genotóxico do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* pelo teste de *Allium cepa*.

T1= Água destilada
T2= Glifosato 2,0%
T3= Etanol
T4= óleo 0,20% (CE de 1,0 dS/m até a coleta)
T5= óleo 0,20% (CE de 5,0dS/m com início aos 50 dias antes da coleta)
T6= óleo 0,20% (CE de 5,0dS/m com início aos 40 dias antes da coleta)
T7= óleo 0,20% (CE de 5,0dS/m com início aos 30 dias antes da coleta)
T8= óleo 0,20% (CE de 5,0dS/m com início aos 20 dias antes da coleta)

TABELA 2 - Média do índice mitótico (IM) de células de *Allium cepa* em intérfase e mitose (prófase, metáfase, anáfase e telófase) nos diferentes tratamentos.

Tratamento	Intérfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)
Água destilada (T1)	3640	190	50	31	89	10,27ª
Glifosato 2,0% (T2)	3751	76	94	22	57	6,20ᵇ
Etanol (T3)	3873	66	22	6	33	3,17ᶜ
Óleo 0,20% (T4)	3721	99	53	32	95	8,35ª
Óleo 0,20% (T5)	3739	134	46	30	51	7,20ᵇ
Óleo 0,20% (T6)	3692	138	54	35	81	8,42ª
Óleo 0,20% (T7)	3713	96	39	27	125	8,15ª
Óleo 0,20% (T8)	3714	129	33	20	104	8,42ª

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de probabilidade de erro; T1= água destilada; T2= glifosato 2,0%; T3= etanol; T4= condutividade elétrica de 1 dS/m; T5= período de 50 dias sob condições salinas; T6= período de 40 dias sob condições salinas; T7= período de 30 dias sob condições salinas; T8= período de 20 dias sob condições salinas. CV%= 16.70.

α-terpineno de 19 a 100% a mais do que os demais tratamentos, assim também como o composto naftaleno, o qual teve sua concentração de 13 a 70% superior aos diferentes tratamentos. Pode-se observar também que o óleo das plantas que ficaram submetidas a um maior período salinidade alcançaram maiores teores de, α-cafeno, eugenol, verbenona e borneol. Portanto, essas substâncias em conjunto e em maiores quantidades podem ter causado o efeito antiproliferativo no óleo essencial de alecrim.

Yuan et al. (2014) avaliando o efeito antiproliferativo do naftaleno associados a outros compostos, verificaram que esses promoveram um aumento da atividade antitumoral. Smeh-Skrbin et al. (2007) estudando a eficácia do naftaleno, no tratamento de pacientes com dermatite atópica, doença na qual é causada pelo aumento da proliferação celular, provou que esse composto tem efeitos anti-inflamatórios e antiproliferativos. Podendo assim o efeito antiproliferativo observado no tratamento em que as plantas ficaram submetidas a um maior período sob condições salinas ser atribuído a maiores teores deste composto. Segundo Fachinetto et al. (2007), é possível que concentrações mais elevadas de alguns compostos apresentem efeito inibitório no ciclo celular. No entanto, são necessários estudos da atuação individual dessas substâncias sobre organismos-alvo.

TABELA 3 - Composição química do óleo essencial de alecrim, nos diferentes períodos de salinidade.

Compostos (%)	RI[a]	RI[b]	T1 0,2%	T2 0,2%	T3 0,2%	T4 0,2%	T5 0,2%
α-Pineno	940	939	8.41	9.82	10.15	9.87	10.26
α-Cafeno	951	953	2.97	3.05	2.98	1.63	1.17
Verbenona	967	967	0.02	0.23	0.19	0.21	0.15
β-Pineno	979	980	0.95	1.17	1.03	1.14	1.26
β-Mirceno	995	991	7.33	9.75	8.45	10.27	11.23
α-Felandreno	1006	1005	0.08	0.32	0.29	0.18	0.42
α-Terpineno	1017	1016	-	0.16	0.08	0.07	0.13
p-Cimeno	1025	1026	3.71	2.49	2.93	2.34	1.97
1,8-Cineol	1033	1033	11.60	15.08	18.52	16.01	15.68
Cânfora	1146	1143	25.52	30.11	29.47	30.15	29.85
δ-Terpineno	1060	1062	1.13	0.58	0.09	0.42	0.14
Linalol	1097	1098	0.39	1.05	0.67	1.18	-
Isoborneol	1154	1156	2.11	0.98	1.03	1.05	0.73
Borneol	1169	1166	1.25	4.04	3.86	2.71	1.64
Mentol	1173	1173	0.49	0.17	0.45	0.28	0.32
Terpin-4-ol	1175	1177	1.87	1.58	1.19	1.05	1.70
Naftaleno	1178	1179	0.09	0.31	0.27	0.13	0.15
α-Terpineol	1190	1189	4.32	3.26	2.95	4.07	3.28
Piperitol<*cis*>	1193	1193	0.18	0.23	0.20	0.29	0.25
Verbenona	1204	1204	10.45	10.69	11.03	10.45	12.06
Pulegona	1238	1237	-	0.11	0.08	-	0.14
Eugenol	1355	1356	0.34	1.07	0.59	0.63	0.97
Cedreno	1412	1411	-	0.16	0.31	0.58	1.03
Cariofileno	1417	1418	3.27	1.30	1.06	2.11	2.47
Aromadendreno	1441	1439	1.84	0.95	0.89	1.06	1.18
α-Muuroleno	1498	1499	-	-	0.13	0.09	0.05
α-Bisaboleno	1506	1504	1.06	0.43	0.06	-	0.62
Óxido de cariofileno	1583	1581	2.07	1.05	0.92	1.06	0.95
Total identificado (%)			**83.04**	**99.95**	**99.97**	**99.75**	**99.80**

T1=água destilada;T2=glifosato 2,0%;T3= etanol; T4= Condutividade elétrica de 1dS/m ; T5= período de 50 dias sob condições salinas; T6= período de 40 dias sob condições salinas; T7= período de 30 dias sob condições salinas; T8 = período de 20 dias sob condições salinas.

Frescura (2014) no município de Santa Maria, RS encontrou os mesmos compostos majoritários no óleo essencial do alecrim, cultivados em diferentes concentrações de solução nutritivas e doses de nitrogênio em ambiente protegido fora do solo.

Quanto ao efeito genotóxico do óleo essencial do alecrim cultivado em diferentes períodos de salinidade, observa-se a partir da tabela 4 que todos os tratamentos diferiram do glifosato 2,0%, mostrando assim que o óleo essencial do alecrim obtido a partir de tais condições na concentração de 0,20% não é genotóxico, ou seja, apesar de ter encontrado algumas alterações cromossômicas nos tratamentos, o número dessas alterações foram menores do que as encontradas no controle positivo (glifosato).

Resultados semelhantes foram encontrados por Frescura (2014) que a uma concentração de 3% de óleo essencial de alecrim observou poucas alterações cromossômicas comparadas ao glifosato. No entanto a concentração de 10% do óleo essencial mostrou- se genotóxico.

As alterações observadas nos óleos essenciais de alecrim a 0,20% foram células irregulares como, por exemplo, células binucleadas e cromossomos perdidos, sendo a primeira citada com maior ocorrência. O aparecimento de células binucleadas pode representar uma falha no processo de citocinese. (Holland et al. 2008). Segundo Lucio Neto (2011) com o aparecimento dessa irregularidade tem-se uma previsão de que no processo de diferenciação celular pode ocorrer algum erro, além dessa anormalidade ser indicadora de agentes genotóxicos (Figura 1).

Por sua vez os cromossomos perdidos podem posteriormente originar micronúcleos, que são formados a partir de fragmentos de cromossomos ou cromossomos inteiros que não foram incluídos no núcleo principal após a conclusão da mitose, podendo essas células resultar em eventos genotóxico. (Stich et al. 1984; Palazzo 2011).

Faria (2005) analisando aspectos comportamentais tóxicos do óleo essencial do alecrim também em camundongos mostrou que o mesmo é seguro até uma dose de 5000 mg/kg.

CONCLUSÃO

As plantas de alecrim cultivadas por um maior período de salinidade, em ambiente protegido fora do solo em condições locais, produzem um óleo essencial que mesmo em baixa concentração (0,20%), possui efeito antiproliferativo e não genotóxico, podendo assim aumentar o interesse para a produção de fármacos. Os compostos majoritários do óleo essencial de alecrim são; a cânfora, 1,8-cineol, verbenona, α-pineno e β-mirceno.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

TABELA 4 - Tipos de alterações observadas em células de *Allium cepa* nos diferentes tratamentos em 4000 células; porcentagem de cada tratamento.(PA/PT= ponte em anáfase e/ou telófase; MN=micronúcleo; CP= cromossomo perdido; CI=Células irregulares; %A= porcentagem de alterações).

Tratamento	PA/PT	MN	CP	CI	%A
Água destilada T1)		2			0,05b
Glifosato 2,0%(T2)	21	4	1	99	3,07a
Etanol (T3)		5		1	0,15b
Óleo 0,20% (T4)			2	6	0,20b
Óleo 0,20% (T5)				2	0,05b
Óleo 0,20% (T6)				2	0,075b
Óleo 0,20% (T7)				6	0,15b
Óleo 0,20% (T8)			2		0,05b

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro; T1= água destilada; T2= glifosato 2,0%; T3=etanol; T4= Condutividade elétrica de 1dS/m ; T5= período de 50 dias sob condições salinas; T6= período de 40 dias sob condições salinas; T7= período de 30 dias sob condições salinas; T8= período de 20 dias sob condições salinas. CV%= 31,70%.

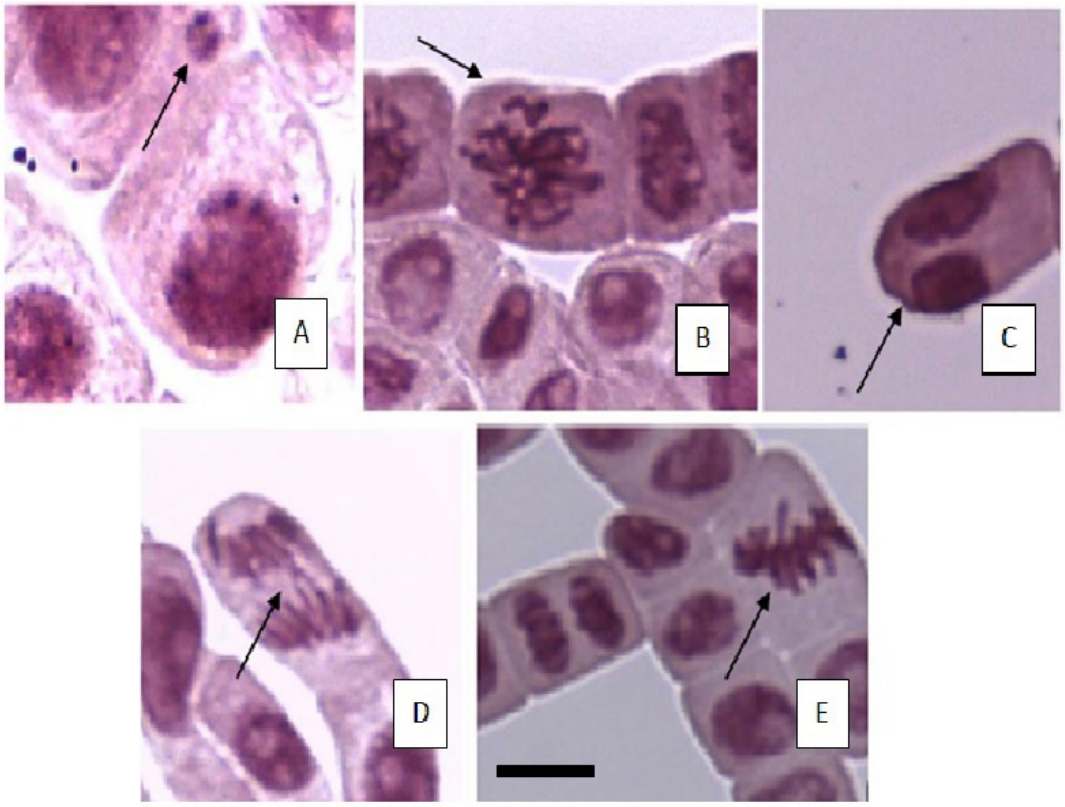


FIGURA 1 - As setas em A e D indicam as alterações cromossômicas nas células de *Allium cepa* submetidas ao glifosato; as setas em B indicam as alterações cromossômicas nas células de *Allium cepa* observadas no óleo essencial de alecrim a 0,20% extraído a parti das plantas que permaneceram por um maior período de salinidade; Na figura C as setas indicam as alterações cromossômicas observadas no óleo essencial a 0,20 % extraído das plantas testemunhas; A figura E mostra células em divisão celular regular A) micronúcleo; B) célula em metáfase com cromossomo perdido; C) célula irregular(binucleada); D) célula em anáfase com ponte; E) célula em metáfase regular. Escala = 10 µm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams RP (1995) Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass spectroscopy. 1.ed. Carol Stream IL: Allured Publishing Corporation. 456p.

Batisti C, Galert TMB, Essi L, Horbach RK, Andrade A, Badke MR (2013) Plantas medicinais utilizadas no município de Palmeira das Missões, RS, Brasil. Rev Bras Biocien 11(3):338-348.

Berwick A (1998) Os 24 óleos essenciais. In: Berwick A Aromaterapia holística. 2.ed. Rio de Janeiro: Nova Era. 166-169.

Bertolin TE, Centenaro A, Giacomelli B, Giacomelli F, Colla L, Rodrigues VM (2010) Antioxidantes naturais na prevenção da oxidação lipídica em charque de carne ovina. Braz J Food Techn 13(2):83-90.

Brasileiro BG, Pizziolo VR, Matos DS, Germano AM, Jamal CM (2008) Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no "Programa de Saúde da Família" Governador Valadares, MG, Brasil. Rev Bras Cienc Farm 44(4):629-636. https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000400009.

Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Jovin E (2007) Antimicrobial and antioxidant properties of Rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) essential oils. J Agric Food Chem 55(19):7879-7885. https://doi.org/10.1021/jf0715323.

Camparoto ML, Teixeira RO, Mantovani MS, Vicentini VEP (2002) Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. Genet Mol Biol 25(1):85-89. https://doi.org/10.1590/S1415-47572002000100016.

Diniz RC, Ribeiro PGF (2008) Alecrim. In: Diniz RC, Ribeiro PGF Plantas aromáticas e medicinais. 1.ed. Londrina: IAPAR. 60-61.

Fachinetto J, Bagatini M D, Durigon J, Silva ACF, Tedesco SB (2007) Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. Rev Bras Farmacogn 17(1):49-54. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100011.

Fachinetto JM, Tedesco SB (2009) Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. Rev Bras Plantas Med 11(4):360-367 https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400002.

Faria LRD (2005) Validação farmacológica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) atividade antinflamatória e analgésica. 49p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Departamento de Zootecnia e Recursos Pesqueiros, Unifenas, Alfenas,

Brasil.
Feijó AM. Bueno MEN, Ceolin T, Linck CL, Schwartz E, Lange C, Meincke SMK, Heck RM, Barbieri RL, Heiden G (2012) Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. Rev Bras Plantas Med 14(1):50-56. https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000100008.
Ferrari GN, Suguino E, Martins AN, Mello SC, Minami K (2011) Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). 1.ed. Série Produtor Rural 49. Piracicaba: ESALQ- Divisão de Biblioteca. 33p.
Frescura VDS (2012) Avaliação do potencial antiproliferativo, genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Briton e *Psychotria birotula* Smith &Downs (Rubiaceae). 73p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia), Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil.
Frescura VDS, Kuhn AW, Laughinghouse HD IV, Paranhos JT, Bosio ST (2013) Post-treatment with plant extracts used in Brazilian folk medicine caused a partial reversal of the antiproliferative effect of glyphosate in the *Allium cepa* test. Biocell 37(2):23-28. http://doi:10.32604/biocell.2013.37.023 .
Frescura VDS Parâmetros fitoquímicos, genotóxicos ede crescimento de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em diferentes salinidades e doses de nitrogênio (2014). 111p. Tese (Doutorado em Agronomia), Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil.
Guerra M, Souza MJ (2002) Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. 1 ed. São Paulo: Funpec, 1-131p.
Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S, Fenech M (2008) The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. Mutat Res 659(2):93-108. https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.03.007.
Lucio NETO MP (2011) Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica do composto 3- (2-cloro-6-fluorobenzil) imidazolidina-2,4-diona em células eucarióticas. 129p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.
Luz AC, Pretti IR, Dutra JCV, Batitucci MCP (2012) Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste *in vivo*. Rev Bras Plantas Med 14(4):635-642. https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400010.
Palazzo RP, Maluf SW (2011) Técnicas micronúcleo com bloqueio da citocinese celular.In: Maluf SW, Riegel M Citogenética Humana. 1ed. Porto Alegre: ARTMED, 180-193.
Pasqualli M, Tedesco M, Bosio ST (2015) Potencial antiproliferativo e genotóxico de extratos de *Allophylus edulis* (A.St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk. pelo teste de *Allium cepa* L. Encicl Biosf 11(21):2365-2372.
Pinho DS, Sturbelle RT, Martino-Roth MG, Garcias GL (2010) Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em teste de *Allium cepa* e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos. Rev Bras Farmacogn 20(2):165-170. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000200005.
Smeh-Skrbin A, Dobric I, Krnjevic-Pezic G, Vrzogic P (2007) Naphthalene in the treatment of patients with atopic dermatites. Acta Dermat Croat 15(1):9-15.
Souza LFB, Pastori T, Tedesco M, Kuhn AW, Canto-Dorow TS, Bosio ST (2010) Genotoxic potential of aqueous extracts of *Artemisia verlotorum* on the cell cycle of *Allium cepa.* Int J Environm Stud 67(6):871-877. https://doi.org/10.1080/00207233.2010.520457.
Stich HF, Rosin MP, Vallejera MO (1984) Reduction with vitamin A and beta-carotene administration of proportion of micronucleated buccal mucosa cells in Asian betel nut and tobacco chewers. Lancet 323(8388):1204-1206. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(84)91692-1.
Stojanović-Radić Z, Nesic M, Comic L, Radulovic (2010) Antimicrobial activity and cytotoxicity of commercial rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis* L.). Biol Nyss 1(1-2):83-88.
Tedesco SB, Laughinghouse HD IV (2012) Bioindicator of genotoxicity: The *Allium cepa* test. In: Srivastava J Environmental Contamination. 1.ed. Rijeka: Intech Publisher 137-156.
Teixeira RO, Camparoto ML, Mantovani MS, Vicentini VEP (2003) Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., *in vitro* and *in vivo* assays. Gen Molec Biol 26(4):551-555. https://doi.org/10.1590/S1415-47572003000400021.
Yuan JW, Wang SF, Luo ZL, Qiu HY, Wang PF, Zhang X, Yang YA, Yin Y, Zhang F, Zhu HL (2014) Synthesis and biological evaluation of compounds which contain pyrazole, thiazole and naphthalene ring as antitumor agents. Bioorg Med Chemis Lett 24(10):2324-2328. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.03.072.