

**TOXICIDADE DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA PROVENIENTE DO EXTRATO
AQUOSO DE FOLHAS DE *BYRSONIMA INTERMEDIA* EM BIOENSAIO COM ALFACE**

LAIANE CORSINI ROCHA¹; SANDRO BARBOSA²; LIDIANE ORLANDI³; LUIZ CARLOS DE
ALMEIDA RODRIGUES⁴; BRENO RÉGIS SANTOS⁵; LUIZ ALBERTO BEIJO⁶

RESUMO

Compostos químicos derivados do metabolismo secundário dos vegetais apresentam diversos efeitos terapêuticos. Porém, eles têm sido amplamente estudados em função do seu potencial fitotóxico, interagindo em processos bioquímicos de outros vegetais. Neste caso, esses compostos são denominados aleloquímicos e são responsáveis pelo fenômeno conhecido como alelopatia, que pode causar efeitos genotóxicos e mutagênicos nas plantas. O Murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss) é um arbusto do cerrado e tem sua principal utilização medicinal em infecções e inflamações. A utilização de ensaios biológicos vegetais para a avaliação da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas tem sido frequentemente incorporada à identificação e monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito biológico da fração acetato de etila, proveniente do extrato aquoso das folhas de Murici-pequeno, sobre a planta-alvo alface (*Lactuca sativa* L. cv Babá de verão) utilizando como parâmetros de avaliação a germinabilidade, o índice de velocidade de germinação e o comprimento de raiz. A análise de variância (ANOVA) demonstrou que a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes concentrações da fração acetato de etila, para as variáveis germinabilidade, IVG e comprimento de raiz que, portanto, indicando atividade fitotóxica.

Palavras-chaves: *Byrsonima intermedia*, acetato de etila, fitotoxicidade.

INTRODUÇÃO

O Murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.) é um arbusto do Cerrado, pertencente à família Malpighiaceae, que ocorre em Minas Gerais. Esta espécie tem sido utilizada na medicina popular como tendo atividade anti-séptica, antimicrobiana e antiinflamatória. O estudo fitoquímico do Murici-pequeno revelou a presença de metabólitos secundários, como os compostos fenólicos, flavonóides e taninos, que estão entre os principais grupos de metabólitos (RODRIGUES & CARVALHO, 2001).

Os metabólitos secundários, além de apresentarem efeito terapêutico, podem também ser estudados em função do seu potencial alelopático, caracterizado pelo fenômeno de exercer efeito tóxico sobre outras espécies vegetais, modulando o crescimento e o desenvolvimento da vegetação adjacente (FELÍCIO et al., 1995; FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, 2004).

Segundo Rizvi et al. (1992), é quase impossível enumerar cada um dos compostos considerados como alelopáticos, devido à grande diversidade e quantidade. Entre os compostos com atividades alelopáticas, destacam-se: taninos, glicosídeos cianogênicos, alcalóides, sesquiterpenos, flavonóides, ácidos fenólicos e outros (KING & AMBIKA, 2002).

Rice (1984) relata que os aleloquímicos, metabólitos secundários com propriedades alelopáticas, podem ser encontrados em todas as partes dos vegetais: caule, folhas, raízes, inflorescências e flores, frutos e sementes. Entretanto, a grande maioria dos trabalhos tem empregado folhas como a principal fonte dessas substâncias.

Biotestes utilizados em investigações alelopáticas são de grande importância, como a *Lactuca sativa*, principal alvo empregado nestes estudos, devido sua sensibilidade às baixas concentrações de aleloquímicos. Além disso, a espécie apresenta outras peculiaridades que favorecem sua utilização:

¹ Graduanda em Ciências Biológicas, ICN/ UNIFAL, laianecorsini@gmail.com

² Professor Adjunto, ICN/ UNIFAL, sandro@unifal-mg.edu.br

³ Pós-graduanda, FCF/ UNIFAL, lidiorlandi@hotmail.com

⁴ Pós-graduando, ICN/ UNIFAL, luiz.biounifal@gmail.com

⁵ Professor Adjunto, ICN/ UNIFAL, brenors@yahoo.com.br

⁶ Professor Adjunto, ICE/ UNIFAL, luizbeijo@yahoo.com.br

germinação rápida, em aproximadamente 24h; crescimento linear insensível às diferenças de pH, em ampla faixa de variação e insensibilidade aos potenciais osmóticos (RICE, 1984). A alface é utilizada por vários autores como modelo-teste para a análise da genotoxicidade de um composto ou amostra (MONTEIRO et al., 2009; PANDARD et al., 2006; ARKHIPCHUK et al., 2000).

O grande interesse em substituir os insumos químicos sintéticos, nos agroecossistemas, por materiais produzidos naturalmente, motiva pesquisas aplicada à alelopatia. Isto ocorre porque os benefícios da pesquisa alelopática podem ser utilizados para melhorar a sustentabilidade de sistemas de produção e a conservação da vegetação natural ou seminatural, pois representam uma alternativa biológica com ação específica e menos prejudicial ao meio ambiente (SMITH & MARTIN, 1994; MACÍAS et al., 1998; CHOU, 1999; 2006; OLOFSDOTTER & MALLIK, 2001).

Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi verificar a toxicidade de diferentes concentrações da fração acetato de etila obtida através do extrato aquoso de folhas de Murici-pequeno sobre a germinação, índice de velocidade de germinação e comprimento de raiz de sementes de alface (*Lactuca sativa* cv Babá de verão).

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de *Byrsonima intermedia* foram coletadas no município de Ijaci, cidade localizada no Sul de Minas Gerais.

Posteriormente, as folhas foram desidratadas por 48 horas em estufa a 40°C, trituradas em moinho mecânico e pulverizadas através de tamis abertura 0,84mm, tyler 20. O extrato aquoso foi obtido através do método de decoção a partir de 5% de matéria seca solubilizada em água destilada. O mesmo foi reduzido em liofilizador, obtendo-se assim o extrato seco. Em seguida, o extrato aquoso foi particionado com acetato de etila e esta fração foi reduzida ao resíduo seco, em capela. Concentrações de 5, 10, 25 e 50 mg.mL⁻¹ foram obtidas através da diluição deste resíduo seco em água destilada, também utilizada como controle negativo.

Em placas de Petri, forradas com papel de filtro contendo 25 sementes de alface (*Lactuca sativa* L. cv. Babá de verão), verteu-se 1,5 mL das concentrações da fração acetato e, no grupo controle, água destilada. As placas foram mantidas em câmara de germinação BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Foi utilizado o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com 3 repetições por tratamento. Realizou-se observações de 4 em 4 horas, por 36 horas, para o índice de velocidade de germinação (IVG) e a germinabilidade (G) foi aferida em 24 horas. Após 72 horas, obteve-se o comprimento da média de cinco raízes escolhidas aleatoriamente por repetição.

Análise estatística

A análise estatística consistiu de análise de variância – ANOVA e comparação de médias pelo teste de Scott-Knott considerando os resultados significativos quando ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância (ANOVA) apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes concentrações da fração acetato de etila, para as variáveis germinabilidade, IVG e comprimento de raiz.

A porcentagem de sementes germinadas respondeu negativamente ao aumento da concentração da fração acetato de etila de Murici-pequeno (Fig. 1).

Esses resultados estão de acordo com Silva et al. (2006), que ao estudar 15 diferentes espécies de Cerrado, tais como o arbusto *Byrsonima verbacifolia* ou Murici-doce, encontrou inibição significativa na germinação de sementes de alface. Muitas vezes, o efeito alelopático não é evidente apenas sobre a germinabilidade, mas sobre a velocidade de germinação ou outro parâmetro do processo, como por exemplo, o crescimento da planta (BORGHETTI & PESSOA, 1997; RODRIGUES et al., 1999).

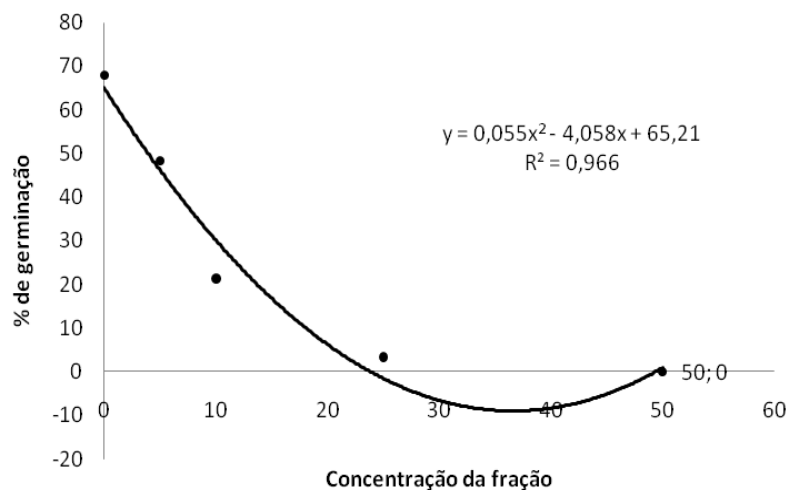


Figura 1 – Comportamento da germinabilidade de acordo com o aumento da concentração da fração acetato de etila de Murici-pequeno. Alfenas, Unifal-MG

Pela análise de regressão, nota-se que o efeito das diferentes concentrações de fração acetato de etila de Murici-pequeno, causam um atraso na germinação das sementes de alface (Fig. 2). De acordo com Wandscheer e Pastorini (2008), extratos de raízes e folhas de *Raphanus raphanistrum* provocaram alterações no índice de velocidade de germinação de sementes de alface.

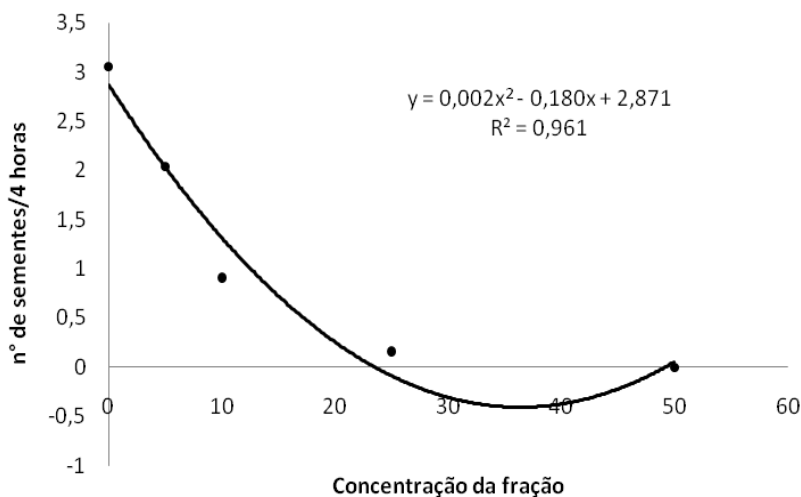


Figura 2 – Comportamento do índice de velocidade de germinação de acordo com o aumento da concentração da fração acetato de etila de Murici-pequeno. Alfenas, Unifal-MG

À medida que aumenta a concentração da fração acetato de etila de Murici-pequeno ocorre uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no comprimento médio de raízes (Fig. 3). Resultados obtidos com Angelim-do-Campo ou Mata-barata (*Andira humilis*), planta nativa do Cerrado, também demonstraram a inibição do crescimento de alface (PERIOTTO et al., 2004).

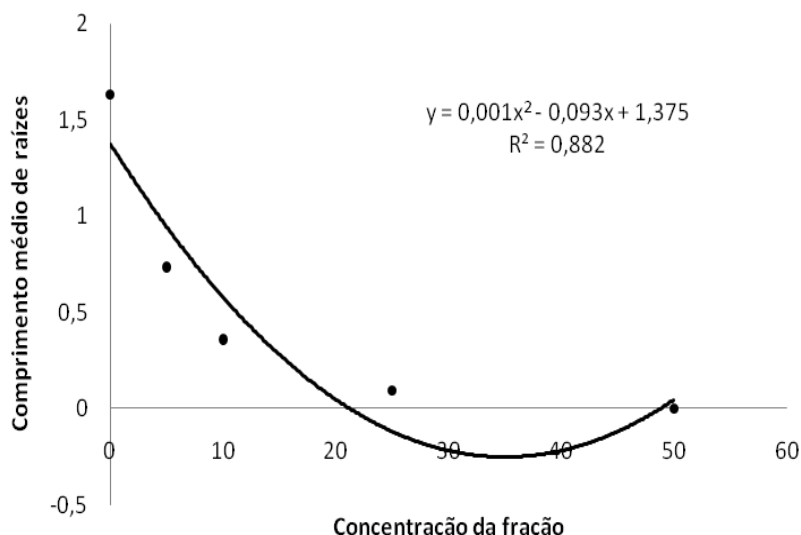


Figura 3 – Comportamento do comprimento médio de raízes de acordo com o aumento da concentração da fração acetato de etila de Murici-pequeno. Alfenas, Unifal-MG

CONCLUSÃO

A fração acetato de etila apresentou efeito inibitório sobre a germinação e o crescimento da planta-alvo, evidenciado na resposta dos parâmetros ao aumento da concentração. Os diferentes parâmetros responderam de forma semelhante às diferentes concentrações da fração, onde a análise de regressão resultou em uma curva característica.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

ARKHIPCHUK, V. V.; MALINOVSKAYA, M. V.; GARANKO, N. N. Cytogenetic study of organic and inorganic toxic substances on *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, and *Hydra attenuata* cells. **Environmental Toxicology**, vol. 15, p. 338–344, 2000.

BORGHETTI, F. & PESSOA, D.M. de A. Autotoxicidade e alelopatia em sementes de *Solanum lycocarpum* St.Hil. (Solanaceae). In LEITE, L. & SAITO, C.H. (Orgs.) **Contribuição ao conhecimento ecológico do Cerrado**. Trabalhos selecionados do 3o. Congresso de Ecologia do Brasil, outubro 1996, Brasília, DF. Brasília, DF, Depto. de Ecologia, Universidade de Brasília, 1997. p.54-58.

CHOU, C. H. 1999. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, **18** (5): 609-630.

CHOU, C. H. 2006. Introduction to allelopathy. In: Reigosa, M. J.; Pedrol, N.; González, L. (Eds). **Allelopathy: A physiological process with ecological implications**. Springer, Dordrecht, Holanda, p.1-9.

FELÍCIO, J. D.; GONÇALEZ, E.; LINS, A. L.; BRAGGIO, M. M.; DAVID, J. M. Triterpenos isolados das folhas de três espécies de *Byrsonima*. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 62, p. 91-92, jan./dez. 1995.

FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. 2004. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed.

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

- KING, S. R.; AMBIKA, R. 2002. Allelopathic plants. 5. *Chromolaen odorata* (L.). **Allelopathy Journal**, **9** (1): 35-41.
- MACÍAS, F. A.; VARELA, R. M.; TORRES, A.; OLIVA, R. M.; MOLINILLO, J. M. G. 1998. Bioactive norsesquiterpenes from *Helianthus annuus* with potential allelopathic activity. **Phytochemistry**, **48** (4): 631- 636.
- MONTEIRO, M.S.; LOPES, T.; MANN, R.M.; PAIVA, C.; SOARES, A.M.V.M.; SANTOS, C. Microsatellite instability in *Lactuca sativa* chronically exposed to cadmium. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, Vol. 672, p. 90-94, 2009
- OLOFSDOTTER, M.; MALLIK, A. U. 2001. Allelopathy symposium. **Agronomy Journal**, **93** (1): 1-2.
- PANDARD, P.; DEVILLERS, J.; CHARISSOU, A. M.; POULSEN, V.; JOURDAIN, M. J.; FÉRARD, J. F.; GRAND, C.; BISPO, A.; Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes, **Science Total Environment**. 363, 114–125. 2006.
- PERIOTTO, F.; PEREZ, Andrade, S. C. J. G.; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Bot. Bras.** [online]. 2004, vol.18, n.3, pp. 425-430
- RICE, E. L. **Allelopathy**. 2. ed, New York: Academic Press, 1984.
- RIZVI, S. J. H.; HAQUE, H.; SINGH, V. K.; RIZVI, V. 1992. A discipline called allelopathy. In: Rizvi, S. J. H.; Rizvi, V. (Eds). **Allelopathy: Basic and applied aspects**. Chapman & Hall, London, UK, p.1- 10.
- RODRIGUES, B.N.; PASSINI, T. & FERREIRA, A.G. Research on allelopathy in Brazil. In: NARWAL, S.S. (Ed.) **Allelopathy Update** Enfield, Science Pub., 1999. v.1, p.307-323.
- RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. de. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA, 2001. 180 p.
- SILVA, G. B; MARTIM, L.; SILVA, C. L.; YOUNG, M. C. M.; LADEIRA, A. M. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. **Hoehnea**. 33(3): pág.331-338, 2006.
- SMITH, A. E.; MARTIN, D. L. 1994. Allelopathic characteristics of three cool-season grass in the forage ecosystems. **Agronomy Journal**, **8** (2): 243-246.
- WANDSCHEER, A. C. D.; PASTORINI, L. H. 2008. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. **Ciência Rural**, **38** (4): 949-953.