

POTENCIAL ALELOPÁTICO E ANTIPROLIFERATIVO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM SOBRE O SISTEMA BIOINDICADOR VEGETAL *Lactuca sativa*.

JÉSSICA EL KOURY SANTOS¹; NICHOLAS FARIAS DA ROSA²; MANOELA COLPES VIEIRA³; ERIC AVILA DA FONSECA⁴; IVANDRA IGNÊS DE SANTI⁵,
VERA LUCIA BOBROWSKI⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – jessicaeksantos@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas- nicholas_fr@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas - manoelavieira@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas- eric.fonseca260@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas- CCQFA – ivandra.santi@yahoo.com.br

⁶ Universidade Federal de Pelotas -IB-DEZG- orientadora - vera.bobrowski@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma erva perene nativa da região da Costa do Mar Mediterrâneo. Suas folhas são comumente empregadas como condimento na culinária e o óleo essencial utilizado na indústria de cosméticos, como antioxidante em alimentos processados e na medicina popular no tratamento dores de cabeça, epilepsia e doenças da circulação, ação como antibacteriano; antifúngico, antiviral, antitumoral, anti-inflamatório, antileishmânico e antioxidante (OLIVEIRA et al., 2019).

Devido ao intenso uso de plantas medicinais, as propriedades dos óleos essenciais necessitam ser melhor estudadas quanto a sua potencialidade como antiproliferativo, alelopático e também o efeito citogenotóxico. Para tanto, podemos utilizar biomarcadores que demonstrem o acometimento de danos durante o desenvolvimento devido à presença de substâncias nocivas. A alface (*Lactuca sativa* L.) está entre os organismos-teste mais utilizados para avaliar a fitotoxicidade e a citogenotoxicidade, tem poucos cromossomos, com tamanho grande (2n =18) e apresenta baixo custo de execução e possibilidade de serem realizados continuamente (ŽALTAUSKAITĖ & ČYPAITĖ, 2008).

Dentro deste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar os potenciais citogenotóxico, antiproliferativo e alelopático do óleo essencial de alecrim sobre células meristemáticas de alface como bioindicador.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado com sementes de alface comerciais isentas de produtos químicos (Feltrin®), submetidas ao contato direto (experimento 1) e ao efeito da volatilidade (experimento 2) da solução do óleo essencial de alecrim. O óleo foi extraído das folhas de plantas adultas, por arraste a vapor de água, conforme procedimento realizado no laboratório de produtos naturais do CCQFA/UFPEL sob coordenação do prof. Rogério Freitag e, em seguida, acondicionados em frascos escuros e mantidos em refrigerador a 5°C. Posteriormente, cada óleo foi emulsionado com tween 80 a 5% v/v e dissolvidos em água destilada para a obtenção das seguintes soluções: T2 20mg/L; T3 40mg/L; T4 80mg/L; T5 160mg/L; T6 320mg/L e T7 640mg/L como controle positivo e utilizou-se água destilada (T0) e água destilada + tween 80 a 5% (T1) como controle negativo.

A verificação do potencial alelopático do óleo, nas diversas concentrações, foi realizada por avaliação de germinação e o efeito fitotóxico pelo comprimento das raízes e parte aérea de plântulas. Para o teste de germinação, cinco repetições de 50 sementes foram semeadas em gerbox por cada tratamento, tendo como substrato uma folha de papel germiteste, umedecidas com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. No teste do contato direto, logo após a semeadura, 1mL da solução de cada concentração de óleo foram distribuídos no papel. Para o efeito da volatilidade, após a semeadura, foram adicionadas 1 ml de cada concentração em bolinhas de algodão colocadas ao centro de cada gerbox. Em seguida, foram levadas para câmara de germinação, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e a porcentagem de germinação avaliada no quarto e no sétimo dia após a semeadura. Consideraram-se germinadas as sementes que apresentaram protrusão da radícula.

O efeito citogenotóxico dos tratamentos foi verificado pela análise da divisão mitótica e calculados os índices mitótico (IM), metafásico (IMet) e anafásico (IAf), e o efeito mutagênico pela análise das anormalidades cromossômicas ou índice de mutagenicidade (IMut). Para tanto, as radículas foram coletadas aos quatro dias após a semeadura, fixadas e analisadas de acordo com GUERRA; SOUZA, (2002). Para cada tratamento foram analisadas 5000 células/tratamento.

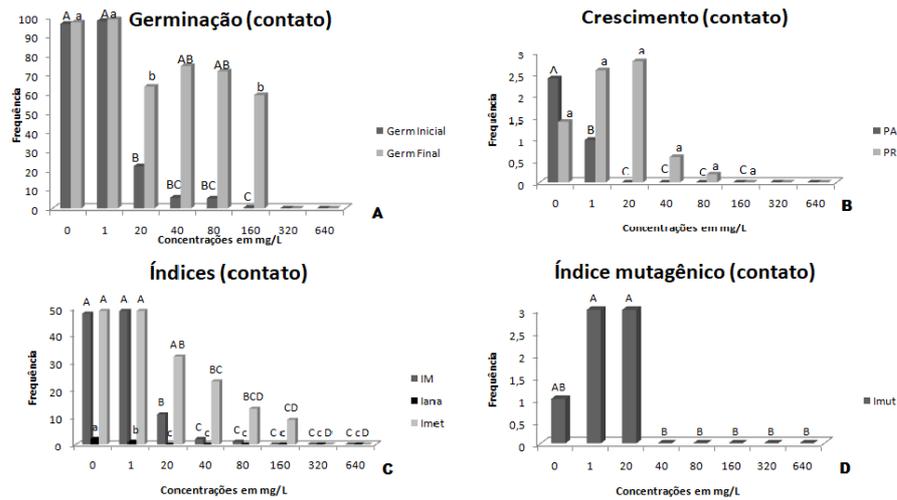
O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise da normalidade residual, atendendo as pressuposições, também foi realizada a análise de variância e para comparação das médias foi aplicado o teste de tuckey a 5% de probabilidade de erro utilizando o programa Statistix9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao efeito alelopático, no experimento 1 (contato) a germinação inicial sofreu uma redução drástica em todos as concentrações de óleo de alecrim testadas. Porém ao avaliarmos esta germinação aos 7 dias observamos que as concentrações de 40 e 80 mg/L não influenciaram de forma estatisticamente significativa quando comparados com os controles negativos. Mas acima de 160 mg/L não houve germinação o que afetou as demais variáveis analisadas nestes tratamentos (Fig 1A). No experimento 2 (volátil) a germinação inicial sofreu uma redução significativa conforme aumento da concentração do óleo de alecrim, Porém, na análise da germinação final, as concentrações de 40, 80, 320 e 640 mg/L causaram uma redução estatisticamente significativa em relação aos controles (Fig 2A).

Avaliando o efeito fitotóxico pela análise de crescimento, no experimento 1 o desenvolvimento da parte aérea (PA) foi fortemente afetado pelo óleo de alecrim, pois a partir da concentração de 20mg/L houve uma redução acentuada e estatisticamente significativa. Entretanto, observando os dados de parte radicular esta não foi tão afetada, pois não houve diferença estatisticamente significativa entre as doses (Fig. 1B). No experimento 2, a comparação das médias da parte aérea foi similar ao do experimento 1, para parte radicular os dados apresentaram menor responsividade que a os da parte aérea (Fig. 2B).

Estes resultados evidenciam a presença de compostos alelopáticos no óleo de alecrim, pois segundo RODRIGUES et al. (1992) estes que atuam como inibidores de germinação e crescimento, interferindo na divisão celular, permeabilidade de membranas e na ativação de enzimas.

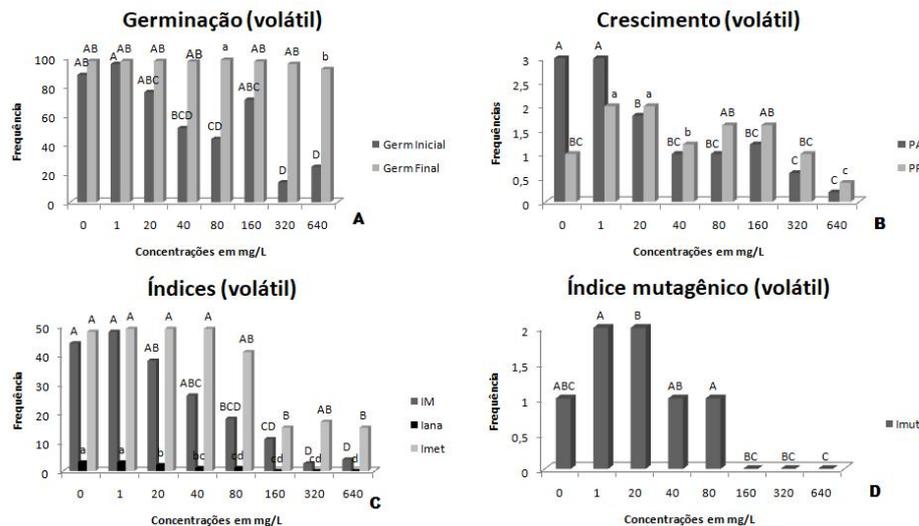


* Letras maiúsculas distintas nas colunas indicam diferença estatística ao nível de 0,05% pelo teste de Tuckey; Letras minúsculas distintas nas colunas também indicam diferença estatística ao nível de 0,05% pelo teste de Tuckey.

Figura 1: Análise da germinação inicial e final, crescimento, índice mitótico, índice anafásico, índice metafásico e índice mutagênico do experimento de contato.

Quanto a citotoxicidade, no experimento 1 observamos que houve uma redução significativa da divisão celular em todas as concentrações testadas, refletindo em todos os índices avaliados (Fig. 1C). No experimento 2 o óleo de alecrim influenciou significativamente a divisão celular das células meristemáticas analisadas a partir da concentração de 40 mg/L, indicando um efeito antiproliferativo. A redução dos IMet e o IAna fica mais evidente a partir da concentração de 80mg/L (Fig.2C). Segundo PERES et al., (2014) a citotoxicidade e a genotoxicidade de substâncias podem ser avaliadas, respectivamente, através de alterações no processo de divisão celular sobre o organismo-teste e pela incidência de mutações cromossômicas, como quebras cromatídicas, pontes anafásicas, perda de cromossomos inteiros ou formação de micronúcleos.

A mutagenicidade foi avaliada através da análise do número de alterações do tipo aneugênicas e clastogênicas. No experimento 1 devido a redução significativa no número de células em divisão estas observações ficaram prejudicadas, pois há necessidade de divisão celular ativa para proceder de forma efetiva a análise (Fig. 1D). No experimento 2, apesar de maior número de células em divisão ativa, essa análise também ficou prejudicada nas concentrações acima 80mg/L, nas demais concentrações não foram observadas diferenças estatisticamente significativa quando comparadas aos controles negativos (Fig.2D). Segundo MAJER et al., (2005) o primeiro efeito de agentes genotóxicos é promover lesões no DNA (oxidação e dimerização de bases, adutos de DNA, entre outras) e essas lesões podem ter 3 destinos: reparo, alterações irreversíveis e morte celular, o que poderia explicar a redução de divisão celular observada, nos experimentos.



* Letras maiúsculas distintas nas colunas indicam diferença estatística ao nível de 0,05% pelo teste de Tuckey; Letras minúsculas distintas nas colunas também indicam diferença estatística ao nível de 0,05% pelo teste de Tuckey.

Figura 2: Análise da germinação inicial e final, crescimento, índice mitótico, índice anafásico, índice metafásico e índice mutagênico do experimento de efeito da volatilidade.

4. CONCLUSÕES

Através da análise dos resultados do óleo essencial de alecrim em diferentes concentrações, foi possível verificar atividade alelopática, fitotóxica e citotóxica para as concentrações mais altas testadas neste experimento, com efeito mais significativo por contato.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GUERRA, M.; SOUZA M.J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo, Funpec, 2002. 131 p.

MAJER, B. J.; GRUMMT, T.; UHL, M.; KNASMÜLLER, S. Use of plant bioassays for the detection of genotoxins in the aquatic environment. **Acta Hydrochimica Hydrobiologica**, Weinheim, v. 33, n. 1, p. 45-55, 2005.

OLIVEIRA, J.R. de, CAMARGO, S.E.A., OLIVEIRA, L.D. *Rosmarinus officinalis* L. as therapeutic and prophylactic agent. **J Biomed Sci.**, v.26, n.5,p.1-22, 2019.

PERES, P.R.; MUNHOS, A.A.; UGOSKI, L.R.; FREITAG, R.A.; BOBROWSKI, V. L.. O uso de compostos antioxidantes naturais e seu efeito genotóxico/citotóxico. In: **CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL**, Pelotas, 2014, **Anais...** Pelotas: Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 2014. On line Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/cic/anais/anais2014/>

RODRIGUES, L.R.A; RODRIGUES, T.J.D; REIS, R.A. **Alelopatia em plantas forrageiras**. Jaboticabal: FUNEP, 68p. 1992.

ŽALTAUSKAITĖ, J.; ČYPAITĖ, A. Assessment of landfill leachate toxicity using higher plants Assessment of landfill leachate toxicity using higher plants. **Environmental Research - Engineering and Management**, v.46, p.42-47, 2008