



ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIMUTAGÊNICA DO EXTRATO DAS SEMENTES DE *ERAGROSTIS TEFF*.

Juliana Bondan da Silva¹

Jean fachini²

Julia Pereira Unfer³

Maria Clara Goersch⁴

Jaqueline Nascimento Picada⁵

RESUMO

Eragrostis teff é um grão nativo da Etiópia com alto valor nutricional. No Brasil, esse grão é cultivado na região Centro-Oeste e sua importância no agronegócio vem aumentando nos últimos anos. No entanto, existem poucos dados sobre seus efeitos biológicos. O objetivo deste estudo é avaliar o potencial antimutagênico do *E. teff*. As sementes de *E. teff* foram secas e moídas para obter um pó fino. Os efeitos antimutagênicos foram avaliados utilizando o ensaio *Salmonella*/microssoma. Os mutagênicos doxorubicina (DOX), 4-nitroquinolina N-óxido (4-NQO) e metilmetanosulfonato (MMS) foram usados em procedimentos de pré e co-tratamento realizados sem S9mix. O extrato hidroalcoólico das sementes de *E. teff* (HA-Et) mostrou atividade antimutagênica na linhagem TA100 usando DOX e MMS no pré-tratamento. Na linhagem TA98, que detecta mutação *frameshift*, o HA-Et apresentou efeitos antimutagênicos quando testado com DOX e 4-NQO em co-tratamento. Os resultados obtidos podem estar relacionados ao perfil de aminoácidos e ácidos graxos presentes nas semente de *E. teff*. Em conclusão, as sementes de *E. teff* mostraram efeitos protetores contra mutações gênicas em linhagens TA98 e TA100. Essas informações podem ser úteis para futuras pesquisas aplicadas sobre o uso de sementes de *E. teff* na produção de alimentos saudáveis.

Palavras- chave: antimutagenicidade; *Eragrostis teff*; teste *Salmonella*/microssoma.

¹ Aluna do Curso de Graduação em Biologia – Bolsista Fapergs – julianabonda@gmail.com

² Aluno do Curso de Graduação em Biomedicina-Bolsista CNPq-jeanfachini@hotmail.com

³ Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina- Voluntária-julia.unfer@hotmail.com

⁴ Aluna de Mestrado do PPGBioSaúde – mariaclaranovoemail@gmail.com

⁵ Professora orientadora – jnpicada@gmail.com

INTRODUÇÃO

Eragrostis teff (Zucc) é um cereal que teve origem na Etiópia e Eritreia, rico em aminoácidos e livre de glúten. É utilizado para o preparo de bebidas e alimentos tradicionais, como a injera. Pertence à família Poaceae, que possui aproximadamente 350 espécies, onde apenas a *E.teff* é utilizada para consumo (ASSEFA et al., 2015).

É um grão muito resistente a pragas e as variações de temperatura, sendo assim facilmente armazenado e sem perder sua viabilidade (GEBREMARIAM et al., 2014). Seu tempo de maturação demora de 50-140 dias e sua classificação é de acordo com as ramificações, tamanho das inflorescências e as cores das sementes, variando entre o branco, vermelho, marrom e misto (ASSEFA et al., 2015). O *E. teff*, em conjunto com o sorgo e milho, são plantas C4 ao contrário da maioria dos outros grãos (C3), assim, utilizam o dióxido de carbono de forma mais eficiente durante o processo de fotossíntese (INGRAM; DOYLE, 2003).

Recentemente o *E.teff* tem se tornado conhecido ao redor do mundo, o seu cultivo tem sido adaptado na Austrália, Estados Unidos e na região Centro- Oeste do Brasil, isso devido as suas propriedades nutricionais benéficas. Os aminoácidos essenciais encontrados estão em ótimo equilíbrio, além disso, aminoácidos como isoleucina, leucina, valina, tirosina, treonina, metionina, fenilalanina, arginina, alanina e histidina estão em maior quantidade comparada a outros cereais e grãos (GEBREMARIAM et al., 2014).

A principal fonte de gordura são os ácidos graxos, onde o teor de gordura bruta está entre 2 e 3% com a média de 2,3% em relação ao trigo, arroz integral e centeio. Além disso, o amido é o componente encontrado em maior abundância, podendo chegar a cerca de 70% do peso seco no grão (ZHU, 2018).

O genoma o *E.teff* foi sequenciado, onde 87% do seu tamanho corresponde a 672 Mpb, assim podendo obter o melhoramento genético da planta, beneficiando a agricultura e a qualidade do grão (CANNAROZZI et al., 2014). Em testes *in vitro* o *E.teff* se mostrou capaz de ajudar na prevenção de malária, além de melhorar os níveis de hemoglobina e de ser antioxidante (GEBREMARIAM et al., 2014).

O objetivo deste estudo é avaliar o potencial antimutagênico do extrato proveniente das sementes de *E. Teff* através do teste de *Salmonella*/microsoma (teste de Ames), em linhagens TA98 e TA100 de *Salmonella typhimurium*.

METODOLOGIA

Avaliação da antimutagenicidade usando o teste *Salmonella*/microsoma

Salmonella typhimurium TA98 e TA100 foram utilizados para avaliar a antimutagenicidade de HA-Et em procedimentos de pré e co-tratamento. Doxorrubicina (DOX) e 4-nitroquinolina N-óxido (4-NQO) foram usados para induzir mutações em *S. typhimurium* TA98 e Metilmetanossulfonato (MMS) e DOX em *S. typhimurium* TA100. No procedimento de pré-incubação, o HA-Et foi incubado com as culturas a 37 °C sem agitação por 20 min. Um mutagênico foi então adicionado e a mistura foi ainda incubada por mais 20 min a 37 °C seguido de plaqueamento (PICADA et al., 2003). No co-tratamento, o HA-Et e o mutagênico foram incubados simultaneamente com culturas bacterianas a 37° C, sem agitação, por 20 minutos, seguido de plaqueamento. Todas as placas foram incubadas a 37 °C por 48 h antes da contagem das colônias revertentes. Os ensaios foram repetidos duas vezes e o plaqueamento para cada dose foi em triplicata.

Os resultados foram expressos como média \pm DP e a significância estatística foi determinada pela Análise de Variância de uma via (ANOVA) complementada pelo teste de Dunnett. Em todas as comparações, considerou-se os dados com $p < 0,05$ com significância estatística. Uma substância teste foi considerada antimutagênica quando foi observada uma diminuição significativa no número médio de revertentes em placas contendo a substância teste mais a mutagênica em comparação com placas contendo apenas a mutagênica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato hidroalcoólico de sementes de *E. teff* (HA-Et) mostrou atividade antimutagênica na linhagem TA100 usando DOX e MMS no pré-tratamento, provavelmente protegendo o DNA contra a formação de adutos, que poderiam levar a mutações por substituição de pares de bases. Na linhagem TA98, que detecta a mutação *frameshift*, o HA-Et apresentou efeitos antimutagênicos quando testado com DOX e 4-NQO em co-tratamento, provavelmente por atividades antioxidantes de seus componentes orgânicos, como aminoácidos glutamina e ácidos graxos insaturados (ZHU,2018), inativando espécies reativas de oxigênio ou reagindo diretamente com os mutagênicos.

Tabela 1. Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. teff* sobre a mutagenicidade induzida por doxorubicina (DOX 1 µg/placa) e 4-nitroquinolina N-óxido (4-NQO 0,5 µg/placa) na linhagem de *S. typhimurium* TA98 na ausência de S9 mix.

	Doses de tef (µg/placa)	DOX Revertentes /placa (Média ± DP)	4-NQO Revertentes /placa (Média ± DP)
Pré-tratamento	CN	25,67 ± 8,1	26,7 ± 2,1
	CP	189,3 ± 39,4	273,3 ± 23,9
	250	155,7 ± 32,8	258,7 ± 32,6
	500	175,5 ± 69,9	282,3 ± 56,7
	1000	154,5 ± 87,1	247,0 ± 77,2
	2000	128,5 ± 52,1	337,0 ± 11,3
	5000	173,3 ± 98,1	267,0 ± 15,6
Co-tratamento	CN	29,0 ± 4,6	25,0 ± 4,5
	CP	388 ± 18,4	337,2 ± 30,6
	250	233,7 ± 94,2	316,0 ± 41,0
	500	477,3 ± 70,0	287,7 ± 16,3
	1000	344,3 ± 21,8	165,7 ± 70,7 **
	2000	345,0 ± 17,0	173,3 ± 54,4 **
	5000	252,3 ± 42,3*	157,7 ± 79,0 **

CN: controle negativo; CP: controle positivo. Diferença significativa em relação ao mutageno (CP) ** $p < 0,01$ (ANOVA, Teste de Dunnett).

Tabela 2. Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. teff* sobre a mutagenicidade induzida por doxorubicina (DOX 2 µg/placa) e metilmetanossulfonato (MMS 100 µg/placa) na linhagem de *S. typhimurium* TA100 na ausência de S9 mix.

	Doses de tef (µg/placa)	DOX Revertentes /placa (Média ± DP)	MMS Revertentes /placa (Média ± DP)
Pré-tratamento	CN	93,7 ± 8,1	115,0 ± 11,8
	CP	214,3 ± 36,1	353,3 ± 37,9
	250	138,0 ± 6,9 **	293,0 ± 14,0 *
	500	96,7 ± 14,3 ***	273,7 ± 16,1 **
	1000	128,0 ± 15,6 ***	287,3 ± 14,9 *
	2000	140,7 ± 20,7 **	265,0 ± 27,1 **
	5000	143,7 ± 9,6 **	334,0 ± 29,6
Co-tratamento	CN	99,7 ± 10,7	127,3 ± 16,9
	CP	209,3 ± 59,7	426,0 ± 15,5
	250	204,8 ± 28,7	463,7 ± 41,7
	500	174,6 ± 38,7	376,7 ± 28,9
	1000	177,2 ± 14,7	388,7 ± 45,8
	2000	197,8 ± 13,7	346,7 ± 21,1 *
	5000	183,5 ± 21,3	365,3 ± 28,9

CN: controle negativo; CP: controle positivo. Diferença significativa em relação ao mutágeno (CP) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (ANOVA, Teste de Dunnett).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As sementes de *E. teff* mostraram efeitos protetores contra mutações por substituição de pares de bases e *frameshift* que estão correlacionados com seus perfis de aminoácidos e ácidos graxos.

REFERÊNCIAS

ASSEFA K, CANNAROZZI G, GIRMA D, KAMIES R, CHANYALEW S, PLAZA-WÜTHRICH S, BLÖSCH R, RINDISBACHER A, RAFUDEEN S, TADELE Z. Genetic diversity in tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter]. *Frontiers in Plant Science*, v. 6, p. 177, 2015.

CANNAROZZI, G., PLAZA-WÜTHRICH, S., ESFELD, K., LARTI, S., WILSON, Y. S., GIRMA, D., ET AL. Genome and transcriptome sequencing identifies breeding targets in the orphan crop tef (*Eragrostis tef*). *BMC Genomics*, v. 15, p. 581, 2014.

GEBREMARIAM, M. M., ZARNKOW, M., & BECKER, T. Teff (*Eragrostis tef*) as a raw material for malting, brewing and manufacturing of gluten-free foods and beverages: A review. *Journal of Food Science and Technology*, v.51, p. 2881–2895, 2014.

INGRAM, A. L.; DOYLE, J. J. The origin and evolution of *Eragrostis tef* (Poaceae) and related polyploids: evidence from nuclear waxy and plastid rps16. *American Journal of Botany*, New York. v. 90, p. 116-122, 2003.

PICADA, J. N., MARIS, A. F., CKLESS, K., SALVADOR, M., KHROMOV-BORISOV, N. N., & HENRIQUES, J. A. Differential mutagenic, antimutagenic and cytotoxic responses induced by apomorphine and its oxidation product, 8-oxo-apomorphine-semiquinone, in bacteria and yeast. *Mutation Research*, v.539,p. 29-41, 2013.

ZHU F. Review Chemical composition and food uses of teff (*Eragrostis tef*). ,v.239, p.402-415, 2018.