



ARTIGO

## Potencial alelopático e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine sobre *Lactuca sativa* L.

Carmine Aparecida Lenz Hister<sup>1,4\*</sup>, Kássia Cauana Trapp<sup>2,4</sup> e Solange Bosio Tedesco<sup>3,4</sup>

Recebido: 23 de novembro de 2015    Recebido após revisão: 23 de março de 2016    Aceito: 4 de abril de 2016

Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3587>

**RESUMO:** (Potencial alelopático e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine sobre *Lactuca sativa* L.). *Psidium cattleianum*, popularmente conhecida como araçá, é uma espécie nativa do Brasil valorizada pelo seu uso na medicina popular. Objetivou-se analisar a atividade alelopática do extrato aquoso das folhas de *P. cattleianum* sobre sementes de *Lactuca sativa* (alface), bem como avaliar o potencial genotóxico e antiproliferativo dos extratos sobre a divisão celular de raízes de alface e testar sua capacidade de reverter mutações ocasionadas pela exposição ao glifosato. Folhas foram coletadas em dois acessos, Tupanciretã (TU) e Silveira Martins (SiM). Os bioensaios foram conduzidos em germinador por 72 horas à 25 °C. Sementes de alface foram distribuídas em placas de Petri com três folhas de papel filtro umedecidas com 6 mL de cada tratamentos, a saber: extratos aquosos preparados por decoção das folhas em duas concentrações (15 g.L<sup>-1</sup> e 75 g.L<sup>-1</sup>), água destilada (controle negativo) e solução de glifosato a 2% (controle positivo). Foram analisadas 4000 células de raízes de alface por tratamento e calculados os índices mitóticos (IM). A análise estatística foi realizada pelos testes Qui-quadrado e Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Os resultados mostraram que o extrato do acesso TU diminuiu significativamente a germinação das sementes nas duas concentrações e inibiu a divisão celular das raízes de *L. sativa* na concentração de 75 g.L<sup>-1</sup>. Os pós-tratamentos reverteram significativamente a ação negativa do glifosato sobre a germinação das sementes. O índice mitótico também foi revertido de maneira significativa pelos extratos aquosos, mais acentuadamente pelo extrato do acesso SiM. Conclui-se que os extratos aquosos de araçá possuem efeito alelopático inibitório sobre a germinação de sementes de *L. sativa*, potencial antiproliferativo na concentração de 75 g.L<sup>-1</sup> e ação genotóxica.

**Palavras-chave:** Alface, araçá, germinabilidade, índice mitótico.

**ABSTRACT:** (Allelopathic and antiproliferative potential of leaf aqueous extracts of *Psidium cattleianum* Sabine on *Lactuca sativa* L.). *Psidium cattleianum*, also known as strawberry guava, is a Brazilian native species valued for its use in folk medicine. We aimed to evaluate the allelopathic activity of *P. cattleianum* leaf aqueous extracts on *Lactuca sativa* (lettuce) seeds, as well as the genotoxic and antiproliferative potential of extracts on cell division in lettuce roots, and test for the ability of extracts to revert mutations resulting from glyphosate exposure. Leaves of two accessions were collected in Tupanciretã (TU) and Silveira Martins (SiM). Bioassays were carried out in a germinator for 72 h at 25 °C. Lettuce seeds were distributed in Petri dishes containing three sheets of filter paper moistened with 6 mL of each of the following treatments: aqueous extracts prepared by decoction of leaves at two concentrations (15 and 75 g.L<sup>-1</sup>), distilled water (negative control), and 2% glyphosate solution (positive control). We analyzed 4000 lettuce root cells from each treatment and calculated the respective mitotic indexes (MI). Statistical analysis was conducted using Chi-square and Scott-Knott tests ( $p < 0.05$ ). The results showed that extracts of TU accession significantly decreased germination at both concentrations and inhibited cell division in *L. sativa* roots at concentration 75 g.L<sup>-1</sup>. The post-treatments significantly reversed the negative effect of glyphosate on seed germination. The mitotic index was also significantly reversed by aqueous extracts, yet more strongly by extracts of SiM accession. We concluded that the aqueous extracts of strawberry guava have an inhibitory allelopathic effect on seed germination in *L. sativa*, antiproliferative potential at concentration 75 g.L<sup>-1</sup>, and genotoxic properties.

**Keywords:** Lettuce, strawberry guava, germination, mitotic index.

### INTRODUÇÃO

Mundialmente, aproximadamente 85% das pessoas utilizam os sistemas tradicionais de cura à base de plantas (Rai *et al.* 2000). No entanto, o consumo indiscriminado de chás ou derivados merece uma atenção especial devido principalmente ao desconhecimento de seus constituintes químicos que, muitas vezes, podem causar mais danos à saúde que benefícios. Os prováveis efeitos tóxicos de muitas plantas ainda são ignorados, portanto devem-se

utilizar apenas aquelas cujos efeitos sejam bem conhecidos (Martins *et al.* 2003).

Dentre as espécies utilizadas na medicina popular, destaca-se *Psidium cattleianum* Sabine, conhecida popularmente como araçá. É uma espécie nativa do Rio Grande do Sul e que apresenta grande potencial para exploração econômica (Lorenzi 2014). Além do consumo de seus frutos *in natura*, é uma espécie utilizada com fins medicinais, sendo que experimentos com extratos

1. Bióloga, Servidora Técnica-Administrativa em Educação.

2. Estudante de graduação, Curso de Ciências Biológicas.

3. Professora, Doutora.

4. Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, Departamento de Biologia, Prédio 16 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Avenida Roraima no 1000, Cidade Universitária, Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

\*Autor para contato. E-mail: carmine.hister@ufsm.br

de suas folhas demonstraram atividade antiproliferativa em células de câncer – gástrico, da mama, do cólon, do fígado e do pulmão (Moon *et al.* 2011, Medina *et al.* 2011, Jun *et al.* 2011, Im *et al.* 2012). Extratos de seus frutos e folhas também apresentaram atividade antimicrobiana (Brighenti *et al.* 2008, De Menezes *et al.* 2010, Jun *et al.* 2011, Medina *et al.* 2011).

No Havaí, desde que foi introduzida como ornamental em 1825, *P. cattleianum* se tornou uma espécie invasora, desencadeando sérios problemas para as florestas tropicais da região (Patel 2012). Determinadas plantas podem liberar substâncias com efeito alelopático, podendo ocasionar a inibição da germinação de sementes ou afetar o crescimento e o desenvolvimento de outras espécies vegetais (Rezende *et al.* 2003).

Bioensaios, os quais utilizam espécies vegetais como organismos alvos, são aplicados no monitoramento da bioatividade de extratos e compostos isolados de plantas e na identificação de substâncias tóxicas (Noldin *et al.* 2003). Agentes mutagênicos podem ser detectados citologicamente pela inibição celular; interrupção na metáfase; indução de aberrações cromossômicas (numérica e estrutural) que vão desde a fragmentação cromossômica à desorganização do fuso mitótico (Tedesco & Laughinhouse 2012).

Diversas espécies vegetais, que são sensíveis aos metabólitos secundários, podem ser utilizadas em biotestes. *Lactuca sativa* L. (alface) é uma das espécies indicadas como organismo teste, pois apresenta germinação rápida e uniforme, e um grau de sensibilidade capaz de refletir resultados mesmo sob baixas concentrações das substâncias alelopáticas (Chon *et al.* 2005). Diversos pesquisadores utilizam *L. sativa* em ensaios biológicos sobre alelopatia, como: Alves *et al.* (2004), Chapla & Campos (2010), De Conti & Franco (2011), Pelegrini & Cruz-Silva (2012), Daneluzzi *et al.* (2014), Silveira *et al.* (2014), entre outros.

Os bioensaios com *L. sativa* consistem no contato direto das sementes com o extrato a ser testado, podendo-se avaliar sua germinação e também os danos que possam ocorrer aos seus cromossomos. Os parâmetros avaliados tipicamente são a germinação e o comprimento do sistema radicular (Belinelo *et al.* 2008). O número de trabalhos que associam efeito alelopático à citogenética são raros, no entanto Souza *et al.* (2005a) verificaram a existência de distúrbios celulares (pontes anafásicas) em células de raízes de *L. sativa* cujas sementes foram submetidas a extratos aquosos de espinheira-santa.

Dada à importância ecológica, econômica e social de *P. cattleianum*, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos alelopáticos do extrato aquoso de suas folhas na germinação de *L. sativa*, por meio da porcentagem de germinação e do comprimento das raízes das sementes. Também buscou-se analisar o potencial genotóxico e antiproliferativo dos extratos aquosos por meio da observação de possíveis danos cromossômicos e também da

inibição da divisão meristemática em células de pontas de raízes de *L. sativa*, bem como testar sua capacidade de reverter mutações ocasionadas pela exposição ao glifosato.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta de material botânico e preparo dos extratos

Folhas de araçá [*Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae)] de dois acessos de diferentes municípios do Rio Grande do Sul (Silveira Martins = SiM e Tupanciretã = TU) foram coletadas nos meses de julho e agosto de 2013, antes do período de florescimento. O material coletado foi devidamente identificado e incorporado ao herbário SMDB (Santa Maria Departamento de Biologia) do Departamento de Biologia da UFSM, sob os números 15.066 e 15.068, respectivamente.

Após a coleta, as folhas foram secas à temperatura ambiente e armazenadas em sacos de papel até o uso. Os extratos das folhas foram preparados por decocção, na concentração usual de 15 gramas de folhas secas em 1 litro de água destilada (Anvisa 2010) e também 75 g.L<sup>-1</sup> (cinco vezes mais concentrado), por 5 minutos. Posteriormente, os extratos foram coados e resfriados à temperatura ambiente.

### Tratamentos e critérios de análise

A avaliação dos efeitos de *P. cattleianum* sobre *L. sativa* baseou-se em tratamentos com extratos aquosos de folhas de dois acessos (TU e SiM) em duas concentrações diferentes, 15 g.L<sup>-1</sup> e 75 g.L<sup>-1</sup>. Água destilada foi utilizada como controle negativo e glifosato como controle positivo, pois este comprovadamente induz alterações cromossômicas e inibe a divisão celular em células meristemáticas de *Allium cepa* L. (Souza *et al.* 2010). Foram chamados de pós-tratamentos os testes que buscaram avaliar a capacidade dos extratos aquosos de reverter alterações cromossômicas causadas pelo glifosato.

Cinquenta sementes de *L. sativa* foram colocadas em cada placa de Petri, contendo três folhas de papel filtro umedecidas com 6 mL dos tratamentos – extratos aquosos obtidos por decocção, água destilada (controle negativo) e controle positivo (solução de glifosato a 2%). No total, foram separados nove grupos (tratamentos) com quatro placas de Petri, cada uma representando uma repetição, como segue:

- T1, controle negativo (água destilada);
- T2, extrato aquoso 15 g.L<sup>-1</sup> (Tupanciretã, TU);
- T3, extrato aquoso 75 g.L<sup>-1</sup> (TU);
- T4, extrato aquoso 15 g.L<sup>-1</sup> (Silveira Martins, SiM);
- T5, extrato aquoso 75 g.L<sup>-1</sup> (SiM);
- T6, controle positivo (glifosato 2%);
- T7, pós-tratamento em água destilada;
- T8, pós-tratamento em extrato aquoso a 15 g.L<sup>-1</sup> (TU);
- T9, pós-tratamento em extrato aquoso a 15 g.L<sup>-1</sup> (SiM).

As placas contendo as sementes de *L. sativa* embebidas nos tratamentos foram mantidas em câmara de germinação com temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Depois de 72 horas foram contabilizadas as sementes germinadas em cada repetição.

Dos quatro grupos de placas submetidas ao tratamento com glifosato (T6, T7, T8 e T9), um serviu para controle positivo e os demais passaram por um pós-tratamento, ou seja, após foram transferidos e permaneceram por mais 24 horas, em água e em extratos aquosos de dois acessos diferentes, escolhidos por serem acessos de dois municípios de maior altitude para avaliar se haveria uma recuperação do efeito mutagênico do glifosato. Visto que Gobbo-Neto & Lopes (2007) confirmaram uma correlação positiva entre a intensidade da radiação solar e a produção de compostos fenólicos, tais como flavonoides, taninos e antocianinas. Os autores ainda comentam que os flavonoides proporcionam proteção à radiação, assim é possível inferir que estes compostos estão presentes em maior quantidade em plantas de altas altitudes.

Após o período de aplicação dos tratamentos, as radículas das sementes de *L. sativa* foram coletadas, fixadas em etanol:ácido acético (3:1), por 24 horas, e após foram armazenadas em etanol 70% sob refrigeração.

Para o cálculo de inibição da germinação das sementes de *L. sativa*, foi realizada a contagem do número total de sementes germinadas no final de 72 horas e 96 horas (tratamentos de recuperação), seguida pela medição das raízes, para avaliar o comprimento do sistema radicular.

Para a confecção das lâminas, as pontas das raízes foram hidrolisadas em solução de ácido clorídrico (HCl) 1N por 5 minutos à temperatura ambiente, e após foram lavadas em água destilada. Com auxílio de um microscópio estereoscópio, a coifa das raízes foi retirada, a região meristemática corada comorceína acética 2% por aproximadamente 1 minuto, esmagada com auxílio de um bastão de vidro e sobre o material colocada uma laminula.

A análise das lâminas foi realizada em microscópio óptico pelo método da varredura, sendo que para cada grupo de tratamento foram feitas duas repetições, preparando-se duas lâminas. Quinhentas células por lâmina foram analisadas, totalizando 1000 células por placa de Petri, e 4000 células por tratamento. Os valores dos índices mitóticos (IM) foram calculados com base na porcentagem de células em divisão (razão do número de células em divisão pelo número total de células analisadas, multiplicado por 100). Além das fases da divisão celular, possíveis irregularidades foram avaliadas, como: quebras cromossômicas, pontes, cromossomos perdidos ou atrasados e presença de micronúcleos.

#### Análise estatística

O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado. Os valores dos índices mitóticos, bem como o número de células com irregularidades (potencial genotóxico), foram comparados pelo teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) a 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa BIOSTAT 5.0 (Ayres et al. 2007). Os demais valores:

porcentagens de germinação, número de sementes germinadas e médias do comprimento das raízes, foram comparadas utilizando-se o Teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), com o auxílio de programa Assistat®, versão beta 7.7.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do potencial aleloquímico de extratos de plantas ou de substâncias isoladas pode ser realizada pelo modelo de teste de germinação com vegetais. A visualização de alterações no índice de germinação das sementes revela ação tóxica e/ou citotóxica dos extratos ou substâncias testadas (Luz et al. 2012).

Através do teste de germinabilidade com as sementes de *Lactuca sativa* foi verificado que houve diferença significativa quanto a porcentagem de germinação entre os diferentes tratamentos, exceto entre o tratamento T4 e o controle negativo (T1). Os demais tratamentos com extrato aquoso das folhas de *Psidium cattleianum* sofreram um decréscimo na germinação das sementes, em relação ao controle negativo. Nos tratamentos T3 e T5, cujos extratos das folhas de araçá eram da maior concentração, 75 g.L<sup>-1</sup>, houve uma inibição parcial e total da germinação, respectivamente (Tab. 1).

Os compostos alelopáticos, por interferirem na divisão celular, permeabilidade de membranas e na ativação de enzimas, são considerados inibidores de germinação e crescimento (Rodrigues et al. 1992). Assim, a redução na germinabilidade das sementes frente ao aumento das concentrações do extrato testado indica um efeito

**Tabela 1.** Número de sementes de *Lactuca sativa* L. germinadas, porcentagem de germinação, antes e após os tratamentos de recuperação, e comprimento médio das raízes nos distintos tratamentos com extratos aquosos de folhas de *Psidium cattleianum* Sabine testados.

| T  | Número de sementes germinadas |                    | Germinação (%)       |                    | Comprimento médio das raízes (cm) |
|----|-------------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|-----------------------------------|
| T1 | 186 a *                       |                    | 93,0 a *             |                    | 2,84 a *                          |
| T2 | 158 b                         |                    | 77,0 b               |                    | 2,51 a                            |
| T3 | 19 d                          |                    | 9,5 d                |                    | 0,27 b                            |
| T4 | 188 a                         |                    | 94,0 a               |                    | 2,64 a                            |
| T5 | 0 d                           |                    | 0 d                  |                    | -                                 |
| T6 | 113 c                         |                    | 56,5 c               |                    | 0,17 b                            |
| T7 | Antes da recuperação          | Após a recuperação | Antes da recuperação | Após a recuperação | 0,12 b                            |
|    | 133 c                         | 178 a              | 66,5 c               | 89,0 a             |                                   |
| T8 | Antes da recuperação          | Após a recuperação | Antes da recuperação | Após a recuperação | 0,12 b                            |
|    | 152 b                         | 175 a              | 76,0 b               | 87,5 a             |                                   |
| T9 | Antes da recuperação          | Após a recuperação | Antes da recuperação | Após a recuperação | 0,13 b                            |
|    | 155 b                         | 175 a              | 77,5 b               | 87,5 a             |                                   |

Abreviaturas: T, Tratamentos; T1, controle negativo (água destilada); T2, extrato aquoso 15 g.L<sup>-1</sup> (TU); T3, extrato aquoso 75 g.L<sup>-1</sup> (TU); T4, extrato aquoso 15 g.L<sup>-1</sup> (SiM); T5, extrato aquoso 75 g.L<sup>-1</sup> (SiM); T6, controle positivo (glifosato 2%); T7, pós-tratamento em água destilada; T8, pós-tratamento em extrato aquoso a 15 g.L<sup>-1</sup> (TU); T9, pós-tratamento em extrato aquoso a 15 g.L<sup>-1</sup> (SiM).

\* Números seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste do Scott-Knott, a um nível de 5% de probabilidade de erro.

citotóxico, que pode ser decorrente de ação alelopática de influência negativa do extrato sobre as sementes de *L. sativa*.

Extratos aquosos das folhas de *Psidium guajava* L. (goiabeira), espécie do mesmo gênero do araçá, igualmente apresentaram efeito alelopático sobre a germinação de *L. sativa*, porém apenas na concentração de 20%, ou seja 40 g.L<sup>-1</sup>. O mesmo estudo também mostrou que o comprimento médio das raízes de *L. sativa* diminuiu com o aumento da concentração do extrato (Chapla & Campos 2010).

Testes realizados por Silveira *et al.* (2014) também demonstraram que com o aumento das concentrações do extrato aquoso de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze houve um decréscimo nos valores de porcentagem de germinação de *L. sativa*, sendo que na concentração mais alta não houve germinação das sementes em nenhuma das repetições.

Tur *et al.* (2012) verificaram que os extratos de folhas frescas e secas de *Lonchocarpus campestris* (Mart ex. Benth) atuaram de forma distinta sobre a germinação de sementes de *L. sativa*. O extrato de folhas frescas não influenciou a germinação, por outro lado, o extrato de folhas secas proporcionou redução na germinação, a qual foi mais drástica nas concentrações mais elevadas. Da mesma maneira, extratos aquosos de folhas frescas e secas de abacateiro (*Persea americana* Mill.) apresentaram potencial alelopático diferenciado sobre *L. sativa*, pois os dois interferiram na germinação e no crescimento inicial das sementes, sendo que os menores valores de porcentagem de germinação foram observados nas sementes submetidas aos extratos de folhas secas (Borella *et al.* 2009).

Os chamados tratamentos de recuperação ou pós-tratamentos, em que as sementes, após permanecerem por 72 horas no glifosato, foram colocadas em água e extratos aquosos à 15 g.L<sup>-1</sup> de dois acessos de araçá, mostraram uma recuperação parcial na germinabilidade das sementes de *L. sativa*, aumentando a porcentagem de germinação, que não diferiu significativamente nos pós-tratamentos testados.

Apesar do controle positivo (T6) e dos tratamentos de recuperação (T7 a T9) terem apresentado uma porcentagem de germinação mais elevada que o tratamento T3 (extrato aquoso 75 g.L<sup>-1</sup> TU), o comprimento médio das raízes germinadas não diferiu significativamente, sugerindo que o extrato aquoso na concentração de 75 g.L<sup>-1</sup> possui uma acentuada atividade alelopática, tanto sobre a germinação das sementes como no seu posterior desenvolvimento. A redução no crescimento radicular de plântulas de *L. sativa* também foi observado por Daneluzzi *et al.* (2014), avaliadas após 24 e 48 horas de experimentação, com três concentrações do extrato hidroalcoólico das flores de *Pyrostegia venusta* (KER GAWL.) MIERS.

As sementes tratadas com o glifosato tiveram a seguinte germinação: 66,5%, 76,0% e 77,5% respectivamente para os tratamentos T7, T8 e T9. Após a exposição, por

24 horas, aos extratos aquosos de *P. cattleianum*, ocorreu um aumento na germinação que passou para 89,0%, 87,5% e 87,5%, respectivamente.

Se por um lado os testes de germinação avaliam apenas efeitos tóxicos sobre a capacidade das sementes emergirem, por outro a análise do índice mitótico demonstra potenciais efeitos citotóxicos de metabólitos secundários, revelando alterações na proliferação celular (Charoenyinga *et al.* 2010). Bioensaios com extratos de *Pyrostegia venusta* demonstraram que, além de apresentar efeito citotóxico para o processo de germinação de sementes de *L. sativa*, o mesmo também mostrou-se capaz de interferir na divisão celular, reduzindo o índice mitótico a medida que aumentava a concentração do extrato (Daneluzzi *et al.* 2014). Assim, tanto a água destilada como os extratos aquosos retomaram a germinação das sementes de *L. sativa*, sendo que a porcentagem de germinação destes pós-tratamentos não diferiram estatisticamente do controle negativo.

Os resultados obtidos através da análise do ciclo celular das células meristemáticas de raízes de *L. sativa* podem ser observados na tabela 2. Todos os tratamentos apresentaram algumas irregularidades mitóticas, exceto T7 e T8. O resultado do teste do Qui-quadrado ( $p < 0,05$ ) que comparou o número de células com irregularidades em relação ao número de células em divisão celular, mostrou que os tratamentos diferiram significativamente entre si. Como células com divisão irregular também foram observadas no controle negativo em água, a comparação

**Tabela 2.** Número de células de pontas de raízes de *Lactuca sativa* L. analisadas em interfase e em divisão, presença de irregularidades e ainda índices mitóticos (IM) dos tratamentos com extratos aquosos de folhas de *Psidium cattleianum* Sabine em diferentes concentrações e para populações distintas, bem como tratamentos de recuperação.

| T  | Células em interfase | Células em divisão | Células com irregularidades | IM (%)    |
|----|----------------------|--------------------|-----------------------------|-----------|
| T1 | 3773                 | 225                | 2 b *                       | 5,67 b ** |
| T2 | 3782                 | 213                | 5 g                         | 5,45 b    |
| T3 | 3909                 | 89                 | 2 c                         | 2,27 c    |
| T4 | 3712                 | 285                | 3 d                         | 7,20 a    |
| T5 | -                    | -                  | -                           | -         |
| T6 | 3976                 | 20                 | 4 f                         | 0,60 f    |
| T7 | 3983                 | 17                 | 0 a                         | 0,42 g    |
| T8 | 3969                 | 31                 | 0 a                         | 0,77 e    |
| T9 | 3951                 | 46                 | 3 e                         | 1,22 d    |

Abreviaturas: T, tratamentos; IM, Índice mitótico; T1, controle negativo (água destilada); T2, extrato aquoso 15 g.L<sup>-1</sup> (TU); T3, extrato aquoso 75 g.L<sup>-1</sup> (TU); T4, extrato aquoso 15 g.L<sup>-1</sup> (SiM); T5, extrato aquoso 75 g.L<sup>-1</sup> (SiM); T6, controle positivo (glifosato 2%); T7, pós-tratamento em água destilada; T8, pós-tratamento em extrato aquoso a 15 g.L<sup>-1</sup> (TU); T9, pós-tratamento em extrato aquoso a 15 g.L<sup>-1</sup> (SiM).

\* Números seguidos por letras diferentes diferem estatisticamente entre si em relação ao número de células em divisão, pelo teste do Qui-Quadrado, a um nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\*Números seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste do Qui-Quadrado, a um nível de 5% de probabilidade de erro.

do potencial genotóxico dos demais tratamentos fica prejudicada. Entretanto, os tratamentos que apresentaram alguma irregularidade (T2, T3, T4, T6 e T9) podem ser considerados genotóxicos, cada um no seu grau, uma vez que estes diferem estatisticamente entre si, inclusive do controle negativo. As figuras 1A-D ilustram células com alterações, como ponte anafásica, C-metáfase, telófase irregular, quebra cromossômica e cromossomo perdido.

Ainda, no que diz respeito às irregularidades no ciclo celular, o tratamento com glifosato 2% (T6), que apesar de poucas alterações, foi o que apresentou maior número de irregularidades proporcionalmente ao número de células em divisão, diferindo significativamente dos demais tratamentos. O fato de as raízes tratadas com glifosato não apresentarem altos números de alterações pode ser explicado pela elevada inibição da divisão celular causada por ele. A brusca queda do índice mitótico pode ter evitado o aparecimento de alterações simplesmente pelo fato que poucas células estarem se dividindo pela ação do glifosato.

O índice mitótico do pós-tratamento T7 regrediu ainda mais em relação ao tratamento positivo (T6) sendo diferente significativamente. A divisão celular continuou prejudicada mesmo após as plântulas serem transferidas

para água destilada, sendo que a água apenas anulou a ocorrência de alterações cromossômicas. O valor do índice mitótico do tratamento T8, apesar de ter aumentado significativamente em relação ao T6, foi pouco expressivo. O pós-tratamento T9 recuperou a divisão celular mais acentuadamente, apesar de irregularidades terem sido encontradas no ciclo, como cromossomos perdidos (Figuras 1E e 1F).

As maiores diferenças entre os índices mitóticos foram constatadas nos tratamentos T3 e T5, ambos com extratos aquosos na concentração de 75 g.L<sup>-1</sup>. No T5, como não houve germinação das sementes, nenhuma lâmina pôde ser preparada, enquanto que no T3, as lâminas analisadas apresentaram uma brusca redução do IM, indicando um efeito citotóxico sobre as células meristemáticas de raízes de *L. sativa*. Resultado similar foi encontrado com o extrato aquoso de concentração 20 e 100 mg.mL<sup>-1</sup> de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* – DC – Stapf.) que mostrou um efeito citotóxico sobre as células de alface, diminuindo a divisão celular (Souza *et al.* 2005b).

Diferentemente de Maculan *et al.* (2007) que em seus experimentos observaram que diferentes concentrações do extrato de *Eryngium eburneum* Decne. não influenciaram na germinação de sementes de *L. sativa* em re-

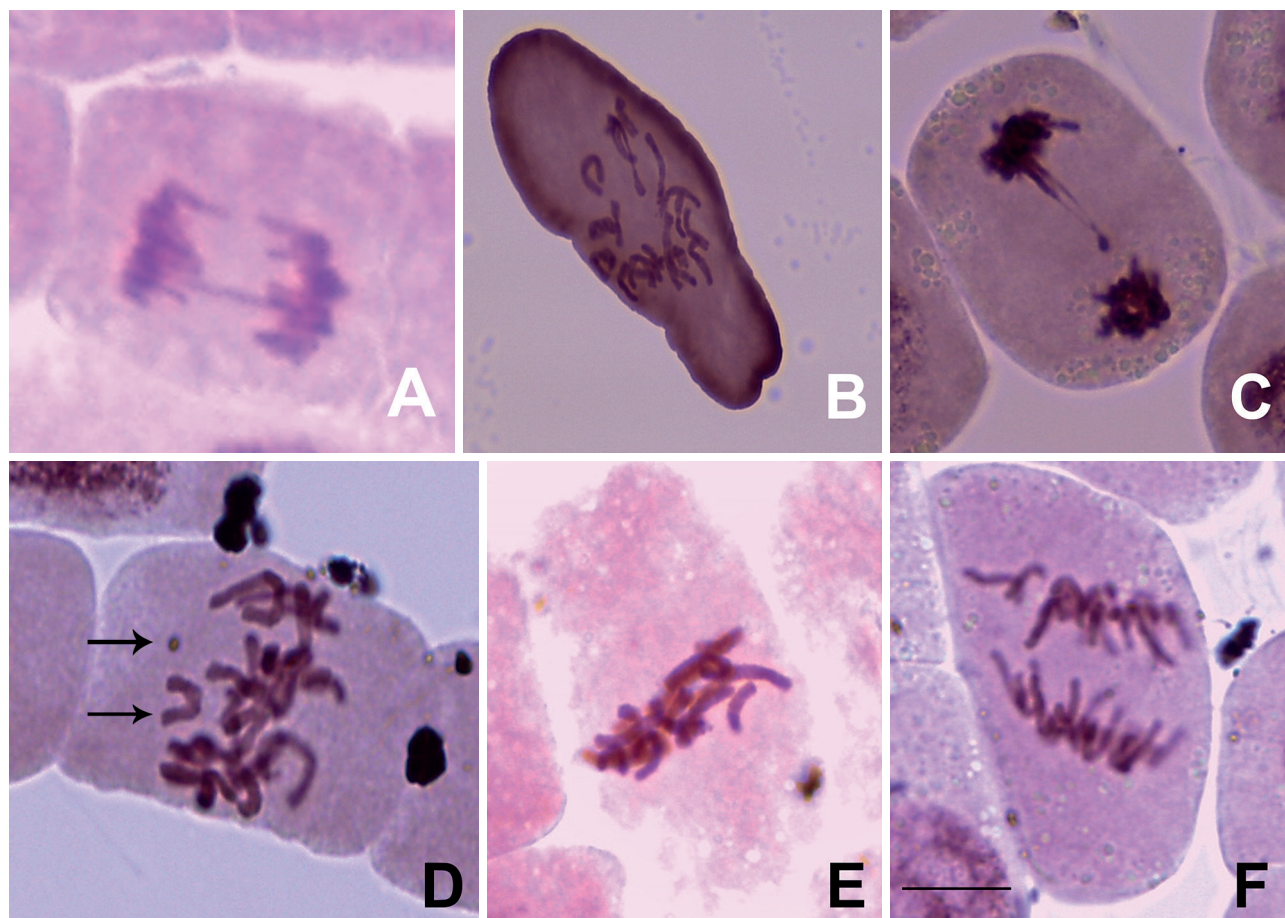


**Figura 1.** Células meristemáticas de raízes de *Lactuca sativa* L. em divisão celular, em distintos tratamentos. A. Tratamento T4 (extrato aquoso 15 g.L<sup>-1</sup>, SiM) – ponte anafásica. B. T2 (extrato aquoso 15 g.L<sup>-1</sup>, TU) – C-metáfase. C. T3 (extrato aquoso 75 g.L<sup>-1</sup>, TU) – telófase irregular. D. T4 – quebra cromossômica (seta superior) e cromossomo perdido (seta inferior). E. T9 (pós-tratamento em extrato aquoso a 15 g.L<sup>-1</sup>, SiM) – cromossomo perdido. F. T9 – anáfase com cromossomos perdidos. Abreviaturas: TU, Tupanciretã; SiM, Silveira Martins. Escala: 5 μm.

lação ao controle, mas causaram um aumento no índice mitótico das radículas.

Assim, *P. cattleianum* apresenta efeito alelopático inibitório sobre a germinação das sementes de *L. sativa*, mais acentuadamente nos tratamentos com extratos à 75 g.L<sup>-1</sup>. Sobre as células meristemáticas de raízes, apenas o extrato aquoso das folhas de *P. cattleianum* na concentração de 75 g.L<sup>-1</sup> diminuiu significativamente a divisão celular, tendo efeito citotóxico antiproliferativo. Excetuando-se os pós-tratamentos com água destilada e com extrato aquoso a 15 g.L<sup>-1</sup> (TU), todos os tratamentos demonstraram potencial genotóxico.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao PIBIC/CNPQ.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, M. C. S., FILHO, S. M., INNECCO, R. & TORRES, S. B. 2004. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(11): 1083-1086.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe Técnico n. 45, de 28 de dezembro de 2010.
- AYRES, M., AYRES JUNIOR, M., AYRES, D. L. & SANTOS, A. S. 2007. *BioEstat*: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Belém: ONG Mamirauá. 364 p.
- BELINELO, V. J., CZEPAK, M. P., VIEIRA FILHO, S. A., MENEZES, L. F. T. & JAMAL, C. M. 2008. Alelopatia de *Arctium minus* Bemh (Asteraceae) na germinação e crescimento radicular de sorgo e pepino. *Revista Caatinga*, 21(4): 12-16.
- BRIGHENTI, F. L., LUPPENS, S. B. I., DELBEM, A. C. B., DENG, D. M., HOO-GENKAMP, M. A., GAETTI-JARDIM, E. Jr., DEKKER, H. L., CRIELAARD, W. & TEN CATE, J. M. 2008. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on *Streptococcus mutans* viability, protein expression and acid production. *Caries Research*, 42(2): 148-154.
- BORELLA, J., WANDSCHEER, A. C. D., BONATTI, L. C. & PASTORINI, L. H. 2009. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. sobre *Lactuca sativa* L. *Revista Brasileira de Biociências*, 7(3): 260-265.
- CHAPLA, T. E. & CAMPOS, J. B. 2010. Allelopathic evidence in exotic guava (*Psidium guajava* L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53(6): 1359-1362.
- CHAROENYINGA, P., TEERARAKB, M. & LAOSINWATTANAB, C. 2010. An allelopathic substance isolated from *Zanthoxylum limonella* Alston fruit. *Scientia Horticulturae*, 125: 411-416.
- CHON, S.-U., JANG, H.-G., KIM, D.-K., KIM, Y.-M., BOO, H.-O., KIM, Y.-J. 2005. Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Scientia Horticulturae*, 106(3): 309-317.
- DANELUZZI, G. S., SANTOS, V. H. M., SILVA, L. P. & SILVA, R. M. G. 2014. Avaliação dos potenciais fitotóxico e citotóxico de *Pyrostegia venusta* (KER GAWL.) MIERS (Bignoniaceae). *Bioscience Journal*, 30(4): 1231-1240.
- DE CONTI, D. & FRANCO, E. T. H. 2011. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Casearia sylvestris* Sw. na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. *Revista Brasileira de Agrociência*, 17(2-4):193-203.
- DE MENEZES, T. E. C., DELBEM, A. C. B., BRIGHENTI, F. L., OKAMOTO, A. C. & GAETTI-JARDIM, E. Jr. 2010. Protective efficacy of *Psidium cattleianum* and *Myracrodruon urundeuva* aqueous extracts against caries development in rats. *Pharmaceutical Biology*, 48(3): 300-305.
- GOBBO-NETO, L. & LOPES, N.P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência na conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, 30(2): 374-381.
- IM, I., PARK, K.-R., KIM, S.-M., KIM, C., PARK, J. H., NAM, D., JANG, H.-J., SHIM, K. S., MOSADDIK, A., SETHI, G., CHO, S. K. & AHN, K. S. 2012. The butanol fraction of guava (*Psidium cattleianum* Sabine) leaf extract suppresses MMP-2 and MMP-9 expression and activity through the suppression of the ERK 1/2 MAPK signalling pathway. *Nutrition and Cancer*, 64(2): 255-266.
- JUN, N. J., MOSADDIK, A., MOON, J.-Y., JANG, K.-C., LEE, D.-S., AHN, K. S. & CHO, S. K. 2011. Cytotoxic activity of b-caryophyllene oxide isolated from Jeju guava (*Psidium cattleianum* Sabine) leaf. *Records of Natural Products*, 5(3): 242-246.
- LORENZI, H. 2014. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Vol 1. Nova Odessa: Plantarum. 384p.
- LUZ, A. C., PRETTI, I. R., DUTRA, J. C. V., BATITUCCI, M. C. P. 2012. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste in vivo. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 14(4): 635-642.
- MACULAN, K., KLEINOWSKI, A., CUCHIARA, C. C., BORGES, C. S. & BOBROWSKI, V. L. 2007. Efeito do extrato aquoso de *Eryngium eburneum* Decne. (Apiaceae) sobre aquênios de alface. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(supl. 2):1080-1082.
- MARTINS, E. R., CASTRO, D. M., CASTELLANI, D. C. & DIAS, J. E. 2003. *Plantas Medicinais*. Viçosa: Editora UFV. 220 p.
- MEDINA, A. L., HAAS, L. I. R., CHAVES, F. C., SALVADOR, M., ZAMBIAZI, R. C., SILVA, W. P., NORA, L. & ROMBALDI, C. V. 2011. Araca (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chemistry*, 128(4): 916-922.
- MOON, J. Y., MOSADDIK, A., KIM, H., CHO, M., KYOON CHOI, H. K., KIM, Y. S. & CHO, S. K. 2011. The chloroform fraction of guava (*Psidium cattleianum* Sabine) leaf extract inhibits human gastric cell proliferation via induction of apoptosis. *Food Chemistry*, 125(2): 369-375.
- NOLDIN, V. F., CECHINEL FILHO, V., MONACHE, F. D., BENASSI, J. C., CHRISTMANN, I. L., PEDROSA, R. C. & YUNES, R. A. 2003. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. *Química nova*, 26(3): 331-334.
- PATEL, S. 2012. Exotic tropical plant *Psidium cattleianum*: a review on prospects and threats. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 11(3): 243-248. DOI: 10.1007/s11157-012-9269-8.
- PELEGRI, L. L. & CRUZ-SILVA, C. T. A. 2012. Variação sazonal na alelopatia de extratos aquosos de *Coleus barbatus* (A.) Benth. sobre a germinação e o desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 14 (2): 376-382.
- RAI, L. K., PRASAD, P. & SHARMA, E. 2000. Conservation threats to some important medicinal plants of the Sikkin Himalaia. *Biological Conservation*, 93: 27-33.
- REZENDE, C. P., PINTO, J. C., EVANGELISTA, A. R. & SANTOS, I. P. A. 2003. *Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens*. Boletim Agropecuário da Universidade Federal de Lavras: Editora UFPA, n. 54, 55 p.
- RODRIGUES, L. R. A., RODRIGUES, T. J. D. & REIS, R. A. 1992. *Alelopatia em plantas forrageiras*. Jaboticabal: FUNEP. 18 p.
- SILVEIRA, B. D., HOSOKAWA, R. T., NOGUEIRA, A. C. & WEBER, V. P. 2014. Atividade alelopática de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. *Ciência Florestal*, 24(1): 79-85.
- SOUZA, L. F. B., LAUGHINGHOUSE IV, H. D., PASTORI, T., TEDESCO, M., KUHN, A. W., CANTO-DOROW, T. S. & TEDESCO, S. B. 2010. Genotoxic potential of aqueous extracts of *Artemisia verlotorum* on the cell cycle of *Allium cepa*. *International Journal of Environmental Studies*, 67(6): 871-877.
- SOUZA, S. A. M., CATTELAN, L. V., VARGAS, D. P., PIAIA, C. F. B., BOBROWSKI, V. L. & ROCHA, B. H. G. 2005a. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss.). *UEPG – Ciências Biológicas e da Saúde*, 11(3-4): 7-14.
- SOUZA, S. A. M., STEIN, V. C., CATTELAN, L. V., BOBROWSKI, V. L. & ROCHA, B. H. G. 2005b. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 5(1): 3-9.
- TEDESCO, S. B. & LAUGHINGHOUSE IV, H. D. 2012. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. In: SRIVASTAVA, J.K. *Environmental Contamination*. Rijeka: InTech. p. 137-156. DOI: 10.5772/31371.
- TUR, C. M., MARTINAZZO, E. G., AUMONDE, T. Z. & VILLELA, F. A. 2012. Atividade alelopática de extratos aquosos de folhas de rabo-de-bugio sobre a germinação e o crescimento inicial de plântulas de alface. *Revista Brasileira de Biociências*, 10(4): 521-525.