



EFEITO ALELOPÁTICO E CITOTÓXICO DE *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br SOBRE BIOTESTE DE *Allium cepa* L.

BISPO¹, Rosimeire Barboza; BISPO¹, Rosimara Barboza; ROCHA¹, Vera Lucia Pegorini; TIAGO², Auana Vicente; ROSSI³, Ana Aparecida Bandini

¹Graduanda de Biologia, Universidade do Estado do Mato Grosso, Alta floresta, MT. e-mail: rosimeirebarboza1@hotmail.com

²Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, MT. e-mail: auana_bio@hotmail.com

³Professora e Doutora, Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, MT. e-mail: anabanrossi@gmail.com

Seção temática: Fitotecnia e Fitossanidade

Resumo: Objetivou-se avaliar o efeito alelopático e citotóxico do extrato aquoso de folhas de cordão-de-frade sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de cebola. Os extratos aquosos foram obtidos pelo método de infusão de folhas de *L. nepetifolia* nas concentrações 1, 2, 4, 8, e 16 g mL⁻¹ por 10 minutos a 100°C. As variáveis analisadas foram: primeira contagem (PC), porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), parte aérea (CPA) e parte radicular (CR). Para determinar o índice mitótico (IM), foram contadas, 2000 células/concentração. Os dados foram submetidos à Análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As diferenças do efeito alelopático foi observada nas concentrações de 1 e 16 g mL⁻¹, as alterações citotóxicas encontradas foram anáfase e telófase com pontes e micronúcleo. Houve efeito alelopático do extrato inibindo o IVG. Segundo a análise mitótica a planta possui efeito citotóxico e genotóxico.

Palavras-chave: cordão-de-frade; genotoxicidade; índice mitótico.

EFFECT OF ALLELOPATHIC AND CYTOTOXIC *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br ON THE BIOASSAY *Allium cepa* L.

Abstract: Aimed to evaluate the allelopathic and cytotoxic effect of aqueous extract of cordão-de-frade sheets on seed germination and early development of onion seedlings. The aqueous extract was obtained by infusion method leaves of *L. nepetifolia* at concentrations of 1, 2, 4, 8, and 16 g mL⁻¹ for 10 minutes at 100 ° C. The variables analyzed were: first count (PC), germination percentage (PG), germination speed index (GSI), aerial part (CPA) and roots (CR). To determine the mitotic index (MI), were counted 2000 cells / concentration. Data were evaluated by analysis of variance and Tukey's test at 5% probability. Differences of allelopathic effect was observed at concentrations of 1 and 16 g mL⁻¹, cytotoxic alterations were anaphase and telophase with bridges and micronucleus. There was allelopathic effect of the extract inhibits the IVG. Second meiotic analysis the plant has cytotoxic and genotoxic effects.



Keywords: cordão-de-frade; genotoxicity; mitotic index.

INTRODUÇÃO

Leonotis nepetifolia (L.) R. Br. conhecida popularmente como cordão-de frade é um arbusto de origem africana, da família Lamiaceae, introduzida como ornamental em todos os continentes, que apresenta comportamento invasivo por sua baixa exigência nutricional, alto índice de fertilidade, sementes aladas e dormentes quando em condições desfavoráveis (CRUZ et al., 2011).

Segundo a tradição popular, são atribuídas às suas preparações propriedades tônica, estimulante, sudorífica, béquica, peitoral, balsâmica, antiespasmódica, antiasmática, diurética, antirreumática, febrífuga, vulnerária, estomática, carminativa, antinevrálgica e amarga (CORRÊA et al., 1998). Estudos fitoquímicos evidenciaram a presença de diterpenos labdanos, cumarinas lactonas sesquiterpênicas em seu óleo essencial, além de flavonóides glicosídeos, triterpenóides, cafeína, alcalóides, iridóides e feniletanóides glicosídeos (LORENZI e MATOS, 2002), sendo muitas dessas substâncias alelopáticas.

A alelopatia é definida como um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de uma determinada planta (aleloquímicos) liberados no ambiente podem interferir de forma positiva ou negativa em outros organismos. De acordo com Silva (1978) os compostos alelopáticos liberados por uma planta poderão interferir na germinação das sementes, afetar o crescimento da planta e até mesmo prejudicar seu desenvolvimento normal. Tradicionalmente, para a determinação do potencial alelopático de uma planta, tem-se recorrido inicialmente à técnica dos extratos aquosos (SANTOS et al., 2002).

Está técnica realizada em laboratório é considerada a mais simples e usual, pois é capaz de melhor isolar o efeito alelopático de outras interferências (GOMIDE, 1993), bem com avaliar a citotoxicidade de uma substância, 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 (SOUZA et al., 2005).

A resistência ou tolerância aos compostos químicos que podem atuar desencadeando efeitos alelopáticos ou citotóxicos é mais ou menos específica, existindo espécies mais sensíveis que outras, como, por exemplo, alface (*Lactuca sativa* L.) e cebola (*Allium cepa* L.) (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Assim, diante de sua importância ecológica e medicinal, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito alelopático e citotóxico do extrato aquoso de folhas de cordão-de-frade sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de cebola.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Sementes e Matologia e no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Campus Universitário de Alta Floresta, MT.

Para a obtenção dos extratos foram utilizadas folhas da planta, que após pesadas foram submetidas a infusão com água destilada (100 mL) a 100°C por 10



minutos, tendo ao final a obtenção de soluções em 5 concentrações (1, 2, 4, 8 e 16 g mL⁻¹).

Em caixas gerbox forradas com papel germitex foram distribuídas 50 sementes de *A. cepa* sendo quatro repetições por tratamento totalizando 200 sementes/tratamento. As caixas foram etiquetadas e molhadas com suas devidas concentrações, sendo usado um tratamento com água destilada como controle. Em seguida o experimento foi colocado em câmara de germinação do tipo B.O.D a temperatura de 25°C durante 14 dias.

O teste de primeira contagem de germinação (PC), teste de germinabilidade (PG) e índice de velocidade de germinação (IVG), foram realizados segundo as regras para análise de sementes (BRASIL, 2009). Para análise do comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento radicular (CR) foram coletadas dez plântulas por repetição sendo mensurada a parte aérea e a radicular com paquímetro digital.

Para análise do índice mitótico (IM), foi empregada a técnica de esmagamento (GUERRA e SOUZA, 2002). As radículas foram coletadas entre o quarto e quinto dia sendo fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético glacial) e armazenadas em freezer para posterior uso. O material para análise do IM foi preparado adicionando-se as radículas em água destilada por 5 minutos, em seguida transferidas para solução de HCl 5N durante 15 minutos em temperatura ambiente e novamente submetidas a água destilada por mais 5 minutos a seguir coradas com orceína acética 5%. As células foram analisadas por varredura, em microscópio ótico com aumento de 400X sendo analisadas 2.000 células para cada um dos tratamentos, observando-se o número de células em cada fase da mitose. O índice mitótico (IM) foi obtido através da seguinte equação (PRATES et al., 2001): $IM = (m/T) \times 100$ (m= número de células em mitose; T =número total de células).

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR para Windows (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de primeira contagem realizado ao sétimo dia e a porcentagem de germinação ao final do 14^o dia não apresentaram diferença significativa entre o tratamento controle (0 g mL⁻¹) e as demais concentrações (1, 2, 4, 8 e 16 g mL⁻¹) evidenciando que o extrato de *L. nepetifolia* nas diferentes concentrações testadas não afetou o processo de germinação de cebola quando comparadas com o controle (Tabela1). Resultados semelhantes foram evidenciado por Borges et al. (2011) com o uso de extrato de folhas frescas de *Ricinus communis* sobre sementes de cebola, onde observaram que a qualidade fisiológica da semente não foi afetada pelas diferentes concentrações do extrato, pois esses não apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação às diversas concentrações e o controle.

O IVG na concentração de 16 g mL⁻¹ apresentou o menor índice de velocidade de germinação (15,80) se diferindo estatisticamente do controle e do tratamento 1 g mL⁻¹, que obteve os maiores índices (18,24 e 18,31; respectivamente). A dificuldade em evidenciar alguma atividade alelopática sobre o IVG, primeira contagem e germinabilidade também foi evidenciado por Ferreira e Áquila (2000) onde destacam



III SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Conservação de solos na Amazônia Meridional

13 a 16 de outubro de 2015 Alta Floresta-MT Universidade do Estado de Mato Grosso

Cáceres, v. 2, n. 1, 2015

ISSN 2358-5978

que para verificar efeitos alelopáticos, os testes de germinação, em geral, são menos sensíveis do que aqueles que avaliam o desenvolvimento das plântulas, como comprimento da radícula ou parte aérea.

Quanto ao desenvolvimento das plântulas, é possível observar que o extrato de folhas de *L. nepetifolia* na concentração mais alta (16 g mL^{-1}) causou efeito inibidor no crescimento do hipocótilo de cebola, e que o tratamento na menor concentração 1 g/mL^{-1} teve efeito contrário, estimulando o crescimento do hipocótilo se comparado com o controle. O mesmo foi observado para CR tendo as concentrações 8 e 16 g/mL^{-1} reduzido o crescimento da radícula de cebola se compara com o controle e as demais concentrações.

Tabela 1. Índice de velocidade de germinação (IVG), primeira contagem (PC), porcentagem de geminação (PG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento radicular (CR) e índice mitótico (IM) de sementes de cebola submetida a diferentes concentrações de extratos aquosos das folhas de *L. nepetifolia*.

Tratamento g mL^{-1}	PC	PG	IVG	CPA	CR	IM
0	100,00a	100,00a	18,24 ^a	55,88ab	15,01a	95,35a
1	99,50a	99,50a	18,31 ^a	58,30a	16,84a	84,45bc
2	100,00a	100,00a	16,85ab	51,70ab	13,82a	81,40c
4	99,00a	99,00a	17,23ab	50,47ab	11,78a	91,95ab
8	99,00a	100,00a	16,09ab	40,38ab	7,54b	89,05abc
16	98,59a	100,00a	15,80b	28,14b	6,68b	95,30a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

O percentual médio do IM do controle não apresentou diferença significativa entre as concentrações 4, 8 e 16 g mL^{-1} , mas se diferiu das concentrações 1 e 2 g/mL^{-1} , que revelaram os menores percentuais de divisões mitótica (84,45 e 81,40), revelando assim o efeito citotóxico do extrato nas menores concentrações (Tabela 1). Esse resultado corroboram com Iganci et al. (2006) onde constataram que não só a inibição no processo de germinabilidade, mas também interferiu acelerando o processo de divisão celular em células de cebola.

O efeito genotóxico neste estudo foi detectado nas células de cebola tratadas com os extratos nas concentrações de 1 e 2 g mL^{-1} , sendo encontrados anáfase com pontes, telófase com ponte e micronúcleo. Pastori et al. (2015) em estudos realizados com extratos de *P. punctatum* em raízes de *A. cepa* evidenciaram vários tipos de alterações da divisão celular, como a formação de micronúcleo, divisão celular desorganizada com cromossomo perdido, quebra cromossômica, cromossomo atrasado e pontes anafásica. O que evidencia o cuidado que se deve ter ao se automedicar com plantas medicinais, visto que muitas delas são pouco investigadas e conseqüentemente, seu potencial citotóxico e genotóxico ainda não é conhecido.



CONCLUSÕES

Houve efeito alelopático do extrato da folha de *L. nepetifolia* inibindo o IVG e o crescimento inicial das plântulas com o aumento das concentrações do extrato. A análise meiótica indicou que a planta possui efeito citotóxico e genotóxico.

AGRADECIMENTOS

A UNEMAT pela concessão da bolsa de Iniciação à Pesquisa. Ao HERBAM – Herbário da Amazônia Meridional e ao Laboratório de Tecnologia de Sementes e Matologia por todo apoio científico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORGES, C.S.; CUCHIARA C.C.; SILVA S.D.A.; BOBROWSKI V.L. Efeitos citotóxicos e alelopáticos de extratos aquosos de *Ricinus communis* utilizando diferentes bioindicadores. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 5, n. 3, p. 15-20, 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- CORRÊA, A.D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L.E.M. **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica**. 2. ed. Petrópolis: Editora, 1998. p. 320.
- CRUZ, V.B.; TRESVENZOL, L.M.F.; FERREIRA, H.D.; PAULA, J.R.; PAULINO, N. *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br. (Cordão-de-frade): biologia e uso tradicional. **Revista de Pesquisa e Inovação Farmacêutica**, São Paulo, v. 3, n. 1, p. 15-28, 2011.
- FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 175- 204, 2000.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GOMIDE, M.B. **Potencialidades alelopáticas dos restos culturais de dois cultivares de cana-deaçúcar (*Saccharum sp.*), no controle de algumas plantas daninhas**. 1993. 96 f. Tese (Doutoramento em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.
- GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em Citogenética vegetal, animal e humana**. São Paulo: Funpec, 2002. 131 p.
- 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. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 79-82, 2006.
- LORENZI, H., MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 2002. p. 238-239
- PASTORI, T.; KUHN, A.W.; TEDESCO, M.; HOFFMANN, C.E.; NEVES, L.A.S.; CANTO-DOROW, T.S.; TEDESCO, S.B. Ação genotóxica e antiproliferativa de *Polygonum punctatum* Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 17, n. 2, p.186-194, 2015.
- PRATES, H.T.; PAES, J.M.V.; PIRES, N.M.; PEREIRA, I.A.; MAGALHÃES, P.C. **Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.35, n.1, p.909-914, 2001.



III SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Conservação de solos na Amazônia Meridional

13 a 16 de outubro de 2015 Alta Floresta-MT Universidade do Estado de Mato Grosso

Cáceres, v. 2, n. 1, 2015

ISSN 2358-5978

SANTOS, J.C.F.; SOUZA, I.F.; MENDES, A.N.; MORAIS, A.R. Efeito de extratos de cascas de café e de arroz na emergência e no crescimento do caruru-de-mancha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 783-790, 2002.

SILVA, Z.L. Alelopatia e defesa em plantas. **Boletim Geográfico**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 258-259, p. 90-96, 1978.

SOUZA, S.A.M.; CATTELAN, L.V.; VARGAS, D.P.; PIANA, C.F.B.; BOBROWSKI, V.L.; ROCHA, B.H.G. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss.). **Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 11, n. 1, p. 7-14, 2005.