

USO DO SISTEMA TESTE DE VEGETAL COMO BIOINDICADOR DO EFEITO FISIOLÓGICO E CITOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO DE ORÉGANO

PERES, PRISCILA RODRIGUES¹; FONSECA, VIVIANE BARNECHE²; FREITAG, ROGÉRIO ANTONIO³; BOBROWSKI, VERA LUCIA⁴.

¹Universidade Federal de Pelotas, CCQFA- pri_peres27@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas-, IB vivianebarneche@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, CCQFA rafreitag@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas, IB, DEZG, - vera.bobrowski@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para fins terapêuticos tem sido empregado pelo homem desde as antigas civilizações até a modernidade, por apresentarem metabólitos secundários de rica diversidade química com atividades farmacológicas promissoras que podem proporcionar benefícios a saúde humana na cura de determinadas enfermidades, desde que utilizado em concentrações adequadas.

A presença destes metabólitos indica a existência de rotas biossintéticas específicas as quais são as precursoras dos principais compostos químicos com propriedades terapêuticas.

Origanum vulgare L., o orégano é amplamente empregado na indústria farmacêutica, sobretudo por seu potencial antimicrobiano, antifúngico e antioxidante, assim como condimento alimentar por fornecer sabor característico. De acordo com NUNES et al. (2010), entre as espécies de *Origanum*, os mais importantes componentes são: limoneno, β -cariofileno, β -cimeneno, canfeno, linalol, α -pineno, carvacrol e timol (compostos fenólicos).

No entanto, pouco se sabe sobre a toxicidade que esta planta pode causar a outras espécies ou quanto à citotoxicidade/genotoxicidade. FARROOQ et al. (2011), ressaltou que os vegetais liberam no ambiente diversos metabólitos que podem influenciar de forma positiva ou negativa o crescimento e desenvolvimento da vegetação adjacente, fenômeno conhecido como Alelopatia.

A utilização de sistemas testes vegetais é considerado importante para análise da genotoxicidade através da observação de alterações cromossômicas, pois substâncias consideradas genotóxicas causam danos celulares. Segundo Gadano et al. (2002), o índice mitótico e índice de replicação são usados como indicadores de proliferação adequada de células, o que pode ser medido através do sistema teste vegetal de *Lactuca sativa*.

Com objetivo de verificar os efeitos fisiológicos (toxicidade) e citotoxicidade do extrato aquoso de orégano foram realizados bioensaios utilizando diferentes concentrações tendo *Lactuca sativa* L. (alface) como bioindicador.

2. METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética do Departamento de Zoologia e Genética do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas - RS.

Para montagem dos bioensaios foram utilizadas sementes de alface acondicionadas em caixas gerbox forradas com papel germiteste. Nas quais foram testadas cinco concentrações do extrato aquoso de orégano (0 ; 5 mg/mL; 1 mg/mL; 0,2 mg/mL; 0,04 mg/mL), sendo utilizadas 5 repetições estatísticas de 100 sementes para cada concentração e mantidas em câmara de germinação a uma temperatura controlada de 25⁰ C.

O efeito fisiológico (toxicidade) do extrato aquoso sobre a germinação das sementes foi conduzido através dos testes de primeira contagem (GI) realizada no período de quatro dias após a semeadura, a germinação (G) avaliada aos 7 dias após a semeadura e a análise de crescimento foi realizada com 10 plântulas de cada concentração medindo-se o crescimento da parte aérea (CPA) e raiz (CPR) com régua milimetrada.

O efeito citotóxico/genotóxico foi verificado pela contagem das fases do processo de divisão mitótica das amostras obtidas do sistema meristemático das pontas de raiz. As radículas foram coletadas aos quatro dias após a germinação e foram fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético glacial) acondicionadas em potes etiquetados e mantidos sobre refrigeração. Foi utilizada a técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002). Cada tratamento foi constituído por quatro lâminas observadas 100 células/lâmina pela técnica de varredura.

Para todas as variáveis foram realizadas análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tuckey.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos fisiológicos do extrato aquoso de orégano nas concentrações testadas estão apresentados na Tabela 1. Estes resultados permitem observar que o efeito do extrato foi significativo para germinação inicial (primeira contagem bem como para a variável comprimento de parte radicular (CPR), porém não foram observadas variações significativas estatisticamente para comprimento de parte aérea (CPA) e germinação total (G).

Para as variáveis CPR e GI o efeito fisiológico observado foi maior conforme aumento da concentração do extrato, porém a concentração de 1 mg/mL não difere estatisticamente das menores doses e da água destilada. Resultados similares foram observados por Viecelli; Cruz-Silva (2009) ao avaliar o efeito da variação sazonal no potencial alelopático de *Sálvia* observou que o desenvolvimento das raízes das plântulas de alface foram afetadas pelos extratos aquosos de forma diferente, ora estimulando, ora inibindo o seu crescimento. Aoki et al. (1997), ressaltam que a intensidade dos efeitos alelopáticos é dependente da concentração das substâncias, o que se comprovou neste trabalho, pois com o aumento das concentrações do extrato aquoso de orégano houve efeito fisiológico sobre o crescimento da parte radicular (CPR) e germinação inicial (GI) apresentando-se sensível nas concentrações acima de 1 mg/mL. Porém, a germinação total (G) e comprimento de parte aérea (CPA) não apresentaram variações significativas estaticamente. Reigosa et al. (1999), explica este fato afirmando que os aleloquímicos podem atuar em vários processos simultaneamente e ter uma resposta diferente para o mesmo ou para diferentes processos, dependendo da concentração deste composto.

Ferreira (2004) relata que muitas vezes o efeito alelopático não atua sobre a germinabilidade (porcentagem final de germinação), mas sobre o índice de velocidade de germinação e/ou sobre o desenvolvimento das plantas. Povh et al.

(2007) também evidenciou a redução da germinação de alface com o aumento da concentração de extratos de folhas de *Machaerium acutifolium* Vog. (Fabaceae) foi totalmente inibida sob concentrações de 100% do extrato.

Tabela 1. Análise do efeito fisiológico de diferentes concentrações do extrato aquoso de orégano sobre a germinação inicial (GI) e total (G) e sobre o comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CPR). Pelotas, 2013.

Concentração	CPR (mm)	CPA (mm)	GI (%)	G (%)
0	228 a	251 a	98 a	99,4 a
0,04 mg/mL	236 a	246 a	98,3 a	99,2 a
0,2mg/mL	246 a	288 a	97,6 a	98,5 a
1mg/mL	175 ab	237 a	97,1 ab	97,5 a
5mg/mL	106 b	282 a	92,7 b	96,7 a
CV%	46,1	26,3	4,3	5,4

Quanto ao efeito citotóxico/genotóxico do extrato de orégano sobre o bioindicador utilizado tanto para análise do índice mitótico quanto do índice por fases de divisão celular não foram observadas diferenças estatísticas entre as concentrações utilizadas e o controle.

Segundo Silva, et al. (2003) a análise de alterações cromossômicas serve como teste de mutagenicidade e é um dos poucos métodos diretos para mensurar danos em sistemas expostos a mutagênicos ou carcinogênicos potenciais. Para possibilitar a avaliação dos efeitos ou danos que agentes mutagênicos podem causar, faz-se necessário que a amostra esteja em constante divisão mitótica, objetivando identificar os efeitos tóxicos e alterações ocorridas ao longo de um ciclo celular. De acordo com Grant, (1978), Grant (1982) e Grover et al. (1990), outros estudos tem sido realizados com sistema teste vegetal e foi reportado uma concordância entre os sistemas teste vegetal e sistema teste de mamíferos de 75 a 91,5%.

4. CONCLUSÃO

O extrato aquoso de orégano influencia nas condições fisiológicas de germinação inicial e de crescimento de parte radicular do bioindicador utilizado nas concentrações acima de 1mg/mL, porém não foram observados efeitos citotóxicos nem genotóxicos para as concentrações testadas deste extrato.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOKI, T.; OHRO, T.; HIRAGA, Y.; SUGA, T.; UNO, M.; OHTA, S. Biologically active clerodane-type diterpene glycosides from the root-stalks of *Dicranopteris pedata*. **Phytochemistry**, New York, v. 46, n. 5, p. 839-844

FARROQ, M.; et al. **The role of allelopathy in agricultural pest management**. *Pest Management Science*, Weinheim, v. 67, n5, p.493-506, 2011.

FERREIRA, A. G. Interferência: Competição e Alelopatia. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação do básico ao aplicado**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 251-262.

GADANO, A.; GURNI, A.; LÓPEZ, P.; FERRARO, G.; CARBALLO, M. **In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L.** *Ethonopharmacol*, 81:11-16, 2002.

GRANT, W.F. **Chromosome aberrations in plants as a monitoring system.** *Environ Health Persp*, 1978, Cap. 27, p. 37-43.

_____. Chromosome aberrations assay in A report of the U.S. Environmental Protection Agency Genetox programme. *Mutation Res*, 1982, Cap. 9, p. 273-291.

GROVER, I.S.; GHRNGRA, A.K.; ADHIKARI, N.; LADHAR, S.S. Genotoxicity of pesticides abd systems. *Prog Clin Biol Resp*, 1990, Cap. 340, p. 91-106.

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

NUNES, S. J.P.; DIAS, P.L. Averiguação da atividade antioxidante do extrato aquoso do orégano, *Origanum vulgare*. In: **CONNEPI**, 5., Macéio, 2010.

POVH, J. A.; PINTO, D. D.; CORREA, M. O. G.; ONO, E.O. Atividade alelopática de *Machaerium acutiolum* Vog na germinação de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl.2, p.447-449, 2007.

REIGOSA, M.J.; SÁNCHEZ, M.A.; GONZÁLES, L. **Ecophysiological approach in allelopathy.** *Critical Reviews in Plant Science*, v. 18, n5, p. 577-608, 1999.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A.P. **Genética toxicológica.** Porto Alegre: Editora Alcance, 2003. p. 422.

SIMÕES, C. M.O.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre: Editora UFSC/Editora UFRGS, 2010. Cap.7, p.124-146.

VIECELLI, A. C.; CRUZ-SILVA, A.T.C. Efeito da variação sazonal no potencial alelopático de *Sálvia*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n. 1, p. 39-46, 2009.