

POTENCIAL ALELOPÁTICO E ANTIPROLIFERATIVO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM SOBRE UM SISTEMA BIOINDICADOR VEGETAL

JESSICA EL KOURY SANTOS¹; ALINE ALVES ROSENDO²; NICHOLAS FARIAS DA ROSA³; NILTON MARQUES JUNIOR⁴; ROGERIO ANTONIO FREITAS⁵, VERA LUCIA BOBROWSKI⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – jessicaeksantos@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas- aline.alves.rosendo@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – nicholas_fr@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas- niltonjunior1994@outlook.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas- CCQFA – rafreitag@gmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

Nas plantas, os óleos essenciais desenvolvem funções relacionadas à volatilidade, atuando para atrair polinizadores, para proteger contra predadores e patógenos, e também para fazer funções ecológicas, especialmente como um inibidor de germinação. Diferentes autores relataram a possibilidade de utilização de óleos essenciais nas atividades agrícolas por suas ações inseticidas, fumigante e fungicida tornando-se assim uma alternativa viável aos pesticidas químicos (OLIVEIRA et al., 2015; KAISER et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017). Em adição a todas essas possibilidades de uso, os óleos essenciais revelam-se também como potentes inibidores da germinação de sementes e do desenvolvimento de diferentes espécies de plantas demonstrando ação de alelopática (OOTANI et al., 2013; SILVA et al., 2017).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma espécie de grande importância devido à produção de óleo essencial utilizado na indústria de cosméticos e cresce no mundo inteiro o interesse pelo alecrim com fins fitoterápicos. Estudos têm demonstrado que o óleo essencial de alecrim apresenta efeito antibacteriano, antifúngico, anti-inflamatório, antioxidativo e antitumoral (CARDOSO et al., 2014).

Todavia, o efeito tóxico desse óleo necessita ser melhor estudado quanto a sua potencialidade alelopática e antiproliferativo. Ensaios biológicos utilizando espécies vegetais como organismos alvos são utilizados para o monitoramento da bioatividade sendo aquelas mais sensíveis como *Lactuca sativa* L. (alface), *Lycopersicon esculentum* Miller (tomate) e *Cucumis sativus* L. (pepino), consideradas plantas indicadoras de atividade alelopática (ALVES et al., 2004).

Para tanto, o objetivo deste trabalho foi identificar efeitos citotóxico, genotóxico e alelopático do óleo essencial de alecrim sobre o bioindicador vegetal *Cucumis sativus* (pepino).

2. METODOLOGIA

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Genética (LabGen) do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas – RS. As sementes de pepino comerciais isentas de produtos químicos (Isla®), foram submetidas ao efeito do óleo essencial de alecrim. Os óleos foram extraídos 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 deas seguintes soluções T3 20mg/L; T4 40mg/L; T5 80mg/L; T6 160mg/L; T7 320mg/L e T8 640mg/L e utilizou-se água destilada (T1) e Tween 5% (T2) como controle negativo.

A verificação do potencial alelopático do óleo, nas diversas concentrações, foi realizada por avaliação de germinação e comprimento das raízes de plântulas. Para o teste de germinação, 16 repetições de 25 sementes foram semeadas em gerbox, tendo como substrato uma folha de papel mata-borrão, umedecidas com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Logo após a semeadura, 1mL da solução de cada concentração de óleo foram distribuídos em papéis-filtro (2cmx2cm), colados na tampa do gerbox, evitando o contato direto. 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 oitavo dia após a semeadura. Consideraram-se germinadas as sementes que apresentaram protrusão da radícula. Durante o período do experimento realizou-se o monitoramento da umidade do papel germiteste e para mantê-lo umedecido foi adicionando 2mL quando necessário.

Os efeitos citotóxico e genotóxico dos tratamentos foram verificados pela análise da divisão mitótica e calculados os índices mitótico (IM), metafásico (IMet) e anafásico (IAf), e das anormalidades cromossômicas (IAC). Para tanto, as radículas foram coletadas aos quatro dias após a semeadura, fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético glacial) e mantidas em freezer até a análise. Para proceder a análise das lâminas foi utilizada a técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002), hidrolisados em HCL 5 N durante dez minutos, lavados em água destilada e coradas comorceína acética 2%.

Para cada tratamento foram analisadas cinco lâminas e observadas 400 células/lâmina pela técnica de varredura, totalizando 2000 células/tratamento.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do potencial alelopático do óleo essencial de alecrim foi avaliada através do teste de germinabilidade e foi verificado que houve diferença significativa quanto à porcentagem de germinação aos quatro dias após a semeadura entre o controle negativo água (T1) e os diferentes tratamentos utilizados. Porém, ao oitavo dia após a semeadura os tratamentos T1= água destilada como controle negativo, T2= tween, T3= 20 mg/L óleo de alecrim e T4= 40 mg/L óleo de alecrim não apresentaram diferença estatística significativa entre si, mas os controles negativos (T1 eT2) diferiram significativamente dos tratamentos com óleo essencial de alecrim (Tab. 1). A visualização de alterações no índice de germinação das sementes revela ação tóxica e/ou citotóxica de extratos ou substâncias testadas (LUZ et al. 2012 apud HISTER et al., 2016).

São considerados compostos alelopáticos aqueles que atuam como inibidores de germinação e crescimento, que interferirem na divisão celular, permeabilidade de membranas e na ativação de enzimas (RODRIGUES et al. 1992). Assim, a redução na germinabilidade das sementes frente ao aumento das concentrações do óleo essencial de alecrim testado indica um efeito citotóxico, que pode ser decorrente de ação alelopática de influência negativa sobre as sementes de pepino.

Tabela 1 – Percentagem de germinação de sementes de pepino aos 4 e 8 dias após a semeadura, o índice mitótico (IM), índice metafásico (IMf), índice anafásico (IAf), índice de aberrações cromossômicas (IAC) e Índice interfásico (IInt) em células meristemáticas radiculares de pepino tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de alecrim.

Tratamentos	Germin Inicial	Germin Final	IM	IMet	IAf	IAC	IInt
1	65 A	92 A	2,0 B	0.0 A	0.0 A	0 A	97,6 A
2	57 AB	88 A	4,0 AB	0.0 A	0.2 A	0 A	95,8 AB
3	37 BC	77 AB	7,4 A	0.4 A	0.4 A	0 A	92,6 B
4	39 BC	78 AB	3,2 AB	0.4 A	0.8 A	0 A	96,8 AB
5	35 BC	69 B	0,4 B	0.0 A	0.0 A	0 A	99,6 A
6	32 C	70 B	1,4 B	0.2 A	0.0 A	0 A	98,6 A
7	37 BC	68 B	1,8 B	0.2 A	0.0 A	0 A	98,2 A
8	39 BC	61 B	0,6 B	0.0 A	0.0 A	0 A	99,4 A

T1= água destilada como controle negativo, T2= tween , T3= 20 mg/L óleo de alecrim dissolvido em água e Tween a 5%, T4= 40 mg/L óleo de alecrim, T5= 80mg/L óleo de alecrim, T6= 160mg/L óleo de alecrim, T7= 320mg/L óleo de alecrim e T8= 640mg/L óleo de alecrim. Médias com letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey (P<0,05).

Os resultados obtidos nesse trabalho não indicaram uma ação genotóxica sobre o índice metafásico (IMet), índice anafásico (IAf) e a ocorrência de alterações cromossômicas (IAC), mas obteve-se diferença estatística significativa entre os resultados obtidos para o tratamento T3 e os demais tratamentos, aumentando o número de células em divisão celular quando comparado aos outros tratamentos, mas o mesmo não difere estatisticamente de T2 e T4 para a variável índice de interfase (IInt) e índice mitótico (IM).

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.

FISKESJO (1993, 1994) citado por BAGATINI et al. (2007), ressaltou a importância e a utilidade de sistemas testes vegetais na avaliação de riscos de genotoxicidade e enfatizou que apesar das diferenças entre os metabolismos de plantas e animais, há também similaridades, e que a ativação de pró-mutagênicos em plantas possui alta relevância, pois seres humanos consomem plantas tratadas com agentes químicos ou produtoras de aleloquímicos.

4. CONCLUSÕES

Através da análise dos resultados do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L em diferentes concentrações, foi possível verificar atividade alelopática e não genotóxica, indicando seu potencial para inibição de germinação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M. da C.S., MEDEIROS FILHO, S., INNECCO, R.; TORRES, S.B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.11, p.1083-1086, 2004.

BAGATINI, M.D.; SILVA, A.C.F. da; TEDESCO, S.B.. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa , v. 17, n. 3, p. 444-447, Sept. 2007.

CARDOSO, G.H.S., DANTAS, E.B.S., SOUSA, F.R.C., PERON, A.P. Citotoxicidade de extratos aquosos de *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) em sistema-teste vegetal. **Brazilian Journal of Biology**, v.74, n.4, p. 886-889, 2014.

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

HISTER, C. A. L., TRAPP, K.C., TEDESCO, S.B. Potencial alelopático e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine sobre *Lactuca sativa* L. **R. Bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 14, n.2, p. 124-129, 2016.

KAISER, I.S., ALVES, S.B., ANJOS, B.B. dos, FRAGOSO, D.F.M., ATAIDE, J.O., PRATISSOLI, D. Efeito de óleos essenciais cítricos sobre *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera:Noctuidae). *Revista Univap*, v. 22, n. 40, Edição Especial, 2016.

OLIVEIRA, C.R.F.; MATOS, C.H.C.; BRITO, S.S.S.; MAGALHÃES, T.A.; FERRAZ, M.S.S., Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.17, n.4, supl. III, p.1150-1158, 2015.

OLIVEIRA, J.V. de; FRANÇA, S. M. De; BARBOSA, D.R. e S.; DUTRA, K. de A.; ARAUJO, A.M.N. de; NAVARRO, D.M. do A.F. Fumigação e repelência de óleos essenciais sobre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em feijão-caupi, **Pesq. agropec. bras.**, v.52, n.1, p.10-17, 2017.

OOTANI, M.A., AGUIAR, R.W., RAMOS, A.C.C., BRITO, D.R., SILVA, J.B. da, CAJAZEIRA, J.P.. Use of Essential Oils in Agriculture. **J. Biotec. Biodivers.**, v. 4, n. 2, p. 162-175, 2013.

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.

SILVA, C.P. da; RICCI, T.G.; ARRUDA, A.L.de; PAGLIOSA, F.M.; MACEDO, M.L.R.. Extratos Vegetais de Espécies de Plantas do Cerrado Sul-Matogrossense com Potencial de Bioherbicida e Bioinseticida. **UNICIÊNCIAS**, v. 21, n. 1, p. 25-34, 2017.