



EFEITO DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE *Myrsine coriacea* NO CICLO CELULAR DE *Lactuca sativa*

EFFECT OF *Myrsine coriacea* LEAF AQUEOUS EXTRACT IN THE CELL CYCLE OF *Lactuca sativa*

***Thammyres de Assis Alves*¹, *Thayllon de Assis Alves*¹, *Mitsue Ito*¹, *Marina Santos Carvalho*¹
*Milene Miranda Praça Fontes*¹.**

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, thammyresalves@gmail.com, thayllonalves@gmail.com, mitsue.ito@gmail.com, marinasantosufes@gmail.com, milenemiranda@yahoo.com.br

Apresentado na

30ª Semana Agronômica do CCAE/UFES - SEAGRO 2019

16 à 20 de Setembro de 2019, Alegre - ES, Brasil

RESUMO - O estudo do potencial alelopático de plantas tem ganhado importância em virtude dos produtos poderem ser usados na produção de bioherbicidas, bem como no gerenciamento do manejo das culturas. *Myrsine coriacea* é uma espécie que apresenta diferentes atividades biológicas reconhecidas. Assim, é uma espécie potencial para pesquisas que investigam a atividade alelopática de plantas. Os bioensaios vegetais são utilizados para avaliar a alelopatia das espécies, sendo a *Lactuca sativa* um modelo. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a atividade alelopática de três concentrações (50, 25 e 12,5mg mL⁻¹) do extrato aquoso foliar de *M. coriacea* no ciclo celular de *L. sativa*. Para isso foram realizadas avaliações citológicas, sendo observadas e quantificadas as diferentes fases do ciclo mitótico (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase) de meristemas radiculares de alface tratadas com as três concentrações do extrato aquoso de *M. coriacea*. Os resultados demonstraram a inibição da entrada das células em nova divisão a partir da redução de células em prófase e do aumento de células em interfase. Tais resultados demonstram a interferência do extrato na divisão celular, bem como, seu potencial alelopático nas diferentes concentrações avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: Alelopatia; Bioensaio vegetal; Bioherbicidas; Citotoxicidade; Manejo de culturas.

KEYWORDS: Allelopathy; Bioherbicides; Crop management; Cytotoxicity; Plant bioassay.

SEÇÃO: Biotecnologia e Melhoramento de plantas

INTRODUÇÃO

A aplicação de agroquímicos é uma medida corriqueira e necessária para a manutenção da produtividade agrícola na atualidade. Entretanto, discussões referentes ao uso de tais moléculas sintéticas, e especialmente, relacionadas à classe dos herbicidas sintéticos, têm sido levantadas. A primeira preocupação está relacionada com a real eficiência



desses compostos, uma vez que muitas plantas daninhas já apresentam resistência após várias aplicações do composto; o segundo fato discutido é referente à saúde humana e os impactos ambientais que os agroquímicos podem promover (EDDLESTON et al., 2002; TRANEL; WRIGHT, 2002; CABRERA et al., 2008; PINHEIRO et al., 2015). Destarte, uma maneira alternativa para minimizar tais problemas e manter a produtividade é a aplicação de bioherbicidas.

A investigação da atividade alelopática das plantas e seus mecanismos de ação são relevantes para a produção agrícola. Tais informações são utilizadas tanto com o objetivo de buscar potenciais bioherbicidas, o que é uma maneira alternativa para controlar as plantas daninhas, reduzindo consequentemente, a aplicação de herbicidas sintéticos nas lavouras; quanto para o gerenciamento do manejo das culturas, visando que espécies vegetais com efeito alelopático não sejam cultivadas próximas às outras, buscando sempre uma maior produtividade (IGANCI et al., 2006).

Nesse sentido, uma alternativa é a utilização de extratos e óleos essenciais de plantas com atividade biológica. Esse potencial se deve à combinação de diferentes compostos químicos, que proporcionam atividades como inseticidas, larvicidas, herbicidas e medicinais (MACÍAS et al., 2008). *Myrsine coriacea* é uma espécie utilizada em paisagismos, para a produção de carvão, na alimentação humana como condimento, em construções civis, e em projetos de restauração ambiental, além disso, seus frutos são utilizados para alimentação da fauna silvestre (CRUZ et al., 2013). Assim, é uma espécie potencial para estudos alelopáticos.

O potencial alelopático de plantas são investigados por meio de bioensaios vegetais com espécies modelo como a *Lactuca sativa* (alface). Essa planta é aplicada como bioindicador de toxicidade por ter sementes pequenas e numerosas, número e caracterização cromossômica bem elucidados, facilitando a pesquisa em laboratório, além de ser facilmente obtida em casas rurais (ARAGÃO et al., 2015). Assim, objetivou-se avaliar a atividade alelopática de três concentrações (50, 25 e 12,5mg mL⁻¹) do extrato aquoso foliar de *M. coriacea* no ciclo celular de meristemas radiculares da planta modelo *L. sativa*.

METODOLOGIA

Folhas adultas de *M. coriacea* foram coletadas de diferentes indivíduos e locais variados na região sul do estado do Espírito Santo – Brasil. As folhas foram liofilizadas por 48h e, após, foram pesadas e trituradas para preparo do extrato aquoso (15g de folha em 300 mL de água destilada aquecida à 80-90°C). Após descanso de 10 minutos, o extrato foi filtrado e o primeiro concentrado (50 mg mL⁻¹) foi obtido (ALMEIDA et al., 2006; PRICHOA et al., 2013). Em seguida, foram realizadas as diluições para obtenção dos extratos aquosos com concentração de 25 e 12,5mg mL⁻¹.

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado, de maneira que cada tratamento foi constituído por cinco repetições com 25 sementes cada. A germinação das sementes comerciais de *L. sativa* foi realizada em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com papel filtro e regadas com os tratamentos, sendo água destilada utilizada como controle negativo. Lacrou-se com papel filme as placas e adicionou-as em câmara de germinação (BOD) à 24°C±2°C, onde permaneceram durante 48h (PINHEIRO et al., 2015).

Após as 48h de exposição aos tratamentos as raízes obtidas foram coletadas e fixadas em Álcool etílico:Ácido Acético (3:1), e armazenadas a -20°C por pelo menos 24 horas. A análise citogenética foi realizada, sendo as lâminas preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com Orceína acética 2% (ARAGÃO et al., 2015).

Cerca de 5000 células meristemáticas, por tratamento, foram avaliadas, sendo observadas e quantificadas as diferentes fases do ciclo mitótico (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase).

Os dados acessados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias obtidas foram comparadas com o controle pelo teste de Dunnett a 5% de significância. Este teste estatístico foi utilizado por ser mais indicado em experimentos com tratamentos e controles (BERNARDES et al., 2015). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa genes (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO



A porcentagem de células em interfase apresentou aumento significativo nas células tratadas com o extrato nas concentrações de 50 e 12,5mg mL⁻¹ em 2,67% e 2,95%, respectivamente, quando comparados com o controle (Figura 1). O aumento da frequência de células em interfase demonstra que pode ter ocorrido um bloqueio da mitose, com um prolongamento do período de uma das três fases da interfase (G1, S e G2). Logo, as células não estão atendendo as necessidades bioquímicas necessárias, ao chegarem nos pontos de checagem, para mudarem da fase que se encontram para a subsequente (ARAGÃO et al., 2015; ARAGÃO et al., 2017).

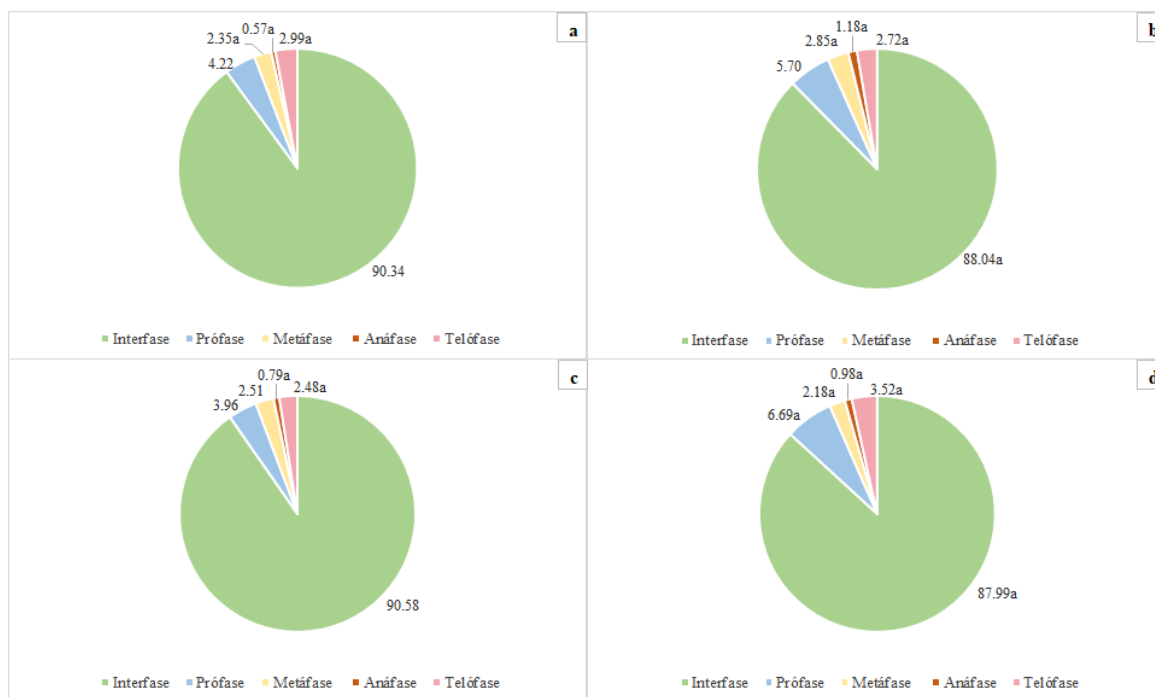


Figura 1. Porcentagem de cada fase do ciclo mitótico observadas em células meristemáticas de raízes de *Lactuca sativa* tratadas com extrato aquoso foliar de *Myrsine coriacea* nas concentrações de 50mg mL⁻¹ (a), 25mg mL⁻¹ (b), 12,5mg mL⁻¹ (c) e água destilada – controle negativo (d). Onde as médias seguidas pela letra a se igualaram ao controle negativo de acordo com o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Corroborando com o aumento de células em interfase, o extrato também promoveu redução da porcentagem de células em prófase de 21,51%, 14,39% e 24,52% nas concentrações de 50, 25 e 12,5mg mL⁻¹, respectivamente (Figura 1). O prolongamento das células em interfase promove, consequentemente, redução de células em prófase. Além disso, essa redução indica que o ponto de checagem da entrada em mitose está sofrendo inibição (ARAGÃO et al., 2015; ARAGÃO et al., 2017).

Houve aumento de 46,49% na frequência de células em metáfase nos meristemas tratados com o extrato na concentração de 12,5mg mL⁻¹ (Figura 1). O incremento de células nessa etapa do ciclo celular indica a ocorrência de alteração no funcionamento dos microtúbulos, podendo ser até mesmo a inativação completa da maquinaria de formação do fuso mitótico. Isso impede que a célula passe para próxima etapa do ciclo celular (ARAGÃO et al., 2015; ARAGÃO et al., 2017).

Os resultados demonstram que o extrato aquoso foliar de *M. coriacea* apresenta efeito alelopático. Dessa forma, é importante que o cultivo da mesma seja manejado para não interferir no desenvolvimento de plantas adjacente, bem como, indica seu potencial bioherbicida.



CONCLUSÃO

O extrato aquoso foliar de *Myrsine coriacea* apresentou efeito alelopático frente ao ciclo celular de células de meristemas radiculares de *Lactuca sativa* em todas as concentrações testadas. Tal efeito foi demonstrado pela alteração no número de células em diferentes fases da divisão, onde houve aumento da frequência de células em interfase e redução de células em prófase, ou seja, o extrato em estudo promove a inibição da mitose de plantas adjacentes. Destarte, tal planta apresenta potencial bioherbicida e seu plantio deve ser manejado para evitar cultivo de outras culturas próximas, as quais podem sofrer redução na produtividade devido à ação alelopática do extrato.

AGRADECIMENTOS

À FAPES, CNPq, UFES e CAPES. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, K. C.; BARBOSA, T. R.; SILVA, R. N. R.; JACQUES, D. S.; FREIRE, R. B. Efeito citotóxico do infuso aquoso de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 87, n.2, p. 60-62, 2006.
- ARAGÃO, F. B.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; FERREIRA, A.; COSTA, A. V.; QUEIROZ, V. T.; PINHEIRO, P. F. Phytotoxic and cytotoxic effects of *Eucalyptus* essential oil on *Lactuca sativa* L. **Allelopathy Journal**, v. 35, n.1, p. 259-272, 2015.
- ARAGÃO, F. B.; QUEIROZ, V. T.; FERREIRA, A.; COSTA, A. V.; PINHEIRO, P. F.; CARRIJO, T. T.; ANDRADE-VIEIRA, L. F. Phytotoxicity and cytotoxicity of *Lepidaploa rufogrisea* (Asteraceae) extracts in the plant model *Lactuca sativa* (Asteraceae). **Revista de Biologia Tropical**, v. 65, n.2, p. 1-10, mar, 2017.
- BERNARDES, P. M.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; ARAGÃO, F. B.; FERREIRA, A.; FERREIRA, M. F. S. Toxicity of difenoconazole and tebuconazole in *Allium cepa*. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 226, p. 207-218, jul, 2015.
- CABRERA, L.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do Estado do RS. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, p. 1982-1986, nov, 2008.
- CRUZ, C. D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n.3, p. 271-276, jul-set, 2013.
- CRUZ, A. B.; KAZMIERCZAK, K.; GAZONI, V. F.; MONTEIRO, E. R.; FRONZA, L. M.; MARTINS, P.; YUNES, R. A.; BÜRGER, C.; TOMIO, T. A.; FREITAS, R. A.; MALHEIROS, A. Bio-guided isolation of antimicrobial compounds from *Rapanea ferruginea* and its cytotoxic and genotoxic potential. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 19, p. 1323-1329, maio, 2013.
- EDDLESTON, M.; KARALLIEDDE, L.; BUCKLEY, N.; FERNANDO, R.; HUTCHINSON, G.; ISBISTER, G.; KONRADSEN, F.; MURRAY, D.; PIOLA, J. C.; SENANAYAKE, N.; SHERIFF, R.; SINGH, S.; SIWACH, S. B.; SMIT, L. Pesticide poisoning in the developing world: a minimum pesticides list. **Lancet**, v. 360, n.9340, p. 1163-7, out, 2002.
- IGANCI, J. R. V.; BOBROWSKI, V. L.; HEIDEN, G.; STEIN, V. C.; ROCHA, B. H. G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n.1, p. 79-82, jan-mar, 2006.



- MACÍAS, F. A.; OLIVEROS-BASTIDAS, A.; MARÍN, D.; CARRERA, C.; CHINCHILLA, N.; MOLINILLO, J. M. G. Plant biocommunicators: their phytotoxicity, degradation studies and potential use as herbicide models. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, p. 179–194, jan, 2008.
- PINHEIRO, P. F.; COSTA, A. V.; ALVES, T. A.; GALTER, I. N.; PINHEIRO, C. A.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. M. R.; PRAÇA-FONTES, M. M. Phytotoxicity and cytotoxicity of essential oil from leaves of *Plectranthus amboinicus*, carvacrol and thymol in plant bioassays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 63, p. 8981-8990, out, 2015.
- PRICHOA, F. C.; LEYSER, G.; OLIVEIRA, J. V.; CANSIAN, R. L. Comparative allelopathic effects of *Cryptocarya moschata* and *Ocotea odorifera* aqueous extracts on *Lactuca sativa*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 2, p. 197-202, abr-jun, 2013.
- TRANEL, P. J.; WRIGHT T. R. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? **Weed Science**, v. 50, p. 700-712, nov, 2002.