

CARACTERIZAÇÃO DA AÇÃO CITOTÓXICA DE *Talinum patens* (PORTULACACEAE) EM BIOENSAIO COM *Lactuca sativa* L.

Jade Del Nero Oliveira¹

Josiele Aparecida Silva²

João Vitor Calvelli Barbosa³

Thiago Corrêa de Souza⁴

Sandro Barbosa⁵

Sistemas de produção sustentável

Resumo

O presente trabalho avaliou a ação citotóxica de extratos foliares aquosos e hidroetanólicos de *Talinum patens* (Portulacaceae) em bioensaio com *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). O extrato aquoso foi obtido pelo método de decocção e o hidroetanólico por percolação simples em etanol 70%. A atividade dos extratos foi avaliada por bioensaio em modelo vegetal, tendo como alvo a *L. sativa* L. As concentrações de ambos extratos foram de 40; 20; 10; 5; 2,5 e 1,25 mg.mL⁻¹ e água destilada como controle negativo. No bioensaio de citotoxicidade os parâmetros analisados foram: índice mitótico (IM) e índice de anormalidades cromossômicas (IAC). O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), sendo empregado análise simples e em fatorial (2x7) por meio do programa estatístico Rx64 3.5.1. Os métodos extrativos somente apresentaram diferença estatística significativa o índice de anormalidade cromossômica, onde o extrato aquoso realizado por decocção se mostrou mais citotóxico em relação ao hidroetanólico realizado por percolação. Na análise comparativa entre as concentrações ambos afetaram a divisão celular, mostrando o alta citotoxicidade indicando o potencial alelopático.

Palavras –chave: Citotoxicidade, bioherbicidas, bioensaios vegetais, alelopatia.

¹ Mestranda em Biotecnologia Marinha, Universidade Federal Fluminense/ Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira– Campus Arraial do Cabo, Departamento de Biotecnologia Marinha, jade.delnero@hotmail.com

² Mestranda em Ciências Ambientais – Universidade Federal de Alfenas, josielecdm_2012@hotmail.com.

³ Biólogo, MSc em Ciências Ambientais – Universidade Federal de Alfenas, jvcalvelli@outlook.com

⁴ Prof. Dr. Universidade Federal de Alfenas – ICN, thiagnepre@hotmail.com.

⁵ Prof. Dr. Universidade Federal de Alfenas – ICN, sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br.

INTRODUÇÃO

Talinum patens, é reconhecida como planta invasora em diferentes culturas, como a de cana de açúcar (KUVA et al., 2007), milho, (NASCIMENTO, 2011), cenoura (SOARES et al., 2010), o que demonstra sua resistência e seu potencial competitivo. Essa característica é amplamente estabelecida em espécies com vantagens adaptativas, especialmente no que tange a produção de metabólitos especiais com atividade alelopática (SOUZA et al, 2003). Diversas pesquisas na área da fitoquímica relatam que extratos foliares de *T. patens* são constituídos por esteroides, saponinas e taninos, sendo os taninos, conhecidamente, um dos principais responsáveis pelas propriedades alelopáticas das plantas (RAMOS et al., 2010; REIS et al., 2015).

Trabalhos realizados em modelos vegetais de *Lactuca sativa* L. são amplamente utilizados no estudo de citotoxicidade de extratos, pois suas características fisiológicas e citogenéticas são bem definidas (CARVALHO et al., 2014; TANG et al., 2016).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o possível efeito citotóxico e o potencial alelopático de extratos foliares de *T. patens* em bioensaio com *L. sativa* prospectando potenciais alternativas sustentáveis aos herbicidas tradicionais, almejando a redução de contaminação ambiental e exposição da população.

METODOLOGIA

Obtenção dos extratos

As folhas de *T. patens* foram coletadas na cidade de Campos Gerais –MG a 838 metros de altitude, Latitude: 21° 14' 7" Sul, Longitude: 45° 45' 12" Oeste, em seguida transferidas para estufa para a secagem a 45°C. As folhas secas passaram por um processo de trituração em moinho de facas (Skymesen – TA04) e as partículas foram padronizadas pelo processo de agitador eletromagnético de tamis (Bertel[®]).

Para obtenção do extrato aquoso por decocção, 20 g das folhas secas e trituradas foram colocadas em 100 ml de água destilada, mantidas em ebulição por 15 min em chapa de aquecimento à 100°C, seguido de filtração em papel filtro (BRASIL, 2010).

O extrato hidroetanólico (3:7) foi realizado por percolação simples descrito na farmacopeia brasileira (BRASIL, 2010), e concentrado em evaporador rotatório a 50°C sob pressão de 400 mmHg. Ambos os extratos obtidos foram liofilizados (Liofilizador – Liotop L101) à temperatura inferior a 0°C e a pressão inferior de 4,58 mm Hg, em seguida armazenados a -20°C.

Bioensaio de citotoxicidade

As sementes foram expostas as concentrações de (10; 5; 2,5; 1,25 mg.mL⁻¹ e água destilada como controle) e coletadas após a germinação. O material foi armazenado em Carnoy, mantido a -18°C ± 1°C. As lâminas foram confeccionadas pelo método de Rodrigues et al., (2013). Foi avaliado o índice mitótico (IM), a partir de 6000 células por tratamento, sendo o cálculo realizado por meio da expressão: $IM = (NCM / NTC) * 100$, onde NCM é o número de células em mitose e NTC o número total de células analisadas. O índice de anormalidades cromossômicas (IAC) foi calculado com base no total de células avaliadas por tratamento de forma que $IAC = NAC / NTC$, onde NAC é o número de anormalidades cromossômicas NTC é o número total de células (RODRIGUES et al., 2013).

Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial (2x7) sendo os dois fatores extratos e concentrações, com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação dos contrastes de médias pelo teste Tukey a 5% de significância. O programa utilizado para análise estatística dos dados foi o R x 64 3.5.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Luber et al. (2015), a citotoxicidade é determinada pelo aumento e decréscimo do IM, levando a falhas nos mecanismos reguladores da multiplicação celular, onde células começam a crescer e dividir-se desordenadamente, resultando em divisões anômalas, não reparadas por mecanismos normais, isso resulta na formação de células defeituosas, com diferentes quantidades de material genético e/ou anormalidades cromossômicas. A análise do IM mostra redução na quantidade de divisão celular para os

dois extratos, porém quando comparado o aquoso com o hidroetanólico, nota-se que o aquoso reduziu significativamente a mitose já na concentração mais baixa, enquanto o hidroetanólico se mostrou efetivo na concentração de 5 mg.mL⁻¹.

O maior número de anormalidades cromossômicas do extrato hidroetanólico foi na concentração de 2,5 mg.mL⁻¹, e no aquoso em 5 mg.mL⁻¹, porém esse dado está associado ao índice mitótico, quanto maior o número de divisão celular, maior é a probabilidade do mecanismo de reparo celular não conseguir concertar todos os erros gerados pelo ciclo mitótico, como prova a tabela 2 indica que o %IAC do controle é relativamente alto, porém o seu %IM é muito maior quando comparado aos tratamentos.

Tabela 2: Comparação entre as concentrações dos extratos de *T. patens* em relação aos parâmetros de citotoxicidade em bioensaios com *L. sativa* L.

		[mg/ml]	%IM	%IAC			[mg/ml]	%IM	%IAC
H.A		CN	15,33 ^a	0,66 ^{ab}	Aq.		CN	13,65 ^a	0,35 ^c
		1,25	12,37 ^{ab}	0,30 ^{ab}			1,25	8,7 ^b	0,1 ^{bc}
		2,5	10,55 ^{ab}	0,68 ^a			2,5	8,53 ^b	5,93 ^{ab}
		5	9,23 ^b	0,22 ^{ab}			5	7,08 ^b	7,08 ^a
		10	0,17 ^c	0,01 ^b			10	0,32 ^c	0,32 ^c
		20	Na	Na			20	Na	Na
		40	Na	Na			40	Na	Na

Letras iguais entre as concentrações não diferem estatisticamente entre si pelo teste tukey ($p > 0,05$). Na representa a falta de parâmetros a serem analisados.

O extrato aquoso na concentração de 5 e 10 mg.mL⁻¹ mostra que o valor do IM é igual ao valor de IAC, ou seja, todas as células que estavam em mitose apresentaram erros de divisão e/ou anormalidades cromossômicas, provando a alta citotoxicidade.

CONCLUSÕES

Extratos aquosos e hidroetanólicos de *T. patens* possuem efeito citotóxico, sendo a maior frequência de anormalidades cromossômicas observadas nas células de *L. sativa* em divisão expostas aos extratos aquosos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela

bolsa PET-SESU-MEC ao Professor Sandro Barbosa, CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado) de Minas Gerais) pelos financiamentos e bolsas de pesquisa concedidos para a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 904p, 2v/il.
- BUZAR, A. G. R; OLIVEIRA, V. R; BOITEUX, L. S. Estimativa da diversidade genética de germoplasma de cebola via descritores morfológicos, agronômicos e bioquímicos. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 527-532, 2007.
- CARVALHO, W.P. et al. Allelopathy of green manures extracts on germination and initial growth of the lettuce. **Bioscience Journal**, v.30, p. 1-11, 2014.
- FERREIRA AG & ÁQUILA MEA Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 12:175-204,2000.
- GUPTA P Seed vigour testing. In: Agarwal PK (ed) **Handbook of seed testing**. National Seed Corporation, New Delhi, pp 242–249, 1993.
- LEITHE, E. et al. Inhibition of connexin43 gap junction channels by the endocrine disruptor ioxynil. **Toxicology and Applied Pharmacology**, p. 10–17, 2010.
- NASCIMENTO, P. G. M. L. et all. Levantamento fitossociológico das comunidades infestantes em diferentes sistemas de plantio de milho em Mossoró –RN. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 7, n. 3 p. 01, 2011.
- PRICHOA F.C. et al. Comparative allelopathic effects of *Cryptocarya moschata* and *Ocotea odorifera* aqueous extracts on *Lactuca sativa*. **Acta Scientiarum Agronomy**. v. 35, n.2, p. 197-202, 2013.
- RAMOS, S.J. et al. Selenato e selenito na produção, nutrição mineral e biofortificação com selênio em cultivares de Alface. **Revista Brasileira Ciência e Solo**, v. 35, p.1347-1355, 2013.
- REIS, et al. Chemical characterization and evaluation of antibacterial, antifungal, antimycobacterial, and cytotoxic activities of *Talinum paniculatum*. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**. V. 57, n. 5, p. 397-405, 2015.
- RODRIGUES, L. C. DE A. et al. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 17, n. 10, p. 1099–1108, jul. 2013.
- SASAMOTO H. et al. Effect of purine alkaloids on the proliferation of lettuce cells derived from protoplasts. **Natural Product Communications**. Vol. 10 No. 5 751 – 754, 2015.
- SOARES, I.A.A. et al. Weed Interference in Carrot Yield and Quality. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 28, n. 2, p. 247-254, 2010.
- SOUSA, L.S. et al. Allelopathic effect of weeds and concentrations of *Brachiaria decumbens* on the initial development of eucalyptus (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.21, n.3, p.343-354, 2003.
- STEPHEN, B. P.; YU, Q. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. **Plant biology**. v. 61, p. 317-347, 2010.
- TANG, X. et al. Cadmium uptake in above-ground parts of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 125, p. 102-106, 2016.
- THANAMOOL et al. Evaluating the anti-fertility activity of *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn in female wistar rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Vol. 7(26), pp. 1802-1807, 15 July, 2013 DOI 10.5897/AJPP2013.2974.
- KUVA, M.A. et al. Phytosociology of Weed Community in No-Burn Sugar Cane Agroecosystems. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.25, n. 3, p. 501-511,2007
- WINK B. LATZ-BRÜNING. Allelopathic Properties of Alkaloids and Other Natural Products. Allelopathy. Chapter 8pp 117-126, 1994.