

ANÁLISE DO EFEITO FISIOLÓGICO E GENOTÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE SÁLVIA UTILIZANDO SEMENTES DE ALFACE COMO BIOINDICADOR

MARTEN, Bruna Klug¹; BOBROWSKI, Vera Lucia²; FONSECA, Viviane Barneche¹; FREITAG, Rogério Antonio²

¹Universidade Federal de Pelotas, Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas; ²Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Zoologia e Genética; ³CCQFA-Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos. – bruna_marten@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

O uso das plantas medicinais é provavelmente tão antigo quanto a própria humanidade. As plantas medicinais são utilizadas mundialmente na forma de chás, infusões, componentes de cosméticos ou aditivos alimentícios. Porém, a maioria delas não foi suficientemente estudada no que se refere ao seu potencial de interação no metabolismo ou seu efeito citotóxico/genotóxico. De acordo com BAGATINIET et al. (2007) a presença de determinadas substâncias em sua composição ou decorrentes do próprio metabolismo podem causar danos à saúde da população.

Salvia officinalis L., pertencente à família Lamiaceae, é uma planta conhecida popularmente como Sálvia e usada, principalmente, para fins medicinais e alimentícios. O cultivo dessa espécie tem grande importância econômica, devido à sua capacidade de produzir e armazenar óleo essencial cujos constituintes são utilizados em produtos de higiene bucal, fármacos e cosméticos (MARTINS et al., 1998). A utilização de bioensaios vegetais para o monitoramento de substâncias ou frações de compostos isolados de plantas é uma excelente ferramenta, sendo desenvolvida com sementes de espécies sensíveis (NOLDIN et al., 2003). FISKESJO (1994) ressaltou a importância e a utilidade de sistemas testes vegetais, na avaliação de riscos de genotoxicidade e enfatizou que apesar das diferenças entre os metabolismos de plantas e animais, há também similaridades, e que a ativação de pró-mutagênicos em plantas possui alta relevância, pois seres humanos consomem plantas tratadas com agentes químicos.

Este trabalho teve como objetivo analisar o efeito fisiológico e genotóxico de diferentes concentrações do óleo essencial de folhas de Sálvia (*Salvia officinalis* L.) utilizando alface (*Lactuca sativa* L.) como bioindicador.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

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

O efeito fisiológico foi avaliado através de testes de primeira contagem, germinação e comprimento das raízes (CR) e de parte aérea (CPA). Como organismo-teste, foram utilizadas sementes de alface, as quais foram submetidas a resfriamento de 4°C por 72h para superação de dormência.

Para montagem dos bioensaios, as sementes de alface foram acondicionadas em caixas gerbox, forradas com germiteste, umedecido com 8 mL de água destilada. Foram testadas cinco concentrações do óleo essencial (0, 0,01, 0,1, 1 e 10% v/v), aplicadas em papel mata-borrão, colado a tampa do gerbox para evitar contato direto com as sementes e liberar os compostos voláteis, sendo estas fechadas com papel filme e mantidas em câmara de germinação a uma temperatura controlada de 25°C. Para cada tratamento foram utilizadas cinco repetições estatísticas de 100 sementes para cada concentração.

O efeito do óleo essencial sobre o vigor das sementes foi realizado através dos testes de primeira contagem, o qual foi realizado aos quatro dias após a semeadura e aos sete dias para germinação, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, sendo realizada análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tuckey a 5%.

O efeito genotóxico foi observado através da análise das etapas da divisão celular, as radículas foram coletadas aos quatro dias após o teste de primeira contagem e preparadas através da técnica de esmagamento (GUERRA & SOUZA, 2002), fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético glacial), hidrolisadas em HCl 5N e corada comorceína acética 5%. As células foram analisadas por varredura, em microscópio óptico com aumento de 400X, sendo analisadas 100 células por lâmina e quatro lâminas para cada um dos tratamentos. Observando-se o número de células em cada fase da mitose, sendo posteriormente calculado o Índice de Interfase, de prófase, de metáfase, anáfase e o índice mitótico (total de células em divisão/100). Também foi sendo realizada análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme Tabela 1, os resultados das variáveis primeira contagem e germinação foram altamente significativos ($P < 0,01$), sendo que as médias de germinação do controle (0%) e das concentrações baixas (0,01, 0,1%) não diferiram estatisticamente entre si, mas sim em relação às concentrações (1 e 10%) no teste de primeira contagem, onde houve sensível redução na germinação das sementes nas doses de 1% e nenhuma germinação na concentração de 10%. Estes resultados se mantiveram aos 7 dias para contagem da germinação, sendo que em concentração de 10% houve 3,17% de germinação.

Tabela 1: Resultados observados em sementes de alface submetidas a diferentes concentrações de óleo essencial de Sálvia nos testes de primeira contagem e germinação, análise de crescimento da parte aérea (PA) e parte radicular (PR)

Doses	Primeira contagem		Germinação		Parte aérea		Parte radicular	
0%	95.93	A	97.51	A	3.38	A	2.54	A
0,01%	88.02	A	93.88	A	4.22	A	2.73	A
0,1%	81.66	A	89.77	AB	4.16	A	2.76	A
1%	45.53	B	60.46	B	1.60	B	0.90	B
10%	0.0	C	3.17	C	-	-	-	-

Os resultados obtidos no ensaio para a análise de crescimento da parte aérea e parte radicular de sementes de alface submetidas a diferentes concentrações do óleo essencial não mostraram diferença estatística significativa entre as concentrações 0, 0,01 e 0,1% porém diferiram daqueles observados para a concentração de 1%, e para a concentração mais alta não foi possível analisar comprimento, tanto de parte aérea como de raiz, devido ao baixo número de sementes germinadas (Tab.1).

Os dados obtidos por VICIELLI e CRUZ-SILVA (2010) trabalhando com diferentes extratos aquosos de folhas frescas de sálvia comprovam também um efeito negativo sobre o desenvolvimento de sementes e plântulas de alface, corroborando desta forma os resultados deste experimento.

Os resultados da análise do efeito citotóxico/genotóxico sobre o ciclo de divisão das células mostrados na tabela 2 permitem observar que na maioria das variáveis testadas houve diferença significativa entre o controle e a concentração de 10% do óleo essencial, sendo que as demais concentrações não diferem entre si. Porém, podemos observar também que com o aumento da concentração, houve um aumento do número de células em interfase indicando uma parada no ciclo de divisão das células meristemáticas radiculares enquanto que, como esperado, o valor do índice mitótico foi continuamente reduzido conforme aumento da concentração sendo o maior efeito depressivo verificado na concentração de 10%.

Comparando-se as freqüências das diferentes fases da mitose, observamos pelos resultados mostrados na tabela 2 que a maioria das células em divisão se concentrou na primeira etapa do ciclo mitótico, isto é, na prófase e com menor freqüência nas fases subseqüentes.

De acordo com QUISPE et al. (2010), quando as células do tecido meristemático se encontram em equilíbrio proliferativo, a duração de cada uma das fases do ciclo celular permanece constante e proporcional a sua duração, porém na presença de substâncias tóxicas a divisão celular pode ser inibida, retardada ou causar a morte celular. Neste experimento, resultados similares foram observados na presença da concentração acima de 1% do óleo essencial de sálvia.

Tabela 2: Resultado da avaliação das diferentes fases do processo de divisão celular observado em meristemas radiculares de sementes de alface submetidas a diferentes concentrações de óleo essencial de sálvia.

Doses	Índice Interfase	Índice Prófase	Índice Metáfase	Índice Anáfase	Índice Telófase	Índice Mitótico Total
0%	73.00 B	15.00 A	6.25 A	2.25 A	3.50 A	27.00 A
0,01%	78.25 AB	11.25 AB	4.25 A	4.00 A	2.25 AB	21.75 AB
0.1%	79.00 AB	10.25 AB	5.00 A	3.75 A	2.00 AB	21.00 AB
1%	81.75 AB	9.50 AB	4.50 A	2.75 A	1.50 B	18.75 AB
10%	87.50 A	4.75 B	3.50 A	2.75 A	1.50 B	12.50 B

Importante ressaltar que autores como SILVA et al. (2003) e QUISPE et al. (2010) relatam que ao ensaiar em bioindicador sensível os efeitos que agentes químicos ou físicos podem causar danos a nível celular, se poderia extrapolar que estes agentes teriam um potencial em gerar um efeito tóxico nos processos de divisão celular em células eucarióticas de outros organismos devido a universalidade do código genético.

4 CONCLUSÃO

Este trabalho comprova, através das variáveis analisadas, a ocorrência de efeito deletério do óleo essencial de Sálvia na concentração acima de 1% sobre o bioindicador testado, enquanto que o efeito genotóxico sobre o ciclo celular ocorre na dose mais alta testada.

5 REFERÊNCIAS

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DA REFORMA AGRÁRIA. Divisão de Laboratório Vegetal. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília. 1992.

BAGATINI, M.D.; SILVA, A. C. F. DA; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p. 444-447, Jul./Set. 2007.

FISKESJO, G. The *Allium Test* II: Assesmente of chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L. **Environ Toxicol Water Qual**, v. 9, p. 234-241, 1994.

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

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV. 1998.

NOLDIN, V.F.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A. Composição química e atividade biológica de *Cynarascolumus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v.26, n.3, p.331-334, 2003.

QUISPE, J.; SALDAÑA, J.; VERDE, T.; VALDERRAMA S. Efectos Del Sorbato de Potasio a diferentes concentraciones y tiempo de exposición sobre el ciclo celular y el material genético em meristemas radiculares de *Allium cepa* L. "Cebolla", **ECIPERU - Revista del Encuentro Científico Internacional**, p. 71-78, 2010.

SILVA, J.; ERDTMANN B.; HENRIQUES, J. **Genética toxicológica**, Porto Alegre: Primeira edição, Editorial Alcance, 2003. 422 p.

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