

<http://dx.doi.org/10.21707/ga.v11.n01a12>

## ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *MICONIA* SPP. RUIZ & PAVON (MELASTOMATACEAE JUSS.)

MARCOS AURÉLIO FIGUEREIDO DOS SANTOS<sup>1,2</sup>, MARIA ARLENE PESSOA DA SILVA<sup>1,2</sup>, ANTÔNIO CARLITO BEZERRA DOS SANTOS<sup>1</sup>, JOSÉ WEVERTON ALMEIDA BEZERRA<sup>2\*</sup>, SARAH RIBEIRO ALENCAR<sup>2</sup>, ELANIA ALVES BARBOSA<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato, Ceará, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Botânica Aplicada - LBA, Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato, Ceará, Brasil.

\*Autor correspondente: Laboratório de Botânica Aplicada - LBA, Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato, Ceará, Brasil. E-mail: [weverton.almeida@urca.br](mailto:weverton.almeida@urca.br)

Recebido em 04 de fevereiro de 2016. Aceito em 08 de outubro de 2016. Publicado em 31 de março de 2017.

**RESUMO** - O trabalho objetivou estudar o extrato obtido por infusão de sete espécies do gênero *Miconia* (*Miconia albicans*, *Miconia alborufescens*, *Miconia ciliata*, *Miconia ibaguensis*, *Miconia lingustroides*, *Miconia minutiflora* e *Miconia stenostachya*), sobre a germinação, desenvolvimento e índice mitótico de alface (*Lactuca sativa*). O extrato foi preparado com 30 gramas de folhas imersas em 1L de água destilada a 100°C por uma hora. Os tratamentos constaram do extrato a 100% diluído em água destilada a 75, 50 e 25% e o grupo controle constou de água destilada (0%). As sementes de *L. sativa* foram postas para germinar em placas de Peri contendo papel filtro umedecido com 3 mL do substrato nas diversas concentrações por sete dias. Para análise do índice mitótico foi utilizada a técnica de esmagamento e coloração das pontas de raiz de alface. Foram avaliados o número de sementes germinadas, IVG, comprimento das plântulas e necrose das radículas. Foi observada a presença de anomalias cromossômicas. A pesquisa de metabolitos secundários foi feita através da mudança de cor e formação de precipitado com adição de reagentes específicos. Todos os extratos por infusão de *Miconia* spp. inibiram significativamente o comprimento da radícula da planta teste. Somente duas espécies testadas apresentaram efeito sobre o índice mitótico de alface, o qual teve um aumento com o uso dos extratos de *M. albicans* e uma inibição com os de *M. lingustroides*. Várias anomalias cromossômicas foram encontradas com destaque para C-metáfases e micronúcleos. As espécies de *Miconia* testadas caracterizam-se pela presença de taninos e flavonoides. Os extratos testados demonstraram efeito alopatóico negativo sobre as radículas da planta teste.

**PALAVRAS-CHAVE:** ALELOPATIA; CITOXICIDADE; INFUSÃO.

### BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *MICONIA* SPP. RUIZ & PAVON (MELASTOMATACEAE JUSS.)

**ABSTRACT** - This study aimed to evaluate the influence of extracts, obtained by the infusion of seven species of the genus *Miconia* (*Miconia albicans*, *Miconia alborufescens*, *Miconia ciliata*, *Miconia ibaguensis*, *Miconia lingustroides*, *Miconia minutiflora*, and *Miconia stenostachya*), on the germination, development and mitotic index of *Lactuca sativa*. The extract was prepared with 30 grams of leaves immersed in 1 L of distilled water at 100 °C for one hour. The treatments consisted of 100% extract diluted in 75, 50 and 25% distilled water and the control group consisted of distilled water (0%). *L. sativa* seeds were placed to germinate in Petri dishes, containing filter paper moistened with 3 mL of the substrate at the different concentrations, for seven days. The method of crushing and staining the lettuce root tips was used for the mitotic index analysis. The number of germinated seeds, germination speed index, length of seedlings, and necrosis of rootlets were evaluated. The presence of chromosomal abnormalities was observed. The secondary metabolite analysis was performed by the change of color and formation of precipitate with the addition of specific reagents. All extracts by infusion of *Miconia* spp.

significantly inhibited the radicle length of the tested plant. Only two of the tested species influenced the lettuce mitotic index, which was increased in *M. albicans*, and inhibited in *M. linguistroides*. Several chromosomal abnormalities were found especially C-metaphase and micronuclei. The *Miconia* species tested in this study are characterized by the presence of flavonoids and tannins. The tested extracts showed a negative allelopathic effect on the rootlets of the tested plant.

**KEYWORDS:** ALLELOPATHY; CYTOTOXICITY; INFUSION.

---

### ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *MICONIA* SPP. RUIZ & PAVON (MELASTOMATACEAE JUSS.)

**RESUMEN** - El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de extractos, obtenidos mediante la infusión de siete especies del género *Miconia* (*Miconia albicans*, *Miconia alborufescens*, *Miconia ciliata*, *Miconia ibaguensis*, *Miconia linguistroides*, *Miconia minutiflora* y *Miconia stenostachya*), sobre la germinación, el desarrollo y el índice mitótico de *Lactuca sativa*. Los extractos se prepararon con 30 gramos de hojas inmersas en 1 L de agua destilada a 100°C durante una hora. Los tratamientos consistieron en el extracto a un 100 % diluido en agua destilada a un 75, 50 y 25 %, y el grupo control consistió en agua destilada (0 %). Las semillas de *L. sativa* se pusieron para germinar en placas de Petri con papel filtro humedecido con 3 ml de sustrato en las diferentes concentraciones evaluadas durante siete días. Para el análisis del índice mitótico se utilizó la técnica de aplastamiento y de tinción de las puntas de las raíces de lechuga. Se evaluaron el número de semillas germinadas, el índice de velocidad de germinación, el largo de las plántulas y la necrosis de las radículas. Se observó la presencia de anomalías cromosómicas. El análisis de metabolitos secundarios se realizó a través del cambio de color y de la formación de precipitado con la adición de reactivos específicos. Todos los extractos obtenidos por la infusión de *Miconia* spp. inhibieron significativamente el largo de la radícula de la planta evaluada. Solamente dos de las especies evaluadas tuvieron efecto sobre el índice mitótico en *L. sativa*, el cual tuvo un aumento con el uso del extracto de *M. albicans* y una inhibición con el uso del extracto de *M. linguistroides*. Se encontraron varias anomalías cromosómicas, en especial la C-metáfase y los micronúcleos. Las especies *Miconia* evaluadas se caracterizan por la presencia de flavonoides y taninos. Los extractos testados mostraron un efecto alelopático negativo sobre las radículas de la planta evaluada.

**PALABRAS CLAVE:** ALELOPATÍA; CITOTOXICIDAD; INFUSIÓN.

---

## INTRODUÇÃO

A alelopatia é definida por Aires (2007) como uma interferência positiva ou negativa de uma planta sobre outras plantas, ou outros organismos. Essa interferência pode ocorrer por inibição ou favorecimento da germinação e/ou do crescimento do organismo receptor sendo promovida por meio de substâncias químicas (aleloquímicos), produtos do metabolismo secundário (Alves 2002).

Derivados de diferentes rotas metabólicas, os aleloquímicos são produtos que se originam do metabolismo da glicose tendo como produtos intermediários o acetato e o ácido chiquímico. Alguns aleloquímicos são resultantes de uma unidade de chiquimato e uma ou mais unidades de acetato ou derivados destes como as antraquinonas, flavonoides e taninos condensados (Li et al. 2010).

Segundo Pessotto e Pastorini (2007), os aleloquímicos causam interferência na conservação, dormência e germinação de sementes, crescimento de plântulas e vigor de plantas adultas, atuando em funções vitais como: respiração, fotossíntese, divisão celular, nutrição e reprodução.

Comiotto (2006) sugere que os compostos alelopáticos são a base de defesa das espécies vegetais em relação a outras plantas ou fungos através da inibição da germinação dos esporos; inibição do desenvolvimento

de bactérias nitrificantes e do desenvolvimento de patógenos. Esse processo de defesa evoluiu ao longo dos tempos representando um importante mecanismo ecológico responsável pela influencia direta e indireta entre os indivíduos nas distintas comunidades vegetais (Borella et al. 2010).

Frequentemente estudos de atividade alelopática aborda apenas o efeito do aleloquímico na germinação e no crescimento da planta receptora sem considerar os eventos celulares que estão relacionados às mudanças fisiológicas e genéticas (Pires et al. 2001; Iganciet al. 2006). Além disso, compostos químicos que apresentam atividade alelopática são usados na medicina popular para a cura de doenças porém seus efeitos citotóxicos e genotóxicos necessitam de maiores investigações (Iganci et al. 2006).

Dentre as espécies pouco exploradas em relação aos efeitos alelopáticos estão as pertencentes a *Miconia*, um dos maiores gêneros de Melastomataceae (Goldenberg 2004) merecendo destaque os desenvolvidos por Gatti (2008) e Gorla e Perez (1997), sobre o potencial alelopático negativo de *Miconia albicans* (SW.) Triana.

Considerando os aspectos acima referidos objetivou-se com esse trabalho verificar os efeitos alelopáticos dos extratos por infusão de espécies de *Miconia* sobre a germinação, desenvolvimento e índice mitótico de *Lactuca sativa* (alface), bem como verificar se esses extratos são capazes de promover anomalias cromossômicas nas células meristemáticas da planta teste e as classes de metabolitos secundários presentes nos extratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi coletado na Chapada do Araripe em áreas de Cerrado e Mata úmida no período de janeiro a dezembro de 2011. As espécies de *Miconia* coletadas foram tratadas segundo os métodos usuais de herborização, identificadas e enviadas ao Dr. Renato Goldenberg (UFPR) para confirmação da identificação. As exsicatas encontram-se depositadas no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima da Universidade Regional do Cariri – URCA sob os seguintes números de registros: *Miconia albicans* (4861), *Miconia borufescens* (5249), *Miconia aciliata* (2099), *Miconia baguensis* (2837), *Miconia linguistroides* (7202), *Miconia minutiflora* (1697) e *Miconia stenostachya* (6928).

O extrato por infusão (100%) foi preparado utilizando-se 30 g de folhas frescas imersas em um litro de água destilada a 100 °C em recipiente hermeticamente fechado até completo resfriamento. Em seguida a infusão foi filtrada com auxílio de funil de vidro e algodão hidrófilo e diluída em água destilada a 75%, 50% e 25% (Tratamentos). O grupo controle (0%) constou somente de água destilada. O pH dos extratos por infusão foram ajustados para 6.0 com soluções de KOH 0,1N e HCl a 5% conforme recomenda Macias, Gallindo e Molinillo (2000).

Os parâmetros analisados foram: contagem do número de sementes germinadas, índice de velocidade de germinação, comprimento do caulículo, da radícula ocorrência de necrose nas radículas, índice mitótico e ocorrência de anomalias cromossômicas.

Os bioensaios foram dispostos em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC). Tratamentos e controle foram compostos por cinco repetições de 20 sementes de *Lactuca sativa* (espécie receptora) totalizando 100 sementes cada. Os experimentos foram conduzidos em placas de petri, forradas com dois discos de papel filtro umedecidos com 3 mL do extrato nas diversas concentrações (Tratamentos) e com água destilada (controle). Em cada placa foi adicionado 3mL de cada concentração do extrato e o controle foi umedecido com 3mL de água destilada. Os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação do tipo

BOD a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas durante sete dias. Foram consideradas germinadas as sementes cujas radículas atingiram 2 mm de comprimento.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi avaliado a cada 24 horas, sendo determinado através do somatório da razão entre o número de sementes germinadas no dia  $i$  ( $n_i$ ) e o número de dias ( $i$ ) calculado através da equação abaixo proposta por Fernandes; Miranda, Sanqueta (2007).

$$IVG = \sum_{i=1}^n \left( \frac{n_i}{i} \right)$$

A avaliação dos demais parâmetros foi realizada através da contagem do número de sementes germinadas, medição do comprimento do caulículo, da radícula e ocorrência de necrose ao final dos sete dias.

Para a análise do índice mitótico foram coletadas, no quarto dia, após a germinação das sementes, cinco radículas por repetição, seguindo metodologia de Souza et al. (2005) as quais foram preparadas através da técnica de esmagamento seguida de coloração proposta por Guerra e Sousa (2002). As radículas coletadas foram postas em solução de Carnoy (3 partes etanol: 1 parte de ácido acético glacial) por 24 horas e estocadas em freezer no próprio fixador até a análise. Posteriormente as radículas foram submetidas a duas lavagens em água destilada de 5 minutos cada, hidrolisadas em HCl 5N (ácido clorídrico-5N) por 20 minutos e novamente lavadas em água destilada por 5 minutos. As pontas das radículas foram postas em lâminas de microscopia lapidadas, esmagadas em ácido acético a 45%, cobertas com lamínulas, removidas posteriormente através do contato com nitrogênio líquido, secas ao ar livre, coradas com giemsa a 2% por 20 minutos e montadas em entelam.

A contagem das células foi realizada com auxílio de microscópio óptico com aumento de 400X conforme metodologia proposta por Pires et al. (2001), com modificações. Foram preparadas cinco lâminas por tratamento. Sendo realizada a contagem do número total de células e o número de células em fase da mitose (prófase, metáfase, anáfase e telófase) em cinco campos por lâmina. O índice mitótico foi obtido pela divisão do número de células em mitose (prófase + metáfase + anáfase + telófase) pelo número total de células observadas (interfase + mitose), multiplicado por 100, conforme equação proposta por Pires et al. (2001). O resultado foi expresso em porcentagem:

$$IM = \frac{m}{T} \cdot 100$$

Onde:

- $m$  = número de células em mitose;
- $T$  = número total de células observadas.

Foi realizada análise qualitativa em todas as lâminas montadas, na busca de anomalias cromossômicas tais como: pontes anafásicas e telofásicas, c-mitoses, micronúcleos, aderência cromossômica, quebras cromossômicas, percas metafásicas e anafásicas, as quais foram fotografadas em microscópio acoplado com câmera fotográfica com o aumento de 1000X.

A pesquisa dos metabólitos secundários foram utilizados extratos etanólicos, produzidos com 500g de folhas frescas das espécies de *Miconia*. Para tanto as folhas foram trituradas e imersas em etanol P.A. por um período de sete dias sob a agitação periódica. Em seguida foi realizada a filtragem do material para retirada das folhas, postas para secar, para posterior pesagem a fim de se obter a massa seca após a extração. O extrato diluído foi levado a um evaporador rotativo, para a completa destilação do solvente. O excedente etanólico foi evaporado em banho-maria até a obtenção do extrato etanólico bruto. Os testes de prospecção fitoquímica

foram realizados seguindo a metodologia proposta por Matos (2009), o qual se baseia em mudança de cor e formação de precipitado pela adição de reagentes específicos.

Para análise estatística dos dados de germinação, comprimento dos caulículos e radículas e ocorrência de necrose, foi utilizado o programa ASSISTAT versão 7.6 beta, com análise de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo Teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Para a análise estatística das médias do índice mitótico foi utilizado o programa mencionado anteriormente. Conforme recomenda Banzatto e Kronka (1989) e Storck et al. (2011) os dados expressos em porcentagem foram transformados em  $\arcsen \sqrt{(X/100)}$  e analisados por regressão polinomial.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos testes de prospecção fitoquímica os metabólitos encontrados nas espécies de *Miconia* foram taninos, flavonoides e alcalóides (Tabela 1). Souza Filho e Alves (2002) afirmam que esses compostos estão relacionados a fenômenos alelopáticos observados nas plantas. Além disso, a presença desses compostos nas espécies estudadas concorda com a afirmação de Cassiano et al. (2010) na qual o autor afirma que Melastomataceae caracterizada por hidrocarbonetos, ácidos graxos, flavonoides, taninos hidrolisáveis e antocianinas, ao passo que terpenos e quinonas ocorrem raramente.

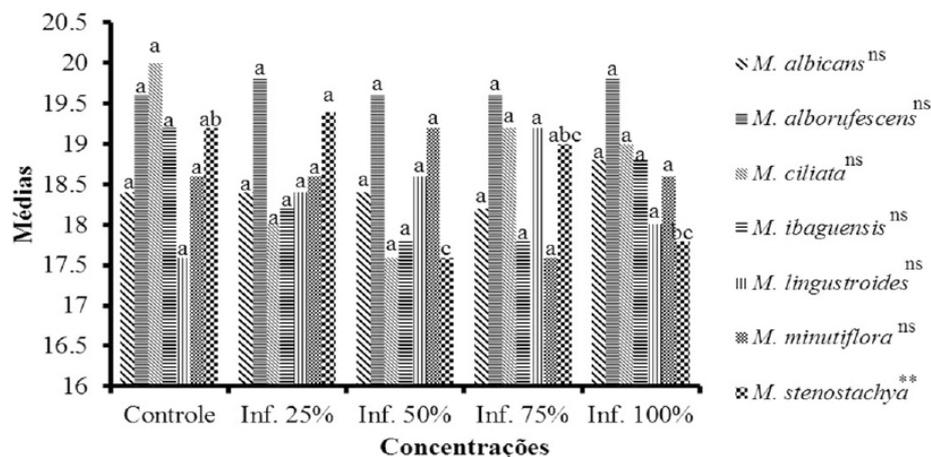
Tabela 1 - Classes de metabólitos secundários encontrados nos extratos etanólicos das espécies do gênero *Miconia*.

Espécie	Classes de metabólitos secundários			
	Taninos	Fenóis	Flavonoides	Alcaloides
<i>Miconia albicans</i>	+	-	+	-
<i>Miconia alborufescens</i>	+	-	+	+
<i>Miconia ciliata</i>	+	-	+	-
<i>Miconia ibaguensis</i>	+	-	+	-
<i>Miconia lingustroides</i>	+	-	+	+
<i>Miconia minutiflora</i>	+	-	+	+
<i>Miconia stenostachya</i>	+	-	+	-

O extrato por infusão de *M. stenostachya* a 50% de concentração causou uma redução significativa no número de sementes germinadas de *Lactuca sativa*, quando comparado ao grupo controle. Fato não observado em relação às sementes submetidas ao extrato por infusão das demais espécies de *Miconia* (Figura 1).

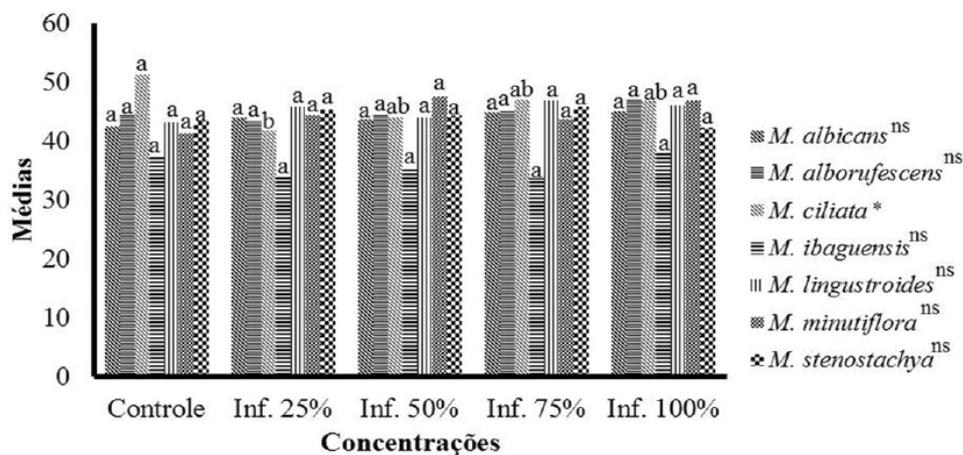
Resultado semelhante foi encontrado por Azambuja et al. (2010), no qual os autores verificaram que também a concentração de 50% do extrato de infusão de *Plectranthus barbatus* Andrews foi capaz de causar redução na germinação de sementes de alface.

Figura 1 - Número de sementes germinadas de *Lactuca sativa* L. (alface) submetidas ao Extrato por Infusão em diversas concentrações das folhas de *Miconia* spp. (\*\*): significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



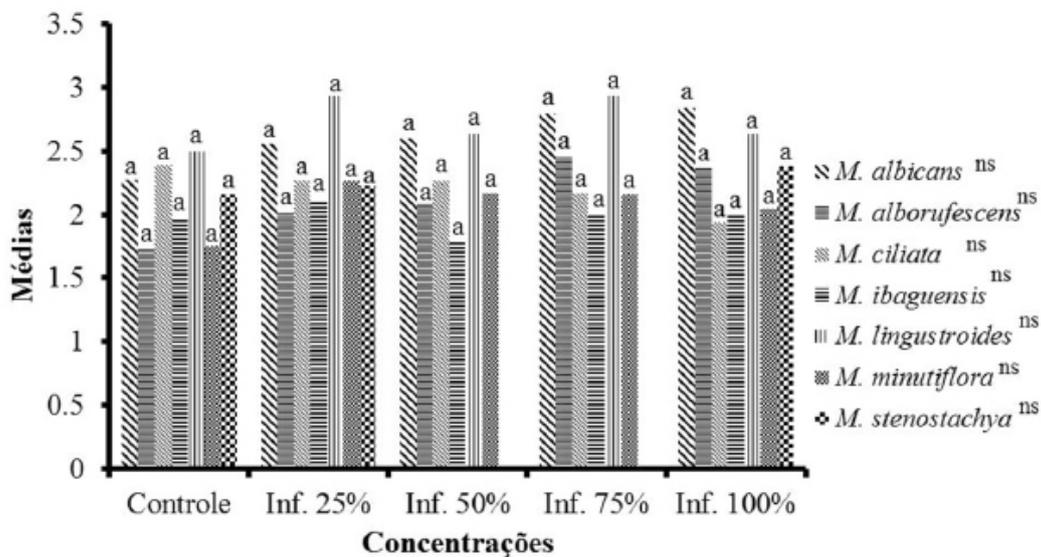
O índice de velocidade de germinação das sementes de alface submetidas ao extrato por infusão de *Miconia ciliata* a 25% foi afetado de forma negativa não sendo afetado nas demais concentrações. Os extratos das folhas das demais espécies de *Miconia* não causaram alterações significativas em relação a este parâmetro (Figura 2).

Figura 2 - Índice de Velocidade de Germinação das sementes de *Lactuca sativa* L. submetidas às diversas concentrações do Extrato por Infusão de *Miconia* spp. (\*): significância ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ); (ns): não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



O extrato de *M. albicans*, *M. alborufescens*, *M. ligustroides* e *Miconia minutiflora* causaram um aumento no comprimento dos caulículos de *L. sativa* em todas as concentrações testadas quando comparado ao controle, com exceção do extrato de *M. stenostachya* na concentração de 75% em que esta causou uma redução quando comparada ao controle. Porém a referida variável não foi significativa para todas as espécies testadas (Figura 3). Já o extrato de *M. ibaguensis* a 50% de concentração provocou uma redução no comprimento dos caulículos das plântulas de alface quando comparado ao controle e nas demais concentrações um aumento. Fato observado também em relação ao extrato nas diversas concentrações de *M. ciliata*.

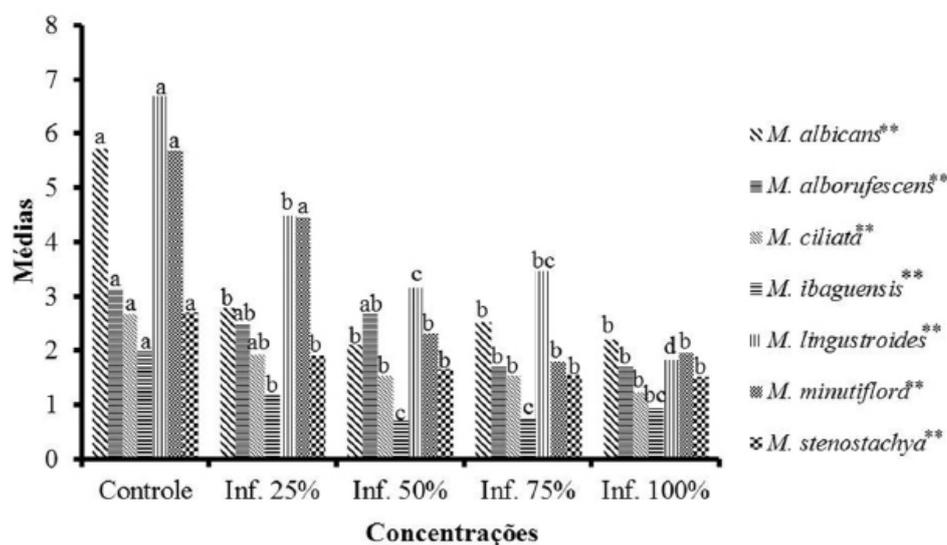
Figura 3 - Comprimento médio dos caulículos de alface sobre o efeito das diferentes concentrações do Extrato por Infusão de *Miconia* spp. (ns): não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Bach e Silva (2010) estudando o efeito do extrato aquoso por infusão das folhas de boldo-da-terra, verificaram um aumento no comprimento do caulículo da plântula de *Lactuca sativa* a partir da menor concentração. Para Souza Filho e Alves (2002), alguns compostos pertencentes à classe dos taninos flobafenicos são capazes de diminuir o crescimento dos vegetais, porém no presente trabalho esses taninos foram capazes de estimular o crescimento de alface.

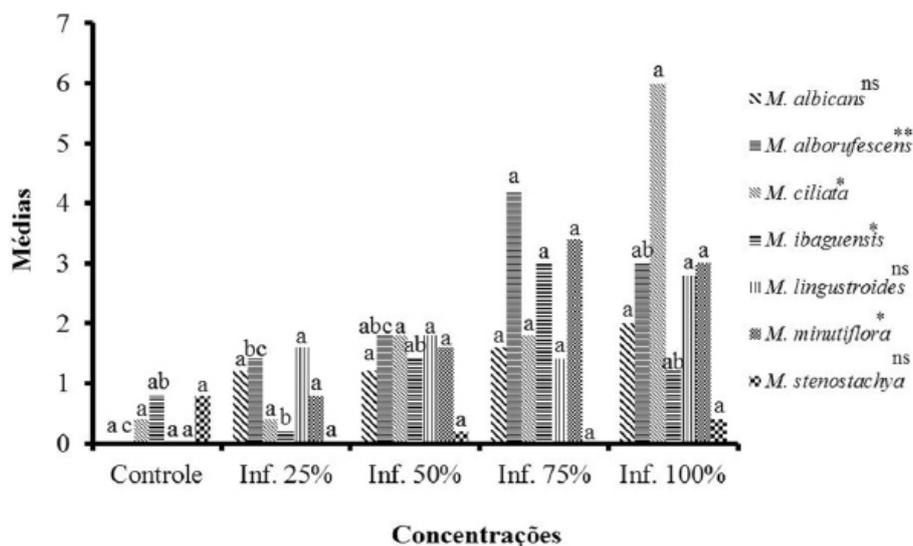
O extrato por infusão de todas as espécies de *Miconia* testadas inibiu o desenvolvimento da radícula de *L. sativa*, com todas as médias dos tratamentos diferindo estatisticamente do controle (Figura 4). Com exceção do extrato de *M. minutiflora* a 25% de concentração que não provocou nenhuma alteração significativa. Os resultados obtidos nesta pesquisa se assemelham aos obtido por Dias et al. (2005), ao verificarem que plântulas de alface submetidas ao extrato das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss (Celastraceae) sofreram inibição em relação comprimento da radícula.

Figura 4 - Comprimento médio das radículas de alface sobre o efeito das diferentes concentrações do Extrato por Infusão de *Miconia* spp. (\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



As radículas das plântulas de alface submetidas aos extratos de *M. alborufescens*, *M. ciliata*, *M. ibaguensis* e *M. minutiflora* apresentaram necrose significativa em todas as concentrações quando comparadas ao controle (Figura 5). Tal efeito foi mais efetivo em relação às plântulas submetidas ao extrato de *M. ciliata* a 100% e *M. alborufescens*, *M. ibaguensis* e *M. minutiflora* a 75% de concentração, uma vez que as radículas das plântulas submetidas às referidas concentrações encontraram-se totalmente deformadas e oxidadas. A formação de plântulas anormais é um instrumento valioso para se detectar a atividade de aleloquímicos presentes em extratos (Ferreira and Aquila 2000). Efeitos semelhantes aos obtidos nesta pesquisa foram encontrados por Félix et al. (2007) ao verificarem que as radículas das plantulas de alface submetidas ao extrato aquoso por infusão de *Amburana cearensis* L. (Fr. All.) AC apresentaram-se anormais, atrofiadas e defeituosas e outras praticamente sem raízes.

**Figura 5 - Número de radículas de plântulas de alface necrosadas sobre o efeito das diferentes concentrações do Extrato por Infusão de *Miconia* spp. (\*\*): significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); (\*): significância ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ); (ns): não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.**



Nos extratos aquosos por infusão das espécies de *Miconia* os valores de pH se encontraram em faixas muito ácidas variando entre 3,84 a 4,46. Conforme recomendado por Macias, Gallindo e Molinillo (2000) para uma melhor observação dos efeitos alelopáticos, o pH dos extratos aquosos devem ser ajustados para a faixa de 6,0. (Tabela 2).

Borella et al. (2009) e Ferreira e Aquila (2000) ressaltam que verificar o pH em testes de alelopatia é muito importante, pois faixas muito ácidas ou muito alcalinas ou seja, abaixo de 4,0 e acima de 10, podem causar efeitos deletérios podendo afetar a germinação das sementes e/ou o desenvolvimento de plântulas.

A análise de variância dos dados referentes ao índice mitótico das células meristemáticas de alface quando submetidas ao extrato por infusão das espécies de *Miconia* se encontra na Tabela 3.

Tabela 2 - Valores de pH para as concentrações dos extratos aquosos por infusão das folhas de *Miconia* spp.

Espécie testada	Concentrações (%)	pH normal	pH ajustado
<i>Miconia albicans</i>	25	3,60	6,11
	50	3,65	6,10
	75	3,64	6,06
	100	3,56	6,11
<i>Miconia alborufescens</i>	25	3,84	6,03
	50	3,82	6,02
	75	3,73	6,05
	100	4,00	6,17
<i>Miconia ciliata</i>	25	3,64	6,01
	50	3,59	6,11
	75	3,53	6,29
	100	3,35	6,09
<i>Miconia ibaguensis</i>	25	3,81	6,33
	50	3,50	6,02
	75	3,49	6,15
	100	3,20	6,01
<i>Miconia lingustroides</i>	25	3,60	6,22
	50	3,26	6,11
	75	3,35	6,01
	100	3,19	6,05
<i>Miconia minutiflora</i>	25	4,46	6,05
	50	4,39	6,07
	75	4,38	6,07
	100	4,11	6,00
<i>Miconia stenostachya</i>	25	3,72	6,03
	50	3,60	6,60
	75	3,68	6,03
	100	3,37	6,33

Tabela 3 - Análise de variância do índice mitótico (IM) das células meristemáticas de alface submetidas a diferentes concentrações do extrato por infusão de *Miconia* spp. *Miconia albicans* (*M. alb.*); *Miconia alborufescens* (*M. albor.*); *Miconia ciliata* (*M. cil.*); *Miconia ibaguensis* (*M. ibag.*); *Miconia lingustroides* (*M. ling.*); *Miconia minutiflora* (*M. minut.*); *Miconia stenostachya* (*M. sten.*).

Causas de variação	Quadrado Médio							
	GL	<i>M. alb.</i>	<i>M. albor.</i>	<i>M. cil.</i>	<i>M. ibag.</i>	<i>M. ling.</i>	<i>M. minut.</i>	<i>M. sten.</i>
Regressão Linear	1	11156,9**	51,084 <sup>ns</sup>	0,02756 <sup>ns</sup>	1,979 <sup>ns</sup>	45,958*	5,878 <sup>ns</sup>	1,592 <sup>ns</sup>
Regressão quadrática	1	10,93382 <sup>ns</sup>	0,42520 <sup>ns</sup>	16,603 <sup>ns</sup>	11,015 <sup>ns</sup>	7,864 <sup>ns</sup>	1,269 <sup>ns</sup>	0,601 <sup>ns</sup>
Regressão cúbica	1	28,08362 <sup>ns</sup>	1,171 <sup>ns</sup>	0,3695 <sup>ns</sup>	2,664 <sup>ns</sup>	12,35 <sup>ns</sup>	1,756 <sup>ns</sup>	1,333 <sup>ns</sup>
Desvio da Regressão	1	1,20099 <sup>ns</sup>	34,178 <sup>ns</sup>	1,234 <sup>ns</sup>	69,579 <sup>ns</sup>	9,3545 <sup>ns</sup>	99,130 <sup>ns</sup>	2,420 <sup>ns</sup>
Resíduo	20	22,14819	13,668	6,005	39,776	10,44	32,19	10,693
CV(%)		19,69	21,07	14,29	27,46	19,65	31,88	22,17

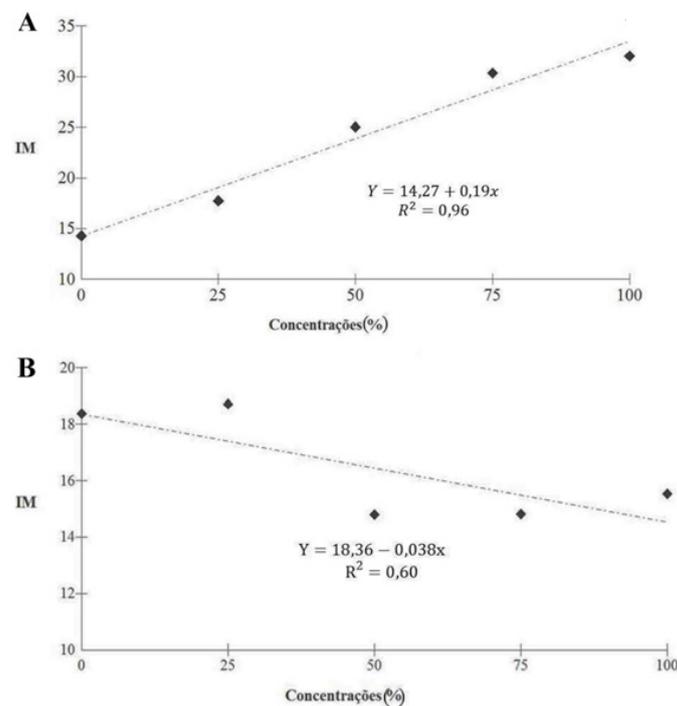
O extrato de *Miconia albicans* causou um aumento significativo em relação ao índice mitótico das células de alface a partir da concentração de 25% (Figura 6A), sendo observada a ocorrência de anomalias cromossômicas do tipo perda de cromossomo na metáfase e ponte anafásica. Nas radículas submetidas ao extrato a 100% de concentração foram encontradas células com atraso cromossômico. Resultado semelhante foi encontrado por Maculan et al. (2007) em relação ao extrato por infusão de *Eryngium eburneum* Decne. (Apiaceae) sobre plântulas de alface verificando um aumento significativo no índice de divisão celular a partir da menor concentração (5mg/ml). Ainda segundo os mesmos autores, índices de divisão mitótica com essas características podem indicar uma distinta ação fisiológica do extrato aplicado a semente teste em função de sua concentração.

Já o extrato de *Miconia lingustroides* causou um aumento no índice mitótico nas células da radícula de alface na concentração de 25% enquanto nas demais concentrações provocou uma redução em comparação ao controle (Figura 6B). Foi observada ainda a formação de anomalias cromossômicas, dos tipos pontes anafásicas

e telofásicas, células com aderência cromossômica e perdas cromossômicas.

No extrato das folhas de *Miconia linguistroides* foram encontrados taninos flavonóides e alcalóides. Para Henriques et al. (1999) os alcalóides podem atuar como inibidores de germinação devido ao seu poder citotóxico. Dessa forma, a atividade citotóxica do extrato por infusão de *M. linguistroides* pode estar relacionada a presença dessas substâncias, corroborando com Fachinetto et al. (2007) ao afirmarem que a presença de compostos em extratos aquosos por infusão são os principais responsáveis pelos efeitos de citotoxicidade e inibição do Índice Mitótico. Esse resultado se assemelha ao obtido por Borges et al. (2011) no qual o extrato aquoso das folhas frescas de mamona (*Ricinus communis*) inibiu ao longo das concentrações o índice mitótico de *L. sativa*.

**Figura 6 - Índice mitótico médio das células de alface submetidas ao extrato por infusão de A) *Miconia albicans* e B) *Miconia linguistroides*.**



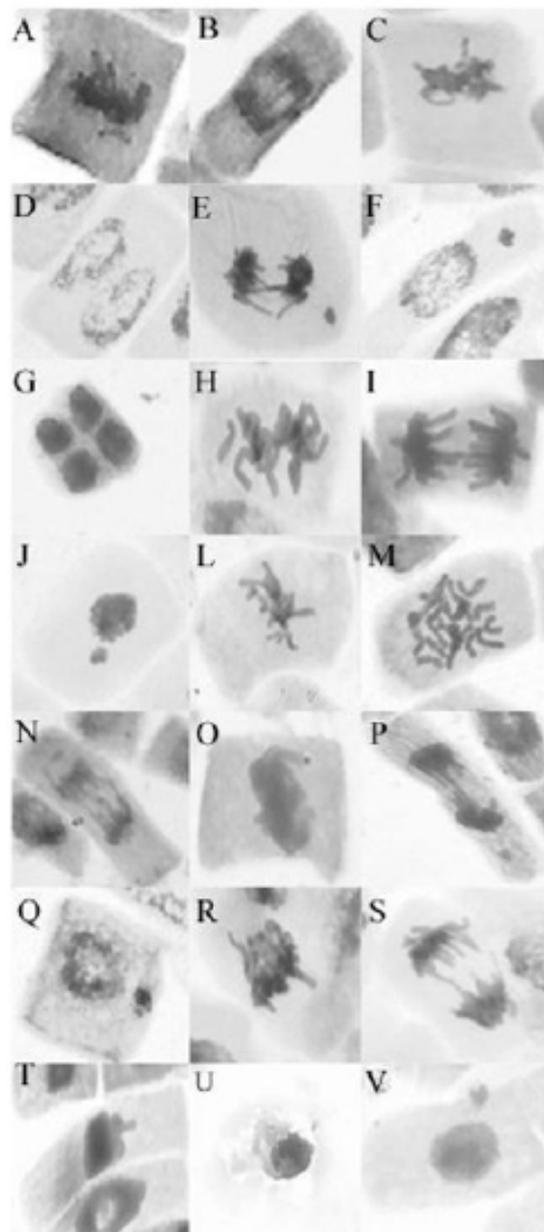
O extrato por infusão das demais espécies de *Miconia* não provocaram efeitos significativos no índice mitótico de alface, porém provocaram o surgimento de estruturas cromossômicas anômalas. O extrato de *M. alborufescens* a 25% promoveu a formação de células binucleadas, quebra de cromossomo na anáfase, perda de cromossomo na metáfase, encurtamento cromossômico e pontes anafásicas. Nas concentrações de 50%, 75% e 100% foram encontradas aderências cromossômicas e micronúcleos em células telofásicas e interfásicas. *M. ciliata*, a 25% promoveu a formação de metáfases com perdas cromossômicas, pontes anafásicas e micronúcleos e célula polinucleada. A 50% foram visualizadas quebras do fuso acromático. A 75% e 100% telófases com micronúcleos, aderência cromossômica na metáfase com perda de material genético, anáfases com quebras cromossômicas e pontes anafásicas.

Nas células das radículas submetidas ao extrato de *M. ibaguensis* a 25% de concentração foi observado à presença de micronúcleo em célula interfásica, célula em metáfase com perda e quebra cromossômica. Na concentração de 50% foram observadas metáfases com quebra do fuso acromático. A 75% foi notada a presença de células binucleadas. E a 100% de concentração a presença de célula em c-metáfase, pontes anafásicas e metáfase com cromossomos fora do plano equatorial.

O extrato de *M. minutiflora*, na concentração de 25% favoreceu a formação de várias células com

micronúcleos periféricos em interfase, além do não pareamento de cromossomos na metáfase com aderência e perda cromossômica e pontes anafásicas na concentração de 50% e metáfase fora da placa equatorial na concentração de 75%. *M. stenostachyaa* 25% de concentração provocou aderência cromossômica, célula com micronúcleo e pontes anafásicas com quebras cromossômicas. Na concentração de 50% encontrou-se célula em apoptose e micronúcleo. A concentração de 100% promoveu a formação de c-metáfases, metáfase com quebra do fuso acromático, aderência e perda cromossômica e pontes anafásicas. As principais anomalias cromossômicas encontradas no extrato por infusão das espécies de *Miconia* podem ser vistas na Figura 7.

**Figura 7 - Principais anomalias cromossômicas encontradas em células meristemáticas de alface quando submetidas a diversas concentrações do extrato por infusão de folhas de *Miconia* spp.** A. Metáfase com perda de cromossomos na concentração de 25%; B. Ponte anafásica extrato a 25%. C. Atraso de cromossomo na metáfase concentração de 100%. D. Célula binucleada na concentração de 25%. E. Célula telofásica apresentando um micronúcleo. F. Célula apresentando um micronúcleo. G. Célula polinucleada na concentração 25% H. Rompimento da metáfase na concentração de 50%. I. Formação de pontes cromossômicas na anáfase na concentração de 100%. J. Célula interfásica apresentando um micronúcleo na concentração de 25%. L. Célula metafásica com quebras cromossômicas. M. Célula em C-metáfase. N. Formação de pontes anafásicas (concentração de 25%). O. Célula com cromossomos aderidos em 50% de concentração. P. Ponte telofásica no extrato a 50%. Q. Micronúcleo periférico em interfase celular na concentração de 25%. R. Célula em metáfase com mal pareamento de cromossomos, aderência e perda cromossômicas. S. Pontes anafásicas concentração de 50%. T. Célula em metáfase com aderência cromossômica no extrato a 25%. U. Célula em apoptose concentração de 50%. V. micronúcleo.



## CONCLUSÕES

O efeito alelopático do extrato por infusão de todas as espécies de *Miconia* se manifestou sobre as radículas de alface;

Os compostos presentes no extrato de *Miconia linguistroides* podem ser os responsáveis pelos efeitos citotóxicos observados;

Os resultados obtidos nessa pesquisa sugerem que as espécies de *Miconia* devem ser estudadas quanto ao isolamento e purificação dos seus compostos químicos, possíveis bioherbicidas.

## REFERÊNCIAS

Aires SS. 2007. **Potencial alelopático de espécies nativas do Cerrado na germinação e desenvolvimento inicial de invasoras.** Brasília: UNB. Dissertação (Mestrado) Mestrado em Botânica, Universidade de Brasília. Brasília-DF, 61 p.

Alves MC. 2002. **Potencial alelopático de extratos voláteis sobre a germinação de sementes e crescimento de raiz de plântulas de alface, picão – preto e carrapicho.** 80f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza.

Azambuja N, Hoffmann CEF, Neves LAS and Goulart EPL. 2010. Potencial alelopático de *Plectranthus barbatus* Andrews na germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. e de *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 9(1): 66-73.

Bach FT and Silva CAT. 2010. Efeito alelopático de extrato aquoso de boldo e picão preto sobre a germinação e desenvolvimento de plântulas de alface. **Cultivando o Saber**, 3(2): 190-198.

Banzatto DA, and Kronka SN. 1989. **Experimentação Agrícola.** 1 ed. Jaboticabal: FUNEP/FCAV, 247 p.

Borella J, Tur CM and Pastorini LH. 2010. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicon esculentum*. **Revista Biotemas**, 23(1): 13- 22.

Borella J, Wandscheer ACD, Bonatti LC and Pastorini, LH. 2009. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, 7(3): 260-265.

Borges CS, Cuchiara CC, Silva SDA and Bobrowski VL. 2011. Efeitos citotóxicos e alelopáticos de extratos aquosos de *Ricinus communis* utilizando diferentes bioindicadores. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, 5(3): 15-20.

Cassiano DSA, Branco A, Silva, TRS and Santos AKA. 2010. Caracterização morfoanatómica de folhas e caules de *Microlicia hatschbachii* Wurdack, Melastomataceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20(4): 529-535.

Comiotto A. 2006. **Potencial alelopático de diferentes espécies de plantas sobre a qualidade fisiológica de sementes de arroz e aquênios de alface e crescimento de plântulas de arroz e alface.** Dissertação

(Mestrado em fisiologia vegetal)-Programa de Pós- Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 32 p.

Dias JFG, Círio GM, Miguel, MD and Miguel OG. 2005. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. exReiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15(3): 220-223.

Fachinnetto JM, Bagatini MD, Durigon J, Silva ACF and Tedesco SB. 2007. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline atureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(1): 49-54.

Felix RAZ, Ono EO, Silva CP, Rodrigues JD, Pieri C. 2007. Efeitos Alelopáticos da *Amburana cearensis* L. (Fr. All.) AC Smith na Germinação de Sementes de Alface (*Lactuca sativa* L.) e de Rabanete (*Raphanus sativus* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, 5(2): 138-140.

Fernandes LAV, Miranda DL Cand Sanquetta CR. 2007. Potencial alelopático de *Merostachys multiramea* Hackel sobre a germinação de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze. **Revista Academica de Curitiba**, 5(2): 139-146.

Ferreira AG and Aquila MEA. 2000. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 12(1): 175-204.

Gatti AB. 2008. **Atividade alopatóica de espécies do cerrado**. São Carlos: UFSCAR. Tese (Doutorado)-Programa de Pós - Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 136 p.

Goldenberg R. 2004. O gênero *Miconia* (Melastomataceae) no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, 4(18): 927-947.

Gorla CM and Perez SCJGA. 1997. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, 19(2): 260-265.

Guerra MJ and Souza M. 2002. **Como Observar os Cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 130p.

Henriques AT, Limberger RP, Kerber VA and Moreno PRH. 1999. Alcalóides: Generalidades e aspectos básicos. In SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis, UFSC, p. 45-61.

Iganci JRV, Bobrowski VL, Heiden G, Stein VC and Rocha BHG. 2006. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, 73(1): 79-82.

Li ZH, Wang Q, Ruan X, Pan CD and Jiang DA. 2010. Phenolics and plant allelopathy. **Molecules**, 15(12): 8933-8952.

Macias FA, Gallindo JCG and Molinillo JMG. 2000. Plant biocommunicators: Application of allelopathic studies.

In: **2000 years of natural products research - past, present and future**, Ed Teus J.C. Luijendijk, p. 137-161.

MaculanK, Kleinowski A, Cuchiara CC, Borges CS and Bobrowski VL. 2007. Efeito do extrato aquoso de *Eryngium burneum* Decne. (Apiaceae) sobre aquênios de alface. **Revista Brasileira de Biociências**, 5(2): 1080-1082.

Matos FJA. 2009. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC. 3 ed. 150p.

Pessotto GP and Pastorini LH. 2007. Análise da germinação de alface (*Lactuca sativa* L.) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sob a influência alelopática do funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Revista Brasileira de Biociências**, 5(2): 990-992.

Pires NM, Souza IRP, Prates HT, Faria TCL, Pereira-Filho IA and Magalhães PC. 2001. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**,13(1): 55-65.

Souza SAM, Cattelan LV, Vargas DP, Piana CFB, Bobrowski VL and Rocha BHG. 2005. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss.). **Publicação da UEPG Biologia Health Science**, 11(3): 7-14.

Souza-Filho APS and Alves SM. 2002. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 260p.

StorckL, Garcia DC, Lopes SJ and Estefanel, V. 2011. **Experimentação Vegetal**. 3 ed. Santa Maria: UFSM, 200p.