

organizadores:

Maria do Carmo Pimentel Batitucci

Jean Carlos Vencioneck Dutra

Paula Roberta Costalonga Pereira

Schirley Aparecida Costalonga



# Da Pesquisa ao Ensino

uma Investigação a partir das  
Plantas Medicinais

2022



**Pascal**  
Editora

*volume 1*

**MARIA DO CARMO PIMENTEL BATITUCCI  
JEAN CARLOS VENCIONECK DUTRA  
PAULA ROBERTA COSTALONGA PEREIRA  
SCHIRLEY APARECIDA COSTALONGA  
(Organizadores)**

**DA PESQUISA AO ENSINO:  
UMA INVESTIGAÇÃO A PARTIR DAS  
PLANTAS MEDICINAIS**

**VOLUME 1**

**EDITORA PASCAL  
2022**

**2022 - Copyright© da Editora Pascal**

**Editor Chefe:** Prof. Dr. Patrício Moreira de Araújo Filho

**Edição e Diagramação:** Eduardo Mendonça Pinheiro

**Edição de Arte:** Marcos Clyver dos Santos Oliveira

**Bibliotecária:** Rayssa Cristhália Viana da Silva – CRB-13/904

**Revisão:** Os autores

### **Conselho Editorial**

Dr<sup>a</sup>. Camila Pinheiro Nobre

Dr. William de Jesus Ericeira Mochel Filho

Dr<sup>a</sup>. Aurea Maria Barbosa de Sousa

Dr<sup>a</sup>. Eliane Rosa da Silva Dilkin

Dr<sup>a</sup>. Anna Christina Sanazario de Oliveira

Dr<sup>a</sup>. Michela Costa Batista

### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

#### **B333c**

Coletânea Da Pesquisa ao Ensino: uma investigação a partir das plantas medicinais / Maria do Carmo Pimentel Batitucci, Jean Carlos Vencioneck Dutra, Paula Roberta Costalonga Pereira e Schirley Aparecida Costalonga (Orgs). São Luís - Editora Pascal, 2022.

156 f. : il.: (Da pesquisa ao ensino; v. 1)

Formato: PDF

Modo de acesso: World Wide Web

ISBN: 978-65-80751-30-3

D.O.I.: 10.29327/566872

1. Pesquisa. 2. Ensino. 3. Plantas Medicinais. 4. Fitoterápicos. I. Batitucci, Maria do Carmo Pimentel. II. Dutra, Jean Carlos Vencioneck. III. Pereira, Paula Roberta Costalonga. IV. Costalonga, Schirley Aparecida. V. Título.

CDU: 633.8::37.046.14

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

**2022**

[www.editorapascal.com.br](http://www.editorapascal.com.br)

contato@editorapascal.com.br

# APRESENTAÇÃO

**A**s plantas possuem relevante protagonismo em diversos aspectos da vida humana, sendo englobadas em ritos religiosos/culturais, no tratamento de saúde e na alimentação; aprendemos, desde nosso surgimento no planeta, a utilizar os vegetais na cura de muitas patologias, sendo esta, atualmente, a única ou principal forma de acesso à tratamento de saúde das populações mais carentes.

No Brasil, a rica biodiversidade aliada ao vasto conhecimento tradicional associado ao uso de plantas medicinais, fornece ao país potencial para o desenvolvimento de tecnologias e pesquisas que levem a novos medicamentos e terapêuticas. Neste aspecto, o Sistema Único de Saúde, por meio do Decreto N° 5.813/2006, instituiu a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, buscando incentivar não somente o uso destes organismos no tratamento de saúde, mas também as pesquisas na área.

Em sintonia com esse cenário, surge a obra **“Da Pesquisa ao Ensino: uma Investigação a partir das Plantas Medicinais”**, onde o leitor será apresentado às mais recentes pesquisas sobre as atividades biológicas de plantas medicinais, fornecendo ao mesmo um aprimoramento do conhecimento sobre o tema, bem como o incentivo para replicar as experiências aqui expostas e contribuir com o desenvolvimento dos estudos com plantas medicinais.

Os 9 capítulos aqui expostos abordam três facetas dessas espécies e seus metabólitos secundários: As atividades biológicas sobre sistemas vivos (como alelopatia, efeitos sobre o material genético e como antioxidante), o conhecimento popular de seu potencial terapêutico e sua aplicação como ferramenta educacional no estudo da sustentabilidade.

Boa leitura!

**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**

*(Professora Titular e Coordenadora do LGVT/UFES)*

**Jean Carlos Vencioneck Dutra**

*Doutor em Biologia Vegetal/UFES*

**Paula Roberta Costalonga Pereira**

*Mestra em Biologia Vegetal/UFES*

**Schirley Aparecida Costalonga**

*Doutora em Biologia Vegetal/UFES*

## ORGANIZADORES



### **Maria do Carmo Pimentel Batitucci**

Professora Titular na Universidade Federal do Espírito Santo. Atua na área de Genética (Mutagênese) e Produtos Naturais, com execução e orientação de pesquisas científicas e educacionais sobre: Atividades Biológicas (antioxidantes, citotóxicas, mutagênicas e antimutagênicas) de Plantas Medicinais, Mutagênese Ocupacional e Biologia Molecular de Plantas. Tem Doutorado em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (2003), Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade Federal de Viçosa (1989), Bacharelado (Genética) (1986) e Licenciatura (1985) em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Minas Gerais. Orienta alunos

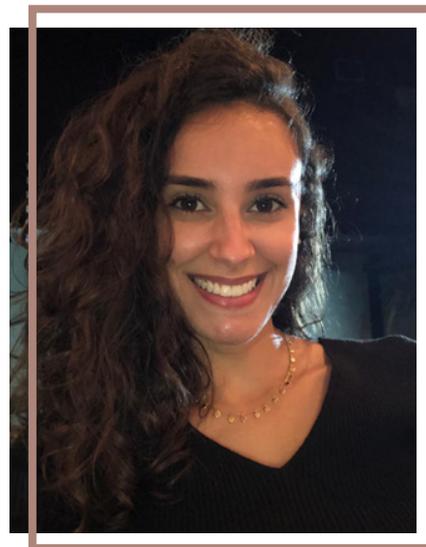
de Graduação (Bacharelado e Licenciatura) e atua como Professora Permanente do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal (UFES), com orientações em nível de Mestrado e Doutorado.

<http://lattes.cnpq.br/0010148251489155>

### **Paula Roberta Costalonga Pereira**

Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo; pesquisadora integrante do Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica; Mestre em Biologia Vegetal (2021), Bacharela (2017) e Licenciada (2018) em Ciências Biológicas pela mesma universidade. Atua na área de investigação de atividades biológicas de extratos vegetais com potencial uso terapêutico e de interesse agroindustrial.

<http://lattes.cnpq.br/6840307070705456>



## ORGANIZADORES



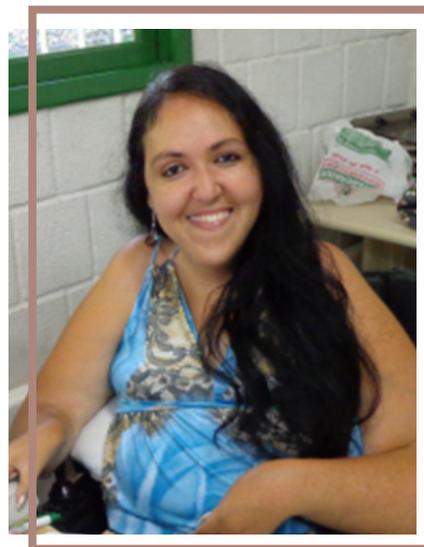
**Jean Carlos Vencioneck Dutra**

Doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (2019), Mestrado em Biotecnologia pela Universidade Federal do Espírito Santo (2015) e Graduação em Ciências Biológicas (Licenciatura e Bacharelado) pela Universidade Federal do Espírito Santo (2013). Atualmente é Professor B - Biologia/Ciências - Secretaria de Estado da Educação do Espírito Santo. Colabora como pesquisador junto ao Laboratório de Genética de Plantas e Toxicológica, com co-orientações e publicações em periódicos nacionais e internacionais sobre os temas de pesquisa: plantas medicinais, metabólitos secundários, mutagenese e toxicidade.

<http://lattes.cnpq.br/4101176432227035>

**Schirley Aparecida Costalonga**

Doutora em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), é servidora efetiva do Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Espírito Santo (IEMA) e professora voluntária do curso de Ciências biológicas e do Programa de pós-graduação em Biologia Vegetal da UFES, onde atualmente é Pós-doutoranda. Atua nas áreas de mutagenicidade, alelopatia, ecofisiologia e fitoquímica de espécies vegetais, restauração de ecossistemas e manejo biológico de espécies exóticas invasoras. Atualmente atua junto ao MMA na "Estratégia Nacional para Espécies Exóticas Invasoras" e é revisora de periódicos indexados da área. Membro da Sociedade Botânica do Brasil (SBB) e da Sociedade Brasileira de Restauração de Ecossistema (SOBRE).



<http://lattes.cnpq.br/4436872480703585>

# SUMÁRIO

**ORGANIZADORES** ..... 4

**CAPÍTULO 1** ..... 9

**AVALIAÇÃO DOS TEORES E DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE *Artocarpus heterophyllus* LAM**

Ana Júlia Câmara Jeveaux Machado  
Schirley Aparecida Costalonga  
Iago Meneses Canuto  
Suiany Vitorino Gervásio  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

**do.i.:** [10.29327/566872.1-1](https://doi.org/10.29327/566872.1-1)

**CAPÍTULO 2** ..... 23

**ANÁLISE COMPARATIVA DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp EM DOIS ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO**

Larissa Freitas de Almeida  
Suiany Vitorino Gervásio  
Maria Gabriela Pissinati Trindade  
Lucas Evangelista dos Santos  
Anna Carolina Araújo Panteleão  
Judá Ben-hur de Oliveira  
Isadora Maria Coelho Vieira  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

**d.o.i.:** [10.29327/566872.1-2](https://doi.org/10.29327/566872.1-2)

**CAPÍTULO 3** ..... 34

**MUTAGENICIDADE DE *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray DE DUAS LOCALIDADES DO ESPÍRITO SANTO**

Felipe Miranda Crist  
Iransy Rodrigues Pretti  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci  
Jean Carlos Vencioneck Dutra  
Vanessa Silva dos Santos  
Ana Carolini Cavallieri Zatta

**d.o.i.:** [10.29327/566872.1-3](https://doi.org/10.29327/566872.1-3)

**CAPÍTULO 4** ..... 47

**DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO E DAS AÇÕES ANTIMUTAGÊNICA E ANTIOXIDANTE DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE *Solanum* sp EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE**

Judá Ben-Hur de Oliveira  
Jean Carlos Vencioneck Dutra  
Miriéli Bernardes Xavier  
Suiany Vitorino Gervásio  
Mainã Mantovanelli da Mota  
Lana Bonfim da Silva  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

**d.o.i.:** [10.29327/566872.1-4](https://doi.org/10.29327/566872.1-4)

**CAPÍTULO 5..... 64**

**ALELOPATIA E ALELOQUÍMICOS NO BRASIL: UMA REVISÃO**

Alex Santos Coswosk  
Jean Carlos Vencioneck Dutra  
Vanessa Silva dos Santos  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

**d.o.i.:** [10.29327/566872.1-5](https://doi.org/10.29327/566872.1-5)

**CAPÍTULO 6..... 79**

**INIBIÇÃO FLUXO EXTRACELULAR DE PRÓTONS (H+) DE RAÍZES PRIMÁRIAS DE *Allium cepa* E SEUS REFLEXOS NAS ATIVIDADES ALELOPÁTICAS E MUTAGÊNICAS**

Monique Ellen Farias Barcelos  
Amanda Azevedo Bertolazi  
Sávio Bastos de Souza  
Alessandro Coutinho Ramos  
Hildegardo Seibert França  
Sávio Cabral Lopes de Lima  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

**d.o.i.:** [10.29327/566872.1-6](https://doi.org/10.29327/566872.1-6)

**CAPÍTULO 7..... 95**

**IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC) A PARTIR DO CO-NHECIMENTO DE SEUS USOS POR UMA POPULAÇÃO AMOSTRAL DA GRANDE VITÓRIA – ES**

Beatriz Ribeiro Cordeiro Lyrio  
Maria Gabriela Pissinati Trindade  
Wagner Vitor de Mattos Oliveira  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

**d.o.i.:** [10.29327/566872.1-7](https://doi.org/10.29327/566872.1-7)

**CAPÍTULO 8..... 113**

**PESQUISA-INTERVENÇÃO SOBRE PLANTAS MEDICINAIS E HORTA VERTICAL: PERCEPÇÃO DOS ALUNOS DO ENSINO MÉDIO EM UMA ESCOLA PÚBLICA DO MUNICÍPIO DE VITÓRIA/ES**

Ana Júlia Câmara Jeveaux  
Fernando Gomes Hoste  
Lucas Evangelista dos Santos  
Layza Rangel Pereira  
Verbênia Andrade de Carvalho Santos  
Felipe Miranda Crist  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

**d.o.i.:** [10.29327/566872.1-8](https://doi.org/10.29327/566872.1-8)

**CAPÍTULO 9..... 130**

**PIGMENTOS VEGETAIS: UMA PROPOSTA DE ENSINO INTERDISCIPLINAR E DE SUSTENTABILIDADE**

Paula Roberta Costalonga Pereira  
Marlonni Maurastoni Araujo  
Vitor Siqueira Macieira  
Anna Carolina Araújo Panteleão  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

**d.o.i.:** [10.29327/566872.1-9](https://doi.org/10.29327/566872.1-9)

**AUTORES..... 147**

# CAPÍTULO 1

## **AVALIAÇÃO DOS TEORES E DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE *Artocarpus heterophyllus* LAM**

*EVALUATION OF THE CONTENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF  
THE ETHANOLIC EXTRACT OF LEAVES OF *Artocarpus heterophyllus*  
LAM*

**Ana Júlia Câmara Jevaux Machado**

**Schirley Aparecida Costalonga**

**Iago Meneses Canuto**

**Suiany Vitorino Gervásio**

**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**



## Resumo

As plantas medicinais estão sendo cada vez mais estudadas com o objetivo de conhecer seus metabólitos secundários e as funções que desempenham ao organismo, como atividades antioxidantes, antiproliferativas, e citotóxicas. *Artocarpus heterophyllus*, popularmente conhecida como jaqueira, é uma espécie exótica que se adaptou bem ao solo brasileiro. Vários estudos foram realizados com a casca, semente e polpa da jaqueira, em busca de analisar os metabólitos secundários e a atividade antioxidante dessa espécie. Porém, poucos estudos foram realizados com as folhas. Sabe-se que a jaqueira possui diversas atividades biológicas na semente e na polpa do fruto, como por exemplo: antioxidante; antiinflamatória; antimalárica; citotóxica; anticancerígena; antiandrogênica; anti-HIV, entre outras. As folhas da jaqueira também possuem atividade anti-inflamatória e antimicrobiana, podendo ser uma fonte de metabólitos secundários envolvidos com a atividade antioxidante. Para analisar a atividade antioxidante, foram utilizados os métodos DPPH, ABTS e quelante de  $Fe^{2+}$ . A análise de fenóis totais, flavonoides e taninos foram realizadas por métodos colorimétricos. A atividade antiproliferativa e citotóxica do extrato etanólico das folhas de *A. heterophyllus* foi avaliada através do método MTT. *A. heterophyllus* obteve uma ótima atividade antioxidante no método do DPPH. Porém, nos outros métodos não obteve uma boa atividade antioxidante. A quantidade de fenóis totais foi elevada, podendo estar relacionada com a atividade antioxidante no DPPH. Porém, o conteúdo de flavonoides foi mediana e a quantidade de taninos foi baixa. O método MTT demonstrou que *A. heterophyllus* combate as células de sarcoma 180 eficientemente, porém também é citotóxica, ou seja, não é seletiva.

**Palavras-chave:** Atividade antioxidante, citotoxicidade, atividade antiproliferativa.

## Abstract

Medicinal plants are being increasingly studied in order to know their secondary metabolites and the functions they perform in the body, such as antioxidant, antiproliferative, and cytotoxic activities. *Artocarpus heterophyllus*, popularly known as jackfruit, is an exotic species that has adapted well to Brazilian soil. Several studies were carried out with the peel, seed and pulp of the jackfruit, in order to analyze its secondary metabolites and antioxidant activity. However, few studies have been carried out with the leaves. It is known that jackfruit has several biological activities in the seed and pulp of the fruit, such as: antioxidant; anti-inflammatory; antimalarial; cytotoxic; anticancer; antiandrogenic; anti-HIV, among others. Jackfruit leaves also have anti-inflammatory and antimicrobial activity, and may be a source of secondary metabolites involved in antioxidant activity. To analyze the antioxidant activity, the DPPH, ABTS and  $Fe^{2+}$  chelating methods were used. Analysis of total phenols, flavonoids and tannins were performed by colorimetric methods. Antiproliferative and cytotoxic activity of the ethanolic extract of *A. heterophyllus* leaves was evaluated using the MTT method. *A. heterophyllus* obtained an excellent antioxidant activity in the DPPH method. However, in the other methods it did not obtain a good antioxidant activity. The amount of total phenols was high, which may be related to the antioxidant activity in DPPH. However, the flavonoid content was medium and the amount of tannins was low. The MTT method demonstrated that *A. heterophyllus* fights sarcoma 180 cells efficiently, but it is also cytotoxic, that is, it is not selective.

**Keywords:** Antioxidant activity, cytotoxicity, antiproliferative activity

## 1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, a utilização de recursos naturais tem sido difundida pelos seres humanos. Há uma relação evidente entre seres humanos e plantas, uma vez que a utilização de recursos vegetais se dá de importantes maneiras, como por exemplo, na alimentação e no uso medicinal (BALICK; COX, 1997).

No uso medicinal, os recursos vegetais utilizados são denominados plantas medicinais, que segundo a Organização Mundial da Saúde, como descrito por Veiga Junior et al. (2005), são definidas como «todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos». Estas plantas são amplamente utilizadas em comunidades tradicionais, para o tratamento de diversas doenças ou sintomas e também para a prevenção de diversas doenças, devido às atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, hipoglicemiantes, efeito analgésico, entre outros, atribuídos aos diferentes órgãos da planta em questão.

Algumas doenças estão relacionadas ao acúmulo dos radicais livres, que quando produzidos em excesso podem ocasionar danos teciduais e celulares. Existem evidências de que as espécies reativas de oxigênio (EROs) podem estar envolvidas em mais de 50 doenças (FERREIRA; MATSUBARA, 1997), incluindo a doença de Parkinson, a doença de Alzheimer, o acidente vascular cerebral, a esclerose múltipla e a catarata (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Os antioxidantes são substâncias que têm a capacidade de retardar ou inibir os processos oxidativos, e essa defesa pode acontecer por métodos enzimáticos ou não-enzimáticos. O sistema de defesa não-enzimático se refere aos compostos antioxidantes de origem dietética, entre os quais se destacam: vitaminas, minerais e compostos fenólicos. O ácido ascórbico, o  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno, precursores das vitaminas E e A, respectivamente, são compostos vitamínicos potencialmente antioxidantes. Outros carotenóides, como licopeno, também o são. Alguns minerais também são potencialmente antioxidantes, como o zinco, cobre, selênio e magnésio (BARBOSA et al., 2014).

Os antioxidantes podem ser sintéticos ou naturais. Dentre os naturais, destacam-se o ácido ascórbico, os terpenos, os compostos fenólicos, tais como os flavonoides, taninos e outros. Há uma preferência pelos antioxidantes naturais, pois há um potencial carcinogênico em antioxidantes sintéticos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Portanto, pesquisas têm sido direcionadas no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante. As plantas medicinais, por exemplo, apresentam metabólitos secundários que podem atuar como antioxidantes, prevenindo ou combatendo doenças relacionadas às EROs.

Além disso, há um grande interesse nas linhas de pesquisas de produtos naturais, com o objetivo de buscar novos agentes anticancerígenos (RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003), e antiproliferativos. Nos Estados Unidos, entre 1983 e 1994, 60% dos medicamentos antitumorais tinham origem natural, sendo a maioria metabólitos secundários

de plantas (GRAHAM et al., 2000).

Diversos estudos têm abordado as plantas do gênero *Artocarpus*, com o objetivo de isolar e identificar substâncias distintas, sendo que diversas atividades biológicas já foram descritas para a espécie *Artocarpus heterophyllus*. Nas sementes da jaqueira, as principais atividades observadas foram: atividade antioxidante; antiinflamatória; antimalárica; citotóxica; anticancerígena; antiandrogênica; anti-HIV; antileucêmica; despigmentante; antifúngica; antibacteriana; antiulcerogênica; anticoagulante; como marcadora de atividades tumorais em tecidos; imunossupressora; inibidora de catepsina, e anti-herpética. (PEREIRA; KAPLAN, 2013). Além disso, já foram relatadas atividades anti-inflamatórias e antibacterianas nas folhas de *A. heterophyllus*.

*Artocarpus heterophyllus* Lam é pertencente à família Moraceae, que é constituída por 37 gêneros e cerca de 1100 espécies (DATWYLER; WEIBLEN, 2004) e encontra-se dentro da ordem Rosales. *Artocarpus* é um gênero de hábito arbóreo dessa família, contendo cerca de 50 espécies. As espécies do gênero *Artocarpus* são ricas em compostos fenólicos, derivados do metabolismo secundário. Devido aos compostos fenólicos presentes nessas espécies, o gênero *Artocarpus*, conhecida no Brasil como jaqueira, é originária da Índia e Malásia e é bastante utilizado na medicina popular de países asiáticos (PEREIRA; KAPLAN, 2013).

A jaqueira pertence à família Moraceae e é uma árvore monóica, com 12-20 m de altura, cujo tronco robusto é revestido por casca espessa. Suas folhas são simples e alternas. As flores masculinas e femininas possuem dimorfismo sexual, pois as flores masculinas são agrupadas em espigas claviformes e as femininas são agrupadas em espigas compactas (COSTALONGA, 2017). A espécie *A. heterophyllus* é exótica e tem a facilidade em se adaptar rapidamente em regiões onde há bastante precipitação (BALIGA et al., 2011; COSTALONGA, 2017). Além disso, apresentam ação alelopática que impede a germinação e o desenvolvimento de espécies nativas (THE NATURE CONSERVANCY, 2009).

O gênero *Artocarpus* é de grande interesse científico devido a importância medicinal de seus metabólitos secundários e suas atividades biológicas. Além da presença de compostos fenólicos, terpenóides e fitoesteróides, há também lectinas (PEREIRA; KAPLAN, 2013). Chatterjee et al. (1979) relataram em sementes de jaca uma lectina, denominada jacalina, que originou uma família de lectina classificada por Van Damme (1998).

A jacalina é uma lectina  $\alpha$ -D-galactose ligante (KUMAR et al., 1982), esta é extraída das sementes da jaca e possui diversas atividades biológicas (JAGTAP; BAPAT, 2010), com um potencial na pesquisa imunobiológica incluindo o isolamento de glicoproteínas do plasma humano que ainda podem ter aplicações no desenvolvimento ferramentas de diagnóstico e terapias para o câncer (EL-BOUBBOU et al., 2010; KABIR, 1998).

Algumas atividades farmacológicas são descritas para as folhas de *A. heterophyllus*, como: antiinflamatória, cicatrizante, antidiabética, antibacteriana e antifúngica. Para as outras partes da planta ainda podemos destacar as atividades: antiviral, anticâncer, antimalárica, antioxidantes e antidiarreica (ARORA et al., 2016).

Há um potencial antidiabético dos extratos obtidos a partir das folhas da jaqueira que tem sido objeto de muitos estudos, devido à alta concentração de proantocianidinas

e flavonoides (LOIZZO et al., 2010). A utilização da espécie *Artocarpus heterophyllus* como fitoterápico tem grande perspectiva devido aos estudos anteriores, que mencionam atividades biológicas de importância para a saúde, e também devido ao sucesso dessa espécie quanto à adaptação em solo brasileiro. Porém, são necessários mais estudos que confirmem a atuação da espécie como um potencial antioxidante e citotóxico, de acordo com o órgão vegetal estudado.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Produção do extrato

O extrato utilizado neste trabalho foi etanólico de folhas de *Artocarpus heterophyllus*, cedido pelo Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica, localizado na Universidade Federal do Espírito Santo, Goiabeiras, Vitória - ES. Todas as etapas da metodologia foram realizadas no mesmo.

### 2.2 Constituintes fitoquímicos

Os testes de constituintes fitoquímicos foram realizados em triplicata utilizando técnicas colorimétricas que tiveram suas absorvâncias avaliadas através de um leitor de microplacas Epoch BioTek®. Cada padrão passou por uma diluição seriada que se iniciou na concentração de 1000 µg/mL até 7,5 µg/mL. Através dos valores obtidos da leitura das absorvâncias dos padrões, foi possível inserir um gráfico de dispersão com a equação da reta geral  $y = ax + b$ . A partir da equação da reta, foi possível encontrar a quantidade de constituintes, através da substituição de valores:  $x = ((\text{Absorbância da amostra} - b) / a)$

Ao final da análise das triplicatas, foi calculada a média, o desvio padrão e o erro padrão. A quantidade de constituintes foi expressa em equivalente de miligrama do padrão por grama de massa seca de extrato.

#### 2.2.1 Teor total de fenóis

Neste ensaio foi necessário preparar uma solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% e de Folin-Ciocalteu 1:10. Para essas soluções, o solvente utilizado foi água destilada. O padrão utilizado foi o ácido gálico, e a leitura foi realizada a 750 nm no leitor de microplacas.

## 2.2.2 Flavonoides

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo Zhishen et al. (1999), com adaptações. Os eppendorfs referentes ao extrato e às concentrações diferentes do padrão rutina foram mantidas no escuro por 10 minutos. A absorvância de 430 nm foi detectada por leitor de microplacas.

## 2.3 Atividade antioxidante

Três metodologias diversas foram utilizadas neste experimento, sendo: DPPH, ABTS e Quelante de  $\text{Fe}^{2+}$ . Para a realização dos testes, tanto as amostras quanto os padrões foram diluídos serialmente a partir da concentração de 1000  $\mu\text{g/mL}$  até 15,62  $\mu\text{g/mL}$ . Os resultados dos testes antioxidantes foram obtidos através das leituras de absorvância realizadas em um leitor de microplacas Epoch BioTek®, e assim foi possível calcular a porcentagem de inibição de cada concentração do extrato e do padrão a partir das absorvâncias (Abs) obtidas, através do seguinte cálculo: **% inibição = (Abs controle - Abs amostra)/(Abs controle) x 100;**

A partir desse cálculo foi possível inserir um gráfico para cada porcentagem de inibição e exibir uma equação da reta  **$y = ax + b$** . Através dessa equação obtida, foi possível calcular o  $\text{EC}_{50}$  através da substituição dos valores de **a** e **b** que foram encontrados na reta na seguinte fórmula:  **$\text{EC}_{50} = ((50 - b) / a)$** . Os resultados foram obtidos através do cálculo do  $\text{EC}_{50}$ , demonstrando qual a quantidade de amostra é necessária para neutralizar 50% do radical, ou para reduzir 50% do íon  $\text{Fe}^{2+}$ , no caso do teste quelante de ferro.

### 2.3.1 ABTS

Esta análise é utilizada para avaliar a atividade antioxidante através da captura do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), assim, pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI et al., 2005). A metodologia usada foi a de Rufino et al. (2007), o padrão utilizado foi Trolox, e a leitura de absorvância foi em 734 nm utilizando um leitor de microplacas.

### 2.3.2 DPPH

O método baseia-se na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante, o DPPH que é estável e possui cor púrpura é reduzido, transformando-se em difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela (TOMEI; SALVADOR, 2007). A metodologia utilizada foi a descrita por Rufino et al. (2007) e Duarte e Almeida et al. (2006). Os padrões utilizados foram o ácido gálico e o trolox e a leitura de absorvância foi realizada à 517 nm em leitor de microplacas.

### 2.3.3 Quelante de Fe<sup>2+</sup>

O ensaio antioxidante quelante de metais é um método simples para avaliar o potencial de uma amostra de quelar os metais (GERVASIO, 2019). Quanto menor a absorbância, ou menor intensidade da coloração, maior será o potencial antioxidante e, portanto, maior a capacidade de quelar os íons ferro. A metodologia utilizada foi descrita por Hinneburg et al. (2006) e Silva et al. (2014). O padrão utilizado foi EDTA e a leitura foi realizada à 562 em leitor de microplacas.

## 2.4 Viabilidade celular e atividade antiproliferativa

### 2.4.1 MTT

Na avaliação da citotoxicidade, foram utilizados linfócitos humanos, já na atividade antiproliferativa, foram utilizadas células de Sarcoma 180 e o método utilizado foi o descrito por Vencioneck et al. (2018). Os protocolos de tratamento foram dois. Sendo, pré-tratamento: onde as células recebiam 100 µL de extrato de *A. heterophyllus* e após 24 h eram acrescentados 10,5 µL de cisplatina e corridas 24 h os resultados eram analisados, o outro tratamento consistia na exposição das células ao extrato de *A. heterophyllus* por 48 h. Após o final dos tratamentos, a leitura foi realizada em um leitor de microplacas à 595 nm .

Os resultados de viabilidade celular foram calculadas da seguinte forma:

$$\% \text{ Viabilidade celular} = ((\text{Abs da amostra} \times 100) / \text{Abs controle})$$

Abs é referente às absorbâncias obtidas no espectrofotômetro e microplacas. A absorbância do controle utilizada nos cálculos foi a média da triplicata do controle. Para avaliar a seletividade do extrato para as células de sarcoma 180 foi utilizado o Índice de Seletividade (IS) descrito por Badisa et al., (2006): **IS = IC<sub>50</sub> da célula não neoplásica / IC<sub>50</sub> da célula neoplásica**. Se o IS for abaixo de 2,0 não há seletividade, já acima de 2,0 o extrato estudado é considerado seletiva. Quanto maior o valor de IS, maior é a seletividade da amostra.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *A. heterophyllus* foram analisadas através de  $EC_{50}$ , e estão registradas na tabela 1.

Tabela 1: Atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *Artocarpus heterophyllus*, representada em  $EC_{50}$  pelos métodos DPPH e ABTS.

Amostra	DPPH $EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	ABTS $EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Padrão - Ácido gálico	13,96	-
Padrão - Trolox	1,56	36,68
<i>A. heterophyllus</i>	3,21	421,08

De acordo com Raaman e Tenzing (2014), no teste DPPH, o  $IC_{50}$  do extrato metanólico das folhas de *A. heterophyllus* foi 13,57  $\mu\text{g/mL}$ , indicando uma boa atividade antioxidante.

No trabalho de Sreeletha et al. (2018), o extrato metanólico do fruto de *A. heterophyllus* teve uma atividade com valor de  $IC_{50}$  de 636,55  $\mu\text{g/ml}$  e o extrato em etil-acetato obteve o valor de  $IC_{50}$  713.36  $\mu\text{g/mL}$ . O extrato em solvente hexano mostrou baixíssima atividade antioxidante. Neste caso, uma hipótese é que a solubilidade dos metabólitos secundários envolvidos na atividade antioxidante tenha uma influência nos valores obtidos. Uma vez que, quanto mais apolar o solvente, menor é a atividade antioxidante, neste estudo.

Sharma et al. (2015), analisaram a atividade antioxidante de *Artocarpus heterophyllus* através do método ABTS, porém os resultados foram obtidos em porcentagem de inibição e análise estatística, sendo difícil compará-lo com o resultado deste experimento. Além disso, os extratos utilizados foram do fruto e da casca, em solventes diferentes, sendo metanol, acetona e hexano com etanol e água. Mesmo assim, o trabalho de Sharma et al. (2015) sugere que a parte comestível e a casca possuem alta atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres (SHARMA et al., 2015).

No experimento realizado com o extrato etanólico de *A. heterophyllus*, devido ao solvente em questão e comparando com o trabalho de Raaman e Tenzing (2014), cujo extrato era metanólico, era estimado que o extrato em solvente mais polar obtivesse maior atividade antioxidante, devido as estruturas químicas dos compostos fenólicos, que possuem grupos hidroxilas e carbonila, que possuem uma grande afinidade e atração por compostos polares. O metanol é considerado mais polar do que o etanol, devido ao menor número de carbonos em sua cadeia, portanto esperava-se que o extrato etanólico desse estudo tivesse uma menor atividade antioxidante. Porém, sabe-se que vários fatores influenciam em uma análise, como o local de coleta das folhas para o preparo do extrato, a temperatura, a radiação UV, o tempo da coleta, entre outros. Pois todos esses fatores interferem na produção dos metabólitos secundários.

Na metodologia de quelante de  $\text{Fe}^{2+}$  não obteve resultado antioxidante. Isso é diferente dos resultados encontrados na literatura, porém ela se refere a outras partes da planta e a aplicação de diferentes metodologias para quantificar a atividade antioxidante pela quelação do  $\text{Fe}^{2+}$ . De acordo com Ajiboye et al. (2016), por exemplo, o extrato da casca da árvore de *A. heterophyllus* possui uma boa atividade antioxidante na metodologia de quelação de íons  $\text{Fe}^{2+}$ , sendo, inclusive, melhor do que o padrão utilizado por ele, que foi a rutina. Essa metodologia é diferente da utilizada no experimento descrito neste trabalho, sendo inviável comparar os resultados de metodologias distintas, mesmo que o objetivo destas sejam o mesmo.

### 3.2. Análise fitoquímica

Tabela 2: Concentração de compostos fenólicos totais, flavonoides expressos em equivalente de rutina<sup>a</sup>, flavonoides expressos em equivalente de quercetina<sup>b</sup> e taninos; Os valores estão expressos em média  $\pm$  EP (n=3), no qual EP significa Erro Padrão;

	<b>Fenóis totais</b> <b>(mg/g EAG)</b> <b><math>\pm</math> EP</b>	<b>Flavonoides</b> <b>(mg/g)</b> <b><math>\pm</math> EP</b>	<b>Taninos</b> <b>(mg/g EAT)</b> <b><math>\pm</math> EP</b>
<b><i>A. heterophyllus</i></b>	782,62 $\pm$ 15,86	111,27 $\pm$ 4,59 <sup>a</sup>	25,80 $\pm$ 1,18
		20,10 $\pm$ 0,95 <sup>b</sup>	

O teor total de flavonoides obtido no extrato etanólico de *A. heterophyllus* foi 111,27 mg/g ( $\pm$  4,59) de equivalente de rutina por grama de extrato seco e 20,10 mg/g ( $\pm$  0,95) de equivalente de quercetina por grama de extrato seco. O resultado equivalente a rutina foi considerado um bom resultado ao comparar com estudos anteriores envolvendo a análise quantitativa de flavonoides na jaqueira. Porém, ao analisar o resultado obtido em equivalência de quercetina, é possível visualizar que a quantidade de flavonoides está abaixo de outros trabalhos.

Dados presentes no trabalho de Raaman e Tenzing (2014), utilizando extrato metanólico de folhas de *A. heterophyllus* mostram que o teor de flavonoides, estimado pelo mesmo método do presente trabalho ( $\text{AlCl}_3$ ), foi de 86,75 miligramas de quercetina por grama de extrato seco. Essa diferença de resultados pode ser devido à diferença de solvente na preparação do extrato, visto que o trabalho de Raaman e Tenzing (2014) utilizou extrato metanólico e neste trabalho o extrato foi etanólico.

Além disso, outros fatores influenciam os metabólitos secundários, como por exemplo: temperatura, nutrientes, altitude e radiação ultravioleta (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Além disso, a maioria dos trabalhos sobre *A. heterophyllus* utilizam extratos de outras partes da árvore, como por exemplo: o fruto, a casca e as sementes.

A quantidade de fenóis totais obtidas no extrato foi 782,62 ( $\pm$  15,86), sendo o metabólito secundário mais presente no extrato. O trabalho de Raaman e Tenzing (2014) também relata o teor total de compostos fenólicos no extrato metanólico de folhas de *A. heterophyllus*, estimado pelo mesmo método do presente trabalho, cujo resultado foi de 524,86 mg/g EAG. Sharma et al. (2015) também trabalhou com o extrato metanólico de *A. heterophyllus*, porém utilizou a casca, a semente e a polpa para as análises, comparando com extrato em acetona e "mix" solvente (80% etanol + 10% hexano + 10% água), e os resultados obtidos no pó da casca foi superior ao relatado anteriormente nos resultados da polpa (0,21  $\pm$  0,012 mg/g EAG) e semente (27,7 mg/g EAG) (UMESH et al.,

2010; SOONG; BARLOW 2004). Segundo Soong e Barlow (2004) isto poderia ser devido a produção de mais compostos fenólicos na parte externa durante a frutificação, a fim de proteger as sementes do ataque microbiano.

Além disso, os resultados diferiram de acordo com o solvente utilizado na extração do material, sendo os mais polares os que tiveram melhor resultado de compostos fenólicos. O "mix" solvente foi o que obteve menor resultado de compostos fenólicos, apesar de ter 80% de etanol, os 10% de hexano provavelmente interferiu na extração desses compostos fenólicos. Este fato pode ser atribuído ao efeito do solvente, dada a sua apolaridade. Uma vez que os compostos fenólicos possuem grupos hidroxila e carbonila, existe uma maior afinidade destas estruturas com solventes polares, como o etanol e metanol.

O teor total de taninos obtido no extrato etanólico de *A. heterophyllus* foi 25,80 mg/g ( $\pm 1,18$ ) de equivalente de ácido tânico por grama de extrato seco. No trabalho de Gupta et al. (2014) a quantidade de taninos também foi baixa, sendo o resultado obtido 14,5 mg/g EAT.

### 3.3 Viabilidade celular e atividade antiproliferativa

Na tabela 3 é possível visualizar o percentual de células viáveis de linfócitos humanos em exposição ao extrato de *A. heterophyllus* em diferentes concentrações. Percebe-se que o extrato estudado tem uma elevada citotoxicidade, uma vez que a menor concentração (5  $\mu\text{g/ml}$ ) ainda teve uma viabilidade celular relativamente baixa, de 44,61%. Isso demonstra que o extrato foi responsável pela morte celular de mais de 50% dos linfócitos. O pré-tratamento obteve um melhor resultado, uma vez que mesmo após a adição de cisplatina, que é altamente citotóxica, houve valores mais altos de viabilidade celular.

Tabela 3: Viabilidade celular de linfócitos humanos sob tratamento com o extrato de *A. heterophyllus* em 48 horas de exposição e pré-tratamento por 24 horas.

Tratamentos	Linfócitos	
	Citotóxico	Anticitotóxico
<i>A. heterophyllus</i>	<b>48h</b>	<b>Pré-tratamento</b>
<b>5 <math>\mu\text{g/ml}</math></b>	44,61% $\pm$ 0,73	90,08% $\pm$ 3,79
<b>25 <math>\mu\text{g/ml}</math></b>	35,69% $\pm$ 1,21	88,49% $\pm$ 2,10
<b>50 <math>\mu\text{g/ml}</math></b>	37,37% $\pm$ 0,29	93,25% $\pm$ 3,91
<b>100 <math>\mu\text{g/ml}</math></b>	41,43% $\pm$ 0,76	109,35% $\pm$ 6,19

A tabela 4 demonstra os resultados obtidos na linhagem de Sarcoma 180. É possível observar que as maiores concentrações (100  $\mu\text{g/ml}$  e 50  $\mu\text{g/ml}$ ) do extrato possuem uma atividade antiproliferativa interessante, uma vez que matam mais de 70% das células neoplásicas.

Extratos obtidos a partir de sementes de *A. heterophyllum* já foram testados em tipos de linhagens celulares como A549 (câncer de pulmão) e MCF-7 (câncer de mama) em extrato metanólico, apresentando resultados promissores (PATEL; PATEL, 2011), e extratos obtidos a partir da madeira de árvores de *A. heterophyllum* apresentaram resultados positivos quando testados em células de melanoma B16, o que corrobora com os resultados encontrados, sugerindo a presença de um composto em comum entre esses extratos. (ARUNG et al., 2010).

No trabalho de Gupta et al. (2014), o extrato de casca de *A. heterophyllum* diminuiu a viabilidade das linhagens celulares HeLa (células cervicais), MCF-7 (células de câncer de mama), HepG-2 (células de carcinoma hepatocelular) e MG-63 (células de sarcoma ósseo).

Porém, essas altas concentrações também possuem atividade citotóxica em linfócitos, como discutido anteriormente.

Tabela 4: Percentual de células viáveis de sarcoma 180 sob 48 horas de exposição em diferentes concentrações de *Artocarpus heterophyllum*.

Tratamentos	Sarcoma
	<b>Antiproliferativo</b>
<b><i>A. heterophyllum</i></b>	<b>48h</b>
<b>5 µg/ml</b>	87,61 % ± 5,24
<b>25 µg/ml</b>	55,51 % ± 1,83
<b>50 µg/ml</b>	28,75 % ± 0,81
<b>100 µg/ml</b>	20,45 % ± 0,10

Dessa forma, foi necessário calcular o Índice de Seletividade (IS), segundo Badisa et al. (2016). O cálculo foi realizado através do IC50 das células de linfócitos (0,00333) e do IC50 das células de sarcoma 180 (26,84), ambos obtidos no GraphPad Prism 7. O resultado do índice de seletividade foi baixíssimo, significando que esse extrato não possui seletividade quanto às células neoplásicas e não neoplásicas.

A maioria dos estudos com *A. heterophyllum* envolve a semente ou o fruto da jaqueira, portanto a maioria dos dados obtidos na literatura estão relacionados à essas partes da planta. Mesmo assim, não foram encontrados dados relacionados aos linfócitos humanos, sendo utilizados geralmente células da linhagem L929, do tipo fibroblastos.

De acordo com Burci (2018), os extratos das sementes da jaca possuem efeito anti-proliferativo, porém não possuem citotoxicidade em L929, uma linha celular normal. Isso pode ser devido às proteínas presentes na semente, como a jacalina e artocarpina.

## 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na análise antioxidante através do método DPPH mostram que essa espécie possui uma boa ação antioxidante. Provavelmente esta ação está relacionada à grande quantidade de fenóis totais do extrato. Entretanto, mais estudos devem ser feitos em relação às folhas da jaqueira, uma vez que apenas um tipo de extrato foi usado neste trabalho e ao compará-lo com outros trabalhos realizados, foi possível notar a influência do tipo de solvente no preparo do extrato, inclusive sendo um fator determinante para a quantidade de compostos fenólicos, como fenóis totais, flavonoides e taninos, e também na atividade antioxidante. Devido a sua atividade antioxidante, *A. heterophyllus* pode ser uma potencial fonte de produtos naturais de interesse farmacológico, principalmente os compostos fenólicos. Porém, é necessário estudos mais aprofundados sobre a sua citotoxicidade, pois o presente trabalho demonstrou uma alta citotoxicidade em linfócitos humanos e um baixo índice de seletividade entre células neoplásicas e células não neoplásicas.

## 5. AGRADECIMENTOS

À FAPES, UFES, CNPq e Capes pelo apoio às pesquisas do LGVT.

## Referências

- AJIBOYE, O.B.; OJO, A.O.; ADEYONU, O.; IMIERE, O.; OLAYIDE, I.; FADAKA, A.; OYINLOYE, E.B. Inhibitory effect on key enzymes relevant to acute type-2 diabetes and antioxidative activity of ethanolic extract of *Artocarpus heterophyllus* stem bark. **Journal of Acute Disease**, v.5, n.5, p. 423 - 429, 2016.
- ARORA, Tejpal; PARLE, Amrita. Jackfruit: a health boon. **International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy**, v. 7, n. 3, p. 59-64, 2016.
- ARUNG, Enos Tangke et al. Isoprenoid-substituted flavonoids from wood of *Artocarpus heterophyllus* on B16 melanoma cells: cytotoxicity and structural criteria. **Fitoterapia**, v. 81, n. 2, p. 120-123, 2010.
- BADISA, R. B.; AYUK-TAKEM, L. T.; IKEDIOSI, C. O.; WALKER, E. H. Selective anticancer activity of pure licamichauxiioic-B acid in cultured cell lines. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 2, p. 141-145, 2006. |
- BALICK, Michael J.; COX, Paul Alan. Developing Countries. **Medicinal plants for forest conservation and health care**, v. 92, p. 12, 1997.
- BALIGA, Manjeshwar Shrinath et al. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). **Food research international**, v. 44, n. 7, p. 1812-1822, 2011.
- BARBOSA, Marta Ribeiro et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453-460, 2014.
- BURCI, L. M. **Hipossalivação em idosos que utilizam polimedicação: estudo sobre a qualidade de vida relacionada à saúde bucal, atividades biológicas e tóxicas de *Artocarpus heterophyllus* Lam. Moraceae**. Tese de doutorado - Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, 2018.
- CONSERVANCY, Nature; GOLDMAN, Rebecca L. Ecosystem services and water funds: Conservation approaches that benefit people and biodiversity. **Journal-American Water Works Association**, v. 101, n. 12, p. 20-22, 2009.

COSTALONGA, S. A. P. **Avaliação alelopática, mutagênica e fitoquímica de extratos vegetais de três espécies exóticas invasoras.** Tese de doutorado - Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2017.

DAMME, E. J. M Van et al. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 17, n. 6, p. 575-692, 1998.

DATWYLER, Shannon L.; WEIBLEN, George D. On the origin of the fig: phylogenetic relationships of Moraceae from ndhF sequences. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 5, p. 767-777, 2004.

DUARTE-ALMEIDA, Joaquim Maurício et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 446-452, 2006.

EL-BOUBBOU, Kheireddine. Magnetic glyco-nanoparticles: A new tool to detect bacteria, cancer and atherosclerosis. **Michigan State University**, 2010.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v.43 n.1, São Paulo Jan./Mar. 1997.

GERVASIO, S. V. **Atividades antioxidante, alelopática e antigenotóxica do exopolissacarídeo carboximetilado botriosferana.** Dissertação de mestrado - Biologia Vegetal, Universidade do Espírito Santo, 2019.

GRAHAM, J.G.; QUINN, M.L.; FABRICANT, D.S.; FARNSWOTH, N.R. Plants used against cancer-an extension of the work of Jonathan Hartwell. **J. Ethnopharm.** 73: 347-377, 2000.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

KUSKOSKI, E. Marta et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Food Science and Technology**, v. 25, p. 726-732, 2005.

GUPTA, P.; BHATNAGAR, I.; KIM, K. S.; VERMA, A. K.; SHARMA, A. In-vitro cancer cell cytotoxicity and alpha amylase inhibition effect of seven tropical fruit residues. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n.2, p. 665 - 671, 2014.

HINNEBURG, I.; DAMIEN, H. J.; RAIMOH. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. **Food Chemistry**, London, v.97, n.1, p.122-129, 2006.

JAGTAP, U. B.; BAPAT, V. A. Artocarpus: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of ethnopharmacology**, v. 129, n. 2, p. 142-166, 2010.

KABIR, Morvarid et al. Dietary amylose-amylopectin starch content affects glucose and lipid metabolism in adipocytes of normal and diabetic rats. **The Journal of nutrition**, v. 128, n. 1, p. 35-42, 1998.

KUMAR, G. Suresh; APPUKUTTAN, P. S.; BASU, Debkumar.  $\alpha$ -D-galactose-specific lectin from jack fruit (*Artocarpus integra*) seed. **J. Biosci**, v. 4, n. 3, p. 257-261, 1982.

LOIZZO, M. R.; TUNDIS, R.; CHANDRIKA, U. G.; ABEYSEKERA, A. M.; MENICHINI, F.; FREGA, N. G. Antioxidant and antibacterial activities on foodborne pathogens of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae) leaves extracts. **Journal of Food Science**, v.75, n.5, p. 291 - 295, 2010.

PATEL, R. M.; PATEL, S. K. Cytotoxic activity of methanolic extract of *Artocarpus heterophyllus* against A549, Hela and MCF-7 cell lines. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.1, n.7, p. 167-171, 2011.

PEREIRA, Valéria de Jesus; KAPLAN, Maria Auxiliadora Coelho. Artocarpus: um gênero exótico de grande bioatividade. **Floresta e Ambiente**, v. 20, p. 1-15, 2013.

RAAMAN, N.; TENZING, C. S. Antioxidant activities and phytochemical analysis of methanol extract of leaves of *Artocarpus heterophyllus* Lam. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 6, n. 8, p. 289-293, 2014.

RAMALHO, Valéria Cristina; JORGE, Neuza. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química nova**, p. 755-760, 2006.

RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F. e MARQUES, E.K., orgns. **Mutagênese Ambiental**. Canoas: Ed. ULBRA, 2003.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

SHARMA, A.; GUPTA, P.; VERMA, A. K. Preliminary nutritional and biological potential of *Artocarpus heterophyllus* L. shell powder. **J. Food Science Technol**, v.52. n.3. p. 1339 - 1349, 2015.

SILVA, Regildo Márcio Gonçalves da et al. Atividade antioxidante e determinação de fenóis totais, carotenoides, betacarotenos, licopeno e zinco em variedades branca, amarela e rosada de *Manihot esculenta* crantz. **Bioscience Journal**, p. 556-564, 2014.

SOONG, Yean-Yean; BARLOW, Philip J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food chemistry**, v. 88, n. 3, p. 411-417, 2004.

SREELETHA A. S.; LINI J.J.; DHANYALEKSHMI C.S.; SABU K.R.; PRATAP C. R.. Phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activity evaluations of fruit of *Artocarpus heterophyllus* Lam. **Integrative Food, Nutrition and Metabolism** Volume 5(6): 1-7. 2018

TOMEI, Rafael Rodrigues; SALVADOR, Marcos José. Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. **Encontro Latino Americano De Iniciação Científica**, v. 11, p. 1963-1967, 2007.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VENCIONECK DUTRA, Jean Carlos et al. *Cereus jamacaru* DC hydroalcoholic extract promotes anti-cytotoxic and antitumor activity. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 4, p. 130, 2018.

ZHISHEN, Jia; MENGCHENG, Tang; JIANMING, Wu. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.

# CAPÍTULO 2

## **ANÁLISE COMPARATIVA DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp EM DOIS ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO**

*COMPARATIVE ANALYSIS OF CHEMICAL COMPOSITION CONTENT AND  
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp  
IN TWO STAGES OF DEVELOPMENT*

**Larissa Freitas de Almeida**

**Suiany Vitorino Gervásio**

**Maria Gabriela Pissinati Trindade**

**Lucas Evangelista dos Santos**

**Anna Carolina Araújo Panteleão**

**Judá Ben-Hur de Oliveira**

**Isadora Maria Coelho Vieira**

**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**



## Resumo

A utilização das plantas medicinais teve início nos primórdios da humanidade, o conhecimento adquirido durante os séculos deu origem à medicina moderna, tornando-se precioso às gerações e comunidades futuras. As plantas podem apresentar diferentes níveis de metabólitos de acordo com as condições de coleta, isso acontece como resposta do vegetal a fatores bióticos e abióticos, sendo assim, as condições de cultivo e coleta precisam ser estudadas e bem estabelecidas para garantir seu uso eficaz e seguro. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp é uma planta da família Fabaceae. No Brasil é empregada na agricultura e pecuária, porém, em outros países tem utilização medicinal. *G. sepium* possui quantidade significativa de compostos fenólicos e flavonoides (metabólitos secundários), substâncias que possuem ação biológica antioxidante. Essa ação é muito importante no combate aos danos que os radicais livres causam ao corpo. A fim de investigar o potencial uso medicinal da planta, este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar os teores de metabólitos e atividade antioxidante de *G. sepium* em estágio vegetativo e de floração. A quantificação dos teores apresentou resultados significativos. Os valores de flavonóides, fenóis e taninos para os estádios vegetativo e floração, foram de (93,66  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e 328,48  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), (393,62  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e 418,84  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e (69,02  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) respectivamente. Os resultados obtidos demonstraram que houve diferença entre os estádios observados em referência aos valores obtidos, já os testes de atividade antioxidante não demonstraram resultados relevantes nas vias antioxidantes dos testes empregados.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, Análises químicas, Estádios fenológicos

## Abstract

The use of medicinal plants began in the dawn of humanity, the knowledge acquired over the centuries led to modern medicine, such knowledge is precious and passed through generations in communities and tribes. Plants can present different levels of metabolites according to the conditions of collection, this happens as a response of the plant to biotic and abiotic factors, therefore, the conditions of cultivation and collection need to be studied and well established to ensure their effective and safe use. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp is a plant that belongs to the Fabaceae family. In Brazil it is used in agriculture and livestock, however, in other countries it has medicinal use. In countries such as Panama and Costa Rica, its leaves and bark are prepared in different ways and commonly used in skin treatments and bacterial infections. *G. sepium* has a significant amount of phenolic compounds and flavonoids (secondary metabolites), substances that have biological antioxidant action. This action is very important in combating the damage that free radicals cause to the body. In order to investigate the potential medicinal use of the plant, this work aimed to evaluate and compare the levels of metabolites and antioxidant activity of *G. sepium* in the vegetative and flowering stages. The quantification of the contents showed significant results, except for tannins. The results obtained showed that there was a difference between the stages observed in reference to the values obtained, since the tests of antioxidant activity did not show relevant results in the antioxidant pathways of the tests used.

**Keywords:** Medicinal plants, Chemical analysis, Phenological stages

## 1. INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são todo e qualquer vegetal que apresenta capacidade de causar algum efeito biológico. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2020) ainda acrescenta que plantas medicinais são os vegetais utilizados na cura ou tratamento de doenças e que possuem tradição como medicamento em uma comunidade ou população.

As condições de coleta do vegetal podem modular sua capacidade biológica e os fatores bióticos e abióticos podem influenciar na produção e na proporção dos compostos do metabolismo secundário das plantas. Um exemplo histórico dessa distinção são os carrascos gregos que coletavam o veneno cicuta proveniente da planta *Conium L.* pela manhã, horário que a planta possui maiores níveis de coniina. Tal fenômeno ocorre por conta das mudanças do metabolismo das plantas em resposta à interferência do ambiente (GOBBO-NETO et al., 2007)

A atividade antioxidante é uma ação muito buscada nos dias atuais, inclusive em plantas medicinais, fitoterápicos e na dieta cotidiana. Tal efeito é encontrado em compostos do metabolismo secundário das plantas, em grande parte nos compostos fenólicos, como os flavonoides e os taninos. Sua ação é responsável por prevenir e combater os danos causados por radicais livres (ADEBAYO et al., 2015; DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Os radicais livres são provenientes de um mecanismo de transferência de elétrons que ocorre naturalmente de seres aeróbicos, porém, essa transferência pode produzir elétrons desacoplados, gerando assim os radicais livres. Existem alguns tipos de radicais livres, como por exemplo as EROs, que são muito reativas e podem causar danos às células do corpo (PIETTA, 2000).

A *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp pertence à família Fabaceae, popularmente conhecida em outros países como mata raton, coiote, madre cacau, entre outros (BAGGIO, 1982; OTÁROLA, 1995). A espécie aqui estudada possui crescimento rápido e sua utilização é muito comum para o sombreamento de algumas culturas (DUNSDON et al., 1991; DUQUE, 1998). Como possui grande quantidade de nitrogênio e proteínas em suas folhas, também é empregada na alimentação de ruminantes (CHADHOKAR, 1982; DUNSDON et al., 1991; CARVALHO e FILHO et al., 1997; SHERMAN, 1977). Seu potencial medicinal no Brasil ainda não é explorado, porém, em outros países a planta é muito utilizada no tratamento de infecções de pele e outras enfermidades (RUIZ-TERÁN; MEDRANO-MARTÍNEZ; NAVARRO-OCAÑA, 2008).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi estabelecer os teores de metabólitos secundários e verificar sua correlação com o desempenho das atividades antioxidantes de extratos de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp a partir de plantas coletadas no estádios vegetativo e de floração.



## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção dos Extratos

Os extratos vegetais utilizados fazem parte do banco de extratos do Laboratório de Genética de Plantas e Toxicológica localizado na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e foram produzidos a partir de dois diferentes estádios de desenvolvimento da planta: floração e vegetativo. Para tanto, foram coletadas folhas frescas da planta na Fazenda Experimental Reginaldo Conde (JUCURUABA) do INCAPER, localizada no município de Viana/ES.

O material vegetal foi seco em temperatura ambiente ao abrigo de luz, logo após as folhas foram trituradas em triturador industrial e colocadas em béquer para o início da maceração (que consistiu em três ciclos de 72hrs, com filtragem do material após cada um dos intervalos), a qual foi feita em temperatura ambiente até sua exaustão, sendo o solvente utilizado, o etanol absoluto 99%. Após a maceração, todo extrato resultante deste processo foi concentrado por rotaevaporação a vácuo com pressão reduzida e à temperatura média de 60°C. Em seguida, foi feita a secagem do concentrado em estufa, por 24h a 50°C, sendo posteriormente estabelecida a massa seca dos extratos para uso nos ensaios biológicos.

### 2.2 Teores Totais de Metabólitos

#### 2.2.1 Teor Total de Flavonoides

De acordo com o método descrito por Zhishen et al. (1999) foram determinados os teores totais de flavonoides dos extratos dos dois estágios fenológicos da planta. Os extratos foram diluídos em metanol na concentração de 500  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e o padrão utilizado foi a rutina. Para tal, foi adicionado 0,5 mL dos extratos diluídos um volume de 1,5 mL de solução metanólica de cloreto de alumínio hexahidrato ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) (2% p/v) e a solução foi mantida ao abrigo da luz por 10 min. Para a construção de uma curva padrão de teor de flavonoides foram utilizadas diluições em série do padrão nas concentrações de 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62 e 7,81  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  com objetivo de traçar uma curva padrão. Os resultados foram expressos em equivalente de rutina por grama de massa seca do extrato. Os experimentos foram conduzidos em triplicata. A leitura das amostras foi realizada em um espectrofotômetro ELISA (Epoch – BioTech®) a 430nm.

#### 2.2.2 Teor Total de Compostos Fenólicos

De acordo com o método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu descrito por Zhang et al. (2006), foram preparadas duas soluções, uma de etanol e outra de *G. sepium*, cada uma na concentração de 500  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , o ácido gálico foi utilizado como padrão. Os extratos foram diluídos em etanol, para serem usados na concentração de 500  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . O padrão foi dissolvido em água destilada e diluído em série do padrão nas concentrações

de 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62 e 7,81  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para obtenção da curva de calibração onde os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico por grama de peso seco do extrato. Os experimentos foram conduzidos em triplicata. A absorvância das amostras foi detectada a 750 nm.

### 2.2.3 Teor Total de Taninos

O estabelecimento dos teores totais de taninos foi realizado pelo método Folin-Denis descrito por Pansera et al. (2003) com alterações, o ácido tânico foi utilizado como padrão. Os extratos foram diluídos em etanol na concentração de 500  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , o padrão foi dissolvido em água destilada e diluído em série nas concentrações descritas anteriormente, com objetivo de traçar uma curva de calibração. O teor total de taninos foi expresso como equivalentes em miligramas de ácido tânico por grama de peso seco dos extratos. Os experimentos foram conduzidos em triplicata. A leitura das amostras foi realizada em um comprimento de onda de 725 nm.

## 2.3 Atividade antioxidante

### 2.3.1 Sequestro de Radicais Livres pelo Método ABTS

O ensaio ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi realizado conforme método descrito por Rufino et al. (2007) com adaptações. Teve como padrão o trolox. Os extratos e o padrão foram diluídos em etanol nas seguintes concentrações 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63 e 7,81  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . A absorvância das amostras foi quantificada utilizando um espectrofotômetro na faixa de 734 nm. Os resultados foram expressos em IC50 ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) sendo a concentração necessária para a inibição de 50% do radical ABTS.

### 2.3.2 Avaliação do Potencial Antioxidante Frente ao Radical DPPH.

O ensaio da atividade sequestrante do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) foi realizado, em microplaca, conforme método descrito por Rufino et al. (2007). Para tanto, foi utilizado o ácido ascórbico como padrão, sendo o mesmo e os extratos etanólicos da planta dissolvidos em metanol e diluídos em série para alcançar concentrações de 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63 e 7,81  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . A leitura foi realizada em um espectrofotômetro com comprimento de onda de 517 nm e os resultados expressos com o valor de IC50 ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), sendo essa a concentração necessária presente nos extratos para inibição de 50% do radical DPPH.

## 2.4 Análise Estatística

Os resultados do perfil fitoquímico e das atividades antioxidantes de *G. sepium* foram realizados em triplicatas e expressos em média  $\pm$  erro padrão e com o IC50 e/ou porcentagem de inibição, realizados utilizando-se o software Microsoft Excel. As análises dos componentes principais (PCA) e da correlação de Pearson foram obtidas utilizando o software Paleontological Statistics (PAST 4.03).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na tabela 1, pode-se observar os resultados dos testes realizados com os extratos de folhas de *G. sepium* nos estádios vegetativo e de floração.

	Extrato de <i>G. sepium</i>	
	Estádio Vegetativo	Estádio de Floração
ABTS IC <sub>50</sub>	270,753	258,99
DPPH IC <sub>50</sub>	286,485	1203,327
<b>Flavonoides</b>		
(equivalência de mg de rutina em g de extrato)	93,660 $\pm$ 2,020	328,480 $\pm$ 0,199
<b>Fenóis</b>		
(equivalência de mg de ácido gálico em g de extrato)	393,623 $\pm$ 14,069	418,841 $\pm$ 9,397
<b>Taninos</b>		
(equivalência de mg de ácido tânico em g de extrato)	69,026 $\pm$ 9,573	não detectável

Tabela 1 - Resultados dos testes antioxidantes DPPH, ABTS e teste de teores totais de metabólitos flavonoides, fenóis e taninos realizados neste trabalho. (Dados expressos em  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )  
Fonte: Autoria própria

São perceptíveis resultados distintos tanto nos testes de teores, quanto nos de atividade antioxidante. Uma possível explicação para isso ocorre pela diferença fisiológica que o vegetal apresenta em cada um dos estádios de desenvolvimento, mostrando assim, a importância de se observar diversos fatores bióticos e abióticos na coleta das plantas para uso como medicamento e testar esse vegetal em diversas condições (GOBBO-NETO

et al., 2007). Como apresentado, espécies iguais podem apresentar diferenças em sua composição química variando com as condições de vida como sazonalidade, idade do vegetal, temperatura, disponibilidade de água, estádios de desenvolvimento entre outros (GOBBO-NETO et al., 2007).

No presente estudo, tal divergência pode ser explicada pela diferença fisiológica que uma planta apresenta nos seus estádios de desenvolvimento. Em condições de floração, a planta vai demandar síntese de compostos diferentes para produzir flores, atrair polinizadores e garantir o sucesso de tal etapa. Já em fase vegetativa, as necessidades mudam e os processos de metabolização também podem ser diferentes, uma vez que a planta tem suas atividades mais voltadas ao crescimento e estruturação de seus órgãos.

Quanto aos resultados obtidos pela análise de teores de compostos da planta (compostos fenólicos, flavonoides e taninos), alguns pesquisadores relatam seus dados de compostos fenólicos utilizando *G. sepium*. Akharaiyi et al. (2012) relatou valores de 5,81mg/ml e 3,92mg/ml de amostra seca, enquanto Sinha et al. (2013) encontraram valores como 3,89 mg/ml para o mesmo composto, e para finalizar Ang et al. (2019) relata valores como 15,20 e 14,43 mg/ml GAE/g de amostra seca, para os teores de compostos fenólicos. Abdulaziz et al. (2019) indicam uma presença moderada de flavonoides e expressiva de taninos na mesma espécie. A presença desses compostos sustenta os resultados das atividades antioxidantes aqui apresentados.

Reynertson et al. (2005) estipulam que, para o teste DPPH, os valores de IC50 menores que 50 indicam alta atividade antioxidante, já os valores entre 50 e 100 indicam capacidade média, enquanto valores entre 100 e 200 são considerados como baixa atividade e valores acima de 200 inativos. Já Kusmardiyani, et al. (2016) afirmam que valores inferiores a 50 indicam ótima atividade, valores entre 50 a 100 indicam atividade forte, valores entre 101 e 150 atividade mediana e valores acima de 150 baixa atividade. Em ambos os cenários, pode-se considerar que *G. sepium* apresentou atividade antioxidante baixa ou inativa nos testes realizados para este trabalho (tabela 1). O que pode indicar que as condições ambientais do espécime coletado não eram as mais propícias para modular o melhor resultado, ou o solvente utilizado para extração foi muito abrangente e selecionou componentes que não foram testados, ou os testes realizados não abrangeram a via antioxidante que o extrato apresenta melhores resultados.

A atividade antioxidante da planta pode estar associada à presença de diversos compostos. Neste trabalho foram quantificados três classes de compostos do metabolismo secundário da planta.

O extrato das folhas de *G. sepium*, em estágio vegetativo, demonstrou uma quantidade considerável de fenóis. Enquanto o extrato das folhas coletadas em estágio de floração demonstrou bons resultados em quantificação de fenóis e flavonóides, porém não foi detectada a presença de outros compostos como os taninos.

Ang et al. (2019) indicaram que extrato etanólico de *G. sepium* apresenta bons resultados em testes antioxidantes de ação ferro redutora e DPPH (apresentando resultados como  $200.2 \pm 4.37$  mg AAE/g de amostra seca). A capacidade antioxidante de *G. sepium* também é discutida por Abdulaziz et al. (2019), que realizaram ensaio DPPH e obtiveram resultado de IC50 de 144 ppm, valor que os autores classificam como capacidade antio-

xidante média e também obtiveram resultados que indicam a presença de flavonoides e taninos em extrato etanólico.

Os resultados antioxidantes em ABTS e DPPH dos ensaios deste trabalho apresentaram baixo desempenho, porém, com diferenças, isso indica que possivelmente os compostos da classe de flavonoides e de fenóis totais estejam ligados a um melhor desempenho em ABTS e a falta de taninos pode ser um dos fatores do baixo desempenho em DPPH para *Gliricidia sepium* folha floração

### 3.1 Correlação entre o Conteúdo Total de Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidantes

A análise de componentes principais (PCA) e a matriz de correlação de Pearson foram aplicadas com o objetivo de avaliar a correlação dos resultados obtidos com os testes realizados neste trabalho, com a finalidade de limitar a dimensão do conjunto de dados gerados com muitas variáveis e assimilar as relações entre as variantes. Foram retirados os valores do teste de taninos totais, pois, por sua baixa incidência ou nula, não apresentavam peso para a análise PCA.

Foi observada uma variância total de PC1 e PC2 de 94,62%, sendo 79,16% em PC1 e 18,45% em PC2 (primeiro e segundo componentes, principais para análise). Em PC1 os resultados dominantes foram a atividade antioxidante ABTS e o teor total de flavonoides, em PC2 foram dominantes a atividade antioxidante DPPH e o teor total de fenóis. A partir da PCA foi demonstrada uma correlação alta e inversa dos teores de flavonoides em teste antioxidante ABTS, o que indica que os flavonóides são responsáveis por serem os maiores detentores de atividade do teste, em DPPH não existe correlação inversa, o que indica que os teores de flavonóide e fenóis não contribuem para a atividade do teste. (Figura 1). É possível visualizar que os extratos de estádios diferentes se localizam em sentidos opostos e que a atividade do ABTS está inversa, mas não diretamente aos fenóis totais.

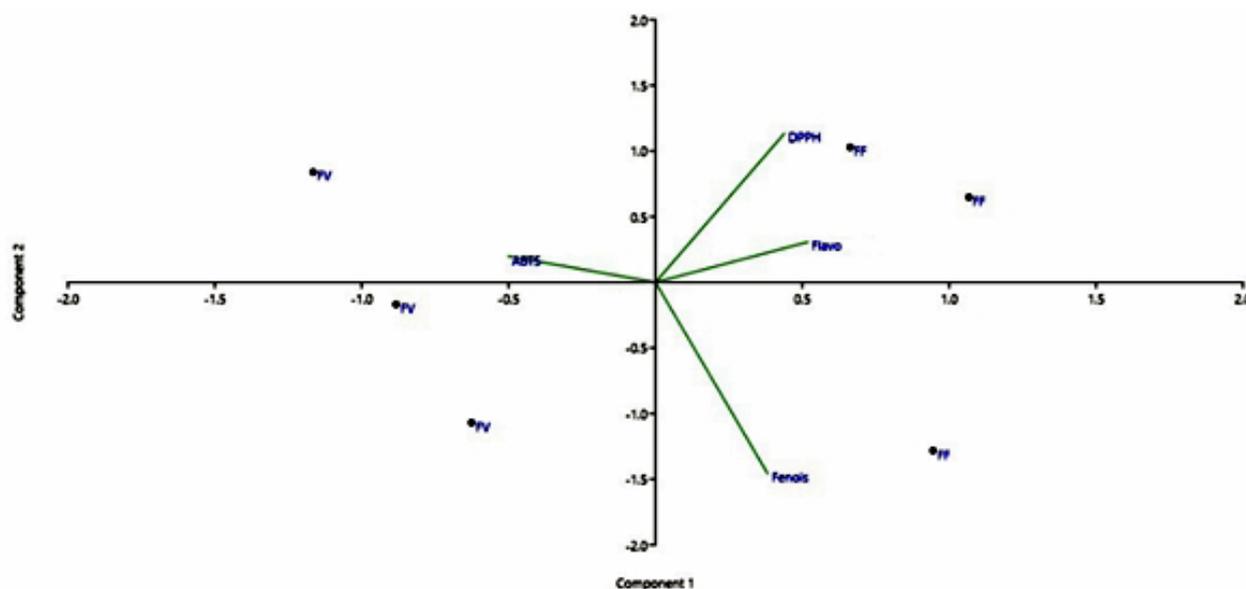


Figura 1 - Análise de Componentes Principais (PCA) dos teores (flavonoides e fenóis) e testes antioxidantes (ABTS e DPPH) dos extratos G.sFV e G.sFF.

Fonte: Autoria própria

Na tabela 2 é possível analisar as correlações das variáveis apresentadas pela análise de Pearson realizada com os resultados dos testes com o extrato da planta em estágio vegetativo e de floração.

	DPPH	ABTS	FENÓIS	FLAVONÓIDES
DPPH	1			
ABTS	-0,67522	1		
FENÓIS	0,29302	-0,68026	1	
FLAVONÓIDES	0,86191	-0,90605	0,60159	1

Tabela 2 - Matriz de Correlação de Pearson entre teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante.  
Fonte: Autoria própria

Foi utilizado o parâmetro de Mukaka (2012) para determinar a força dos resultados de correlação obtidos. É perceptível a correlação muito forte e inversa dos teores de flavonoides com a atividade antioxidante ABTS, o que indica que o composto pode ser responsável pela atividade expressa. É detectável também relação inversa e moderada entre fenóis e ABTS, indicando também a participação dos fenóis na atividade antioxidante mediada pelo mecanismo envolvido neste ensaio. É perceptível a relação positiva entre DPPH e a presença de flavonoides, isso indica que o composto não possui atuação na atividade antioxidante nesse contexto.

A ausência de expressão de taninos pode ser pela alteração da concentração de alguns compostos por conta do estágio em que a planta se encontrava no momento da coleta, onde se obteve uma menor relevância da quantificação de taninos, e uma maior quantidade de flavonoides, no caso do estágio de floração. A capacidade antioxidante ABTS foi a que apresentou maior quantidade de relações que indicam participação na atividade.

## 4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que *G. sepium* detém quantidade significativa de teores de flavonoides em estágio de floração, quantidade alta também em teores de fenóis totais nos dois estádios de desenvolvimento pesquisados neste trabalho. Os resultados antioxidantes de ABTS apresentaram atividade baixa, enquanto os resultados da atividade antioxidante em DPPH não apresentaram resultados significativos, o que leva a crer que a planta pode possuir melhor desempenho antioxidante em outras vias.

A matriz de correlação de Pearson apresenta uma correlação alta e inversamente proporcional aos teores totais de flavonoides, que apresentaram o valor (0,86191), agora em relação a atividade antioxidante do ABTS os valores agora inversos, foram de (-0,67522), o que indica que são os flavonoides os compostos majoritários que atuantes em maior quantidade frente a essa atividade.

Apesar de não ser uma planta explorada como fitoterápico no Brasil, estudos indicam que *G. sepium* possui bom desenvolvimento em atividades biológicas diversas. Mesmo assim, novos estudos são necessários para explorar a capacidade antioxidante em outras vias, seu potencial anti citotóxica ou citotóxica, entre outros testes, para garantir o uso da planta de forma segura em cenário nacional.

## 5. AGRADECIMENTOS

À FAPES, UFES, CNPq e Capes pelo apoio às pesquisas do LGVT.

## Referências

- ABDULAZIZ, Abdullah A. et al. Qualitative evaluation of the antimicrobial, antioxidant, and medicinally important phytochemical constituents of the ethanolic extracts of the leaves of *Gliricidia sepium* (Jacq.). **Pharmacophore**, v. 10, n. 4, p. 72-83, 2019.
- ADEBAYO, Salmon A. et al. The anti-inflammatory and antioxidant activity of 25 plant species used traditionally to treat pain in southern African. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2015.
- AKHARAIYI, F. C. et al. Antibacterial, phytochemical and antioxidant activities of the leaf extracts of *Gliricidia sepium* and *Spathodea campanulata*. **World Applied Sciences Journal**, v. 16, n. 4, p. 523-530, 2012.
- ANG, Aileen May Gabule et al. Antioxidant and cytotoxic activity of the leaf ethanolic extracts of *Tithonia diversifolia* and *Gliricidia sepium* from Bukidnon, Philippines. **Asian J. Biol. Life Sci**, v. 8, p. 8-15, 2019.
- ANVISA. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – **Anvisa. Medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais 2020**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/fitoterapicos>>. Acessado em 18 de mar. de 2022 BRASIL.
- BAGGIO, A. J., & HEUVEODOP, J. (1982). Implantacao, manejo e utilizacao do sistema agroforestal cercas vivas de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. na Costa Rica. **Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo Numero. 5 (1982) p. 19-52**.
- CARVALHO FILHO, O. M. de; DRUMOND, A. M.; LANGUIDEY, P. H. *Gliricidia sepium*: leguminosa promissora para as regioes semi-dridas. Petrolina, PE. EMBRAPA - CPATSA, (EMBRAPA - CPATSA. Circular Tecnica, 35). 17p, 1997.
- CHADHOKAR, P. A. "*Gliricidia maculata*: A Promising Legume Fodder Plant," **World Animal Review**, Vol. 44, 1982, pp. 36-43.
- DUARTE-ALMEIDA, Joaquim Maurício et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 446-452, 2006.
- DUNSDON, A. J.; STEWART, J. L.; HUGHES, C. E. *Gliricidia sepium*. 1991.
- DUQUE, J. A. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. Disponível: site **Horticulture Department at Purdue** web. URL: [http://www.hort.parde.edu/newcrop/duke\\_energy/Gliricidia\\_sepium](http://www.hort.parde.edu/newcrop/duke_energy/Gliricidia_sepium) Palavra-chave: *Gliricidia sepium*. Consultado em, v. 23, 1998.
- GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.
- KUSMARDIYANI, S. I. T. I.; NOVITA, Grace; FIDRIANNY, I. R. D. A. Antioxidant activities from various ex-

- tracts of different parts of kelakai (*Stenochlaena palustris*) grown in central Kalimantan-Indonesia. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, n. Suppl 2, p. 215-219, 2016.
- MUKAKA, Mavuto M. A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. **Malawi medical journal**, v. 24, n. 3, p. 69-71, 2012.
- OTÁROLA, Augusto. Cercas vivas de madero negro: práctica agroforestal para sitios con estación seca marcada. **Agroforestería en las Américas, número 05 (1995)**, 1995.
- PANSERA, M. R. et al. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 17-22, 2003.
- PIETTA, Pier-Giorgio. Flavonoids as antioxidants. **Journal of natural products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.
- SHERMAN, P.J. **Tropical forage legumes**. Roma, FAO, 1977. 609p. (FAO. Plant production and Protection Series, 2
- SINHA, S. N. Phytochemical profiles and antioxidant activities of the leaf extracts of *Gliricidia sepium*. **Internal J. Innovations in Bio-Sciences**, v. 3, n. 3, p. 87-91, 2013.
- REYNERTSON, Kurt A.; BASILE, Margaret J.; KENNELLY, Edward J. Antioxidant potential of seven myrta-ceous fruits. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 3, p. 025-036, 2005.
- RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.
- RUIZ-TERÁN, F.; MEDRANO-MARTÍNEZ, A.; NAVARRO-OCAÑA, A. Antioxidant and free radical scavenging activities of plant extracts used in traditional medicine in Mexico. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, 2008.
- ZHANG, Qing et al. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. **Journal of applied phycology**, v. 18, n. 3, p. 445-450, 2006.
- ZHISHEN, Jia; MENGCHENG, Tang; JIANMING, Wu. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.

# CAPÍTULO 3

## **MUTAGENICIDADE DE *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray DE DUAS LOCALIDADES DO ESPÍRITO SANTO**

*MUTAGENICITY OF *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray OF TWO LOCALITIES OF ESPÍRITO SANTO*

**Felipe Miranda Crist**

**Irany Rodrigues Pretti**

**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**

**Jean Carlos Vencioneck Dutra**

**Vanessa Silva dos Santos**

**Ana Carolini Cavallieri Zatta**



## Resumo

O uso das plantas na cura de doenças acompanha a história do homem. *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray é uma dessas plantas, usada em vários países na cura de enfermidades como malária, diabetes e inflamações. Apesar de inúmeras utilidades, ainda se faz necessário estudos que visam elucidar os seus reais efeitos no organismo, uma vez que os componentes desta planta podem apresentar níveis de toxicidade e manifestar danos genotóxicos e mutagênicos. Foi realizado o teste de Dose Letal Mediana (DL50) para avaliar a toxicidade aguda em camundongos da linhagem *Swiss*. Nesse teste a planta se apresentou pouco tóxica ao se observar uma mortalidade de menos de 50% dos animais em uma concentração de 1000 mg/kg. Após analisado o nível de toxicidade, foi avaliada a atividade mutagênica, por meio do teste de micronúcleo, em sangue periférico de camundongos da mesma linhagem. Um total de 48 camundongos da linhagem *Swiss* foram tratados com três concentrações (50,100,150 mg/kg) de extratos de plantas oriundas de duas localidades diferentes do Espírito Santo, para observar se há influência de fatores abióticos das localidades nas quais essas plantas ocorrem. Também foram tratados animais com solução salina 0,9%, para controle negativo, e com cisplatina 6 mg/kg, para controle positivo. Os resultados indicaram que *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray não induz a mutagenicidade e possui baixa toxicidade aguda, contribuindo assim para o seu uso seguro como planta medicinal. Contudo, são necessárias análises mais aprofundadas para certificar sua total segurança na utilização dessa planta como medicinal.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, Toxicidade, Linhagem *Swiss*, DL50, Micronúcleo.

## Abstract

The use of plants in the cure of diseases follows the history of man. *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray is one of these plants, used in several countries to cure diseases such as malaria, diabetes and inflammations. Despite numerous utilities, *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray still needs studies aimed at elucidating its real effects on the body, since the components of this plant may present toxicity levels and manifest genotoxic and mutagenic damage. The Median Lethal Dose (DL50) test was performed to evaluate acute toxicity in *Swiss* mice. In this test, the plant presented low toxicity when a mortality of less than 50% of the animals was observed at a concentration of 1000 mg/kg. After analyzing the level of toxicity, the mutagenic activity was evaluated, through the micronucleus test, in peripheral blood of mice of the same lineage. A total of 48 *Swiss* mice were treated with three concentrations (50,100,150 mg/kg) of plant extracts from two different localities of Espírito Santo, to observe whether there is an influence of abiotic factors of the localities in which these plants occurred. Animals were also treated with 0.9% saline solution for negative control and cisplatin 6 mg/kg for positive control. The results indicated that *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray does not induce mutagenicity and has low acute toxicity, thus contributing to its safe use as a medicinal plant. However, further analysis is needed to certify the total safety in its use as a medicinal plant.

**Keywords:** Medicinal plants, Toxicity, *Swiss* lineage, DL50, Micronucleus.



## 1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade na cura de enfermidades, desde os tempos mais primitivos. O registro mais antigo do uso de plantas medicinais é do período entre 2980-2900 a.C, no Egito, quando Imhotep aplicava o uso de ervas no combate a doenças, sendo a ele concedido o crédito de primeiro médico egípcio de que se tem conhecimento. O livro *Pen Ts`ao* de 2700 a.C., escrito por Shen Numg um herborista chinês descreveu inúmeras plantas medicinais e sua utilização específica para cada tipo de doença e necessidade. Além disso, foi encontrado no Egito um papiro datado de aproximadamente 1500 a.C, com título "Papiro de Ebers", contendo receitas de produção de vários medicamentos naturais (FERRO, 2008).

Com o passar do tempo foram criados novos produtos a partir das substâncias extraídas das plantas, como alguns cosméticos, produtos de limpeza, corantes, alimentos e uma infinidade de produtos fitoterápicos (VARANDA, 2006). Ao longo de toda a história há registros de estudiosos e produções em livros que abordam o uso das plantas com finalidade medicinal, até os dias atuais em que a tecnologia e pesquisa se inserem, dando mais respaldo e segurança para a utilização das plantas medicinais. Apesar de diversos estudos nesta área, ainda há necessidade de pesquisa com o intuito de conhecer o real potencial de uma planta, pois segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) 80% da população em países em desenvolvimento faz uso da medicina tradicional para tratamento de enfermidades (BRASIL, 2006).

Apesar das plantas oferecerem grandes benefícios à saúde, algumas delas possuem substâncias que afetam várias funções orgânicas e celulares, dentre elas o correto funcionamento do material genético, como a duplicação do DNA e a transcrição gênica, o que pode ocasionar danos que vão desde as mutações de ponto até as aberrações cromossômicas. Essas substâncias são chamadas de genotóxicas (COSTA; MENK, 2000), e não havendo reparo nos danos provenientes da ação dela, após a divisão mitótica ou meiótica, essas serão elevadas à categoria de mutagênicas, levando um risco à saúde do indivíduo, e até mesmo determinando a sua morte (RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003).

A mutagenicidade é um indicador importante no surgimento de carcinomas, então desde a década de 1980 várias agências ambientais e órgãos de saúde pública de muitos países passaram a considerar a relevância da pesquisa e estudo de mutágenos de produtos voltados para o consumo, como medicamentos, conservantes e agentes químicos, antes do produto entrar no mercado, assim protegendo a população (RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003).

Faz-se necessária, então, uma série de estudos até que algum produto de origem natural seja liberado para produção de um medicamento ou mesmo da adequada utilização de uma planta como medicinal. Esses estudos são divididos em fases, sendo a primeira denominada de pré-clínica, onde a substância em questão é utilizada em organismos-teste para ter os primeiros resultados. É nessa fase que são retiradas informações sobre a atividade farmacológica, além de conhecer a toxicidade aguda da substância, e reconhecimento de substâncias que não tem nenhum efeito benéfico. Só após o fim dos estudos pré-clínicos que a substância é liberada para a fase seguinte, a clínica, a qual utiliza hu-

manos para testar a substância (GRAHAME-SMITH; ARONSON, 2004). Dentre os testes utilizados na avaliação pré-clínica, há o teste de micronúcleo *in vivo*.

O teste de micronúcleo é um dos bioensaios mais utilizados para a avaliação de efeitos genotóxicos. Este é capaz de detectar tanto clastogenicidade – quebra de cromossomos – quanto aneugenicidade – aneuploidia ou segregação cromossômica anormal devido a disfunções no aparato mitótico (KRISHNA; HAYASHI, 2000), trata-se de um teste simples onde a célula afetada pelo mutágeno e dá origem a um micronúcleo derivado da quebra ou perda de cromossomo do seu núcleo original (KLUMPP et al., 2004). Nos eritrócitos, o micronúcleo se forma após a expulsão do seu núcleo, na qual os vestígios de cromossomos são novamente englobados (MAIER; SCHMID, 1976) e facilmente vistos quando se utiliza um corante celular e a análise é feita por meio de microscópio óptico.

Há também o teste de dose letal mediana (DL50) que indica a dose necessária da substância estudada para levar à morte da metade do grupo tratado, a concentração da dose aplicada que mata a metade do grupo estudado indica a toxicidade aguda da substância (FERREIRA et al., 2016). Esse teste é importante, pois apresenta o nível tóxico da substância testada e garante a segurança do seu uso nas dosagens adequadas (ZACARIAS, 2015).

Uma planta que necessita de ainda mais estudos, é a *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae), planta medicinal amplamente utilizada pela população (Figura 1). Esse gênero é originário do México e América Central, mas com ampla distribuição geográfica, sendo também encontrado na América do Sul, África do Sul e parte da Ásia (NASH; WILLIAMS, 1976; WANJAU; MUKALAMA; THIJSEN, 1998). A espécie *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray é popularmente conhecida no Brasil como girassol mexicano, margari-dão, mão de-deus, cinco pontas (FERRO, 2008), sendo uma planta herbácea, que pode alcançar entre 1,5 e 4 metros de altura, com folhas alternadas, pecioladas de tamanho variando entre 7 a 20 cm de comprimento e 4 a 20 cm de largura, com pedúnculos fortes e serrilhados; apresenta flores grandes e amarelas semelhantes a um girassol, que são formadas durante o outono e inverno (LUTOSA; CHO; 2004).

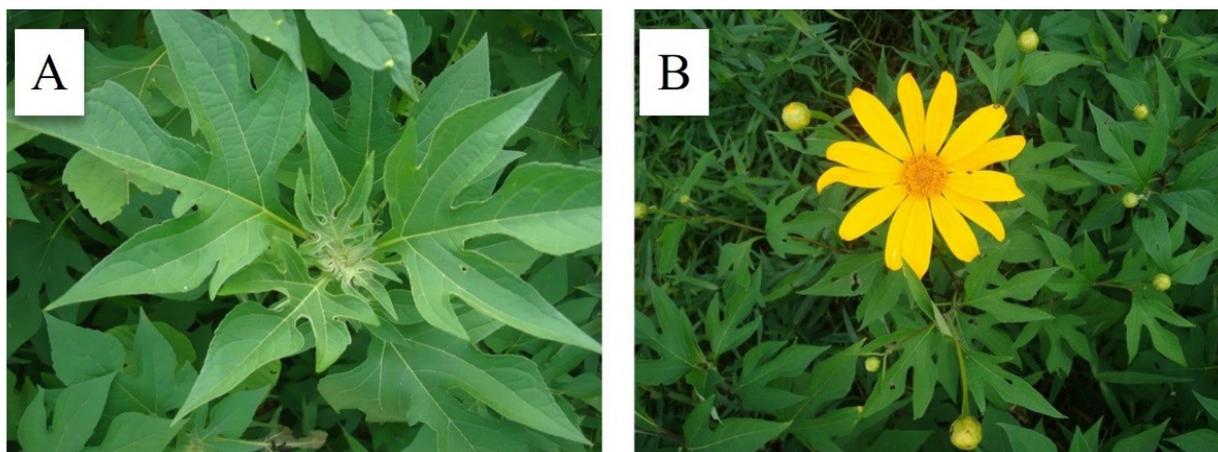


Figura 1 - A) detalhe das folhas de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. B) detalhe da flor  
Fonte: Arquivo pessoal

Uma grande variedade de insetos é atraída pelo néctar das flores de *Tithonia diversifolia*, (Hemsl) A. Gray o que facilita a polinização principalmente por Lepidópteros, e suas flores têm coloração com forte tom de amarelo e aroma bastante acentuado (DA SILVA; VEIGA; MACHADO, 1999). O uso medicinal da *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray tem

se mostrado diversificado mundialmente, como na Guatemala ela é usada a partir do conhecimento etnobotânico daquela população, no combate à malária e tratamento de ferimentos na pele de animais domésticos (NASH; WILLIAMS, 1976; CHAGAS-PAULA et al., 2012). Estudos científicos apontam que a planta possui propriedades anti-inflamatórias (CHAGAS-PAULA et al., 2011; OWOYELE et al., 2004), e reforçam a presença de propriedade antimalárica (ELUFIOYE; AGBEDAHUNSIE, 2004), enquanto outros autores apontam sua atuação contra os efeitos do diabetes (OLUKUNLE et al., 2014), especialmente o tipo 2 (MIURA et al., 2005). Portanto, mesmo sendo uma espécie com indicação de uso medicinal é importante verificar se a mesma apresenta metabólitos que tenham ação mutagênica, e assim fazer o uso com segurança, uma vez que diferentes compostos secundários podem exibir condições danosas ao DNA.

Apesar de existirem estudos comprovando benefícios terapêuticos de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray, ainda são necessárias pesquisas acerca de seus efeitos no organismo, uma vez que os componentes desta planta podem apresentar níveis de toxicidade e determinar danos genotóxicos e mutagênicos. Sendo assim, são necessários estudos pré-clínicos e/ou clínicos para averiguar a existência de substâncias nocivas à saúde, assegurando, desta forma, que a população não faça uso dessa erva medicinal sem o conhecimento prévio de seus reais efeitos.

Os efeitos decorrentes do uso da *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray se dão pela ação dos metabólitos secundários, que são substâncias originadas a partir de uma cadeia de reações direcionadas por enzimas específicas, formando assim o que conhecemos como rota metabólica. Os metabólitos primários são assim chamados por serem essenciais à vida, e compartilhados pelos vegetais, já os metabólitos secundários são produzidos com função de atração de animais, herbicida natural, proteção contra raios UV, entre outros (SANTOS, 2004). Os metabólitos secundários no gênero *Tithonia* são constituídos, na maior parte, por terpenóides, como sesquiterpenos e diterpenos, e também flavonoides, alguns grupos menores de metabólitos secundários também são encontrados como, xantanes, cumarinas, ceramidas, cromonas, cromenos e fitoesteróis (CHAGAS-PAULA et al., 2012).

Fatores internos e externos à planta podem afetar a produção de metabólitos desses organismos. Os fatores internos como crescimento da planta e produção de novos órgãos contribuem para a variação da concentração de alguns metabólitos. Os fatores externos como altitude, direção do vento, temperatura, pluviosidade, qualidade do solo e luz afetam a produção de metabólitos secundários das plantas, levando a uma menor ou maior produção da substância em questão (AKULA; RAVISHANKAR, 2011; GOBBO-NETO; LOPES, 2007), e conseqüentemente, determinam que a localidade na qual o material foi coletado possa levar a diferenças na sua composição.

Assim, duas plantas, de uma mesma espécie, encontradas em locais diferentes, podem ter diferenças na concentração e na composição de seus metabólitos. Desse modo, se faz necessário estudar os metabólitos de espécies de regiões geográficas diferentes para correlacionar com seus efeitos terapêuticos, suas atividades antioxidantes, mutagênicas e citotóxicas, procurando garantir seu uso de forma segura.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda e a mutagenicidade do extrato hidroalcoólico de folhas de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray coletadas em duas localidades do Estado do Espírito Santo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção das amostras vegetais

As amostras foram provenientes de duas localidades do estado do Espírito Santo pelo fato de o estado apresentar discrepância entre regiões e sendo conhecida a influência dos fatores externos na produção de metabólitos secundários. Portanto, as áreas escolhidas para o estudo foram os municípios de Colatina e Santa Teresa.

O Espírito Santo é conhecido por seu relevo e clima heterogêneos, tendo faixas de planície na costa capixaba que representa 40% do relevo capixaba, até altitudes de 1000 metros na região serrana, no interior do estado, e com clima variando entre esses dois pontos devido às diferenças geográficas (ESPÍRITO SANTO, 2017). O município de Colatina é cortado pelo Rio Doce, tem temperatura predominantemente quente, relevo acidentado e clima seco; a maior parte do solo é de característica latossolo vermelho amarelo distrófico, e média anual de pluviosidade de 1100 mm (ESPÍRITO SANTO, 2011). Já Santa Teresa apresenta temperaturas predominantemente amenas, relevo acidentado e clima chuvoso, a maior parte do seu solo também é de latossolo vermelho amarelo distrófico e com precipitação média na região alta de 1332 mm e de 1004 mm na região baixa de Santa Teresa (ESPÍRITO SANTO, 2011).

No presente estudo, as amostras selecionadas foram aquelas que apresentaram o maior e o menor nível de atividade antioxidante, representadas por Santa Teresa (ST) (19° 95' 389" ; 40° 55' 783"W) e Colatina (COL) (19° 30' 08.2" S; 40° 36' 40.7" W), respectivamente.

### 2.2 Obtenção de extrato hidroalcoólico

As folhas de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray recolhidas foram secas à sombra, para evitar a perda de características fitoquímicas. Posteriormente à secagem, as folhas foram trituradas e o pó oriundo da trituração foi imerso em etanol 70% em proporção 3:1, em temperatura ambiente (25 a 30°C) e abrigada da luz, por 3 dias (72 horas), repetiu-se o procedimento por duas vezes. Ao término da maceração, foi realizada filtração a vácuo, por rotaevaporação com temperatura controlada de 60°C. O produto desta filtração ficou em descanso em estufa a 40°C, até aquisição do extrato hidroalcoólico de consistência pastosa, o extrato foi armazenado em um frasco de vidro âmbar, sob refrigeração.

### 2.3 Animais

Foram utilizados camundongos machos da linhagem *Swiss*, fornecidos pelo biotério da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno com grades de metal e maravilha, em ambiente climatizado em temperatura aproximada de 22°C, por sete dias para aclimação, anteriormente aos experimentos. A dieta foi à base de ração comercial e água *ad libitum*. Toda condução experimental foi

realizada de acordo com os princípios éticos e legais do Comitê de Ética no Uso de Animais da UFES (CEUA/UFES), sendo o projeto aprovado no CEUA/UFES sob o número 036/2015.

## 2.4 Avaliação da Toxicidade Aguda por meio da dose letal mediana (DL50)

Para estabelecimento da DL50, um grupo, composto por dez animais, recebeu uma dose do extrato ( $1000 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), por via intraperitoneal, uma vez que já haviam informações de baixa toxicidade dessa planta, em experimentos com ratos (KAMATENESI-MUGISHA et al., 2013). O controle negativo (CN), consistindo também em mais um grupo com 10 animais, foi realizado com injeção intraperitoneal de solução salina 0,9%, com volume inferior a 5ml. Os animais permaneceram nas gaiolas por um período de 24 horas, após o qual foi observado e contabilizado o número de óbitos.

## 2.5 Avaliação da Mutagenicidade

A avaliação da potencial ação mutagênica foi feita por meio do teste do micronúcleo *in vivo*, em sangue periférico, como descrito por Krishina e Hayashi (2000).

Para cada uma das duas localidades, os animais foram tratados com extrato oriundo das folhas de *T. diversifolia*, (Hemsl) A. Gray através de administração orogástrica (gavagem), por cinco dias consecutivos, em três diferentes concentrações determinadas de acordo com o valor da DL50, sendo assim foram definidos cinco grupos experimentais para cada uma das localidades, cada grupo constituído de seis camundongos; no caso do controle negativo, os animais foram também tratados por gavagem (Figura 2), e no grupo controle positivo, o mutágeno (cisplatina) foi administrado por via intraperitoneal em uma dose de  $6 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Os tratamentos e suas respectivas doses estão identificados na Tabela 1.



Figura 2 - Procedimento de gavagem em camundongos Swiss para administração dos tratamentos  
Fonte: Arquivo pessoal

Grupos experimentais		
<b>Grupo I</b>	Controle Negativo	Solução salina 0,9% (0,005mL.g <sup>-1</sup> m.c.)
<b>Grupo II</b>	Controle Positivo	Cisplatina 6 mg.kg <sup>-1</sup>
<b>Grupo III</b>	Extrato	50 mg.kg <sup>-1</sup>
<b>Grupo IV</b>	Extrato	100 mg.kg <sup>-1</sup>
<b>Grupo V</b>	Extrato	150 mg.kg <sup>-1</sup>

Tabela 1- Grupos experimentais e suas respectivas doses tratadas.

Fonte: Autoria própria

## 2.6 Obtenção do sangue periférico

O sangue periférico foi extraído da artéria caudal do animal, por perfuração e gotejamento direto na lâmina (Figura 3). Esse procedimento foi realizado no quinto dia após o início do tratamento.



Figura 3 - Retirada de sangue periférico da artéria caudal

Fonte: Arquivo pessoal

## 2.7 Preparação de Lâminas

As lâminas foram preparadas a partir do esfregaço do sangue periférico, sendo duas lâminas para cada animal, as quais foram, posteriormente, fixadas em metanol absoluto, por 10 minutos. Após a fixação e secagem, as mesmas foram coradas com Leishman eosina azul de metileno, para tanto, inicialmente, as lâminas ficaram três minutos imersas no corante concentrado, e posteriormente mantidas por mais quinze minutos, em uma mistura de proporção 6:1 de água destilada e corante. O material foi observado em microscópio óptico, em aumento de 1000x, com uso de óleo de imersão.

## 2.8 Observação de micronúcleos

Foram contados 1000 eritrócitos normocromáticos por lâmina, perfazendo um total de 2.000 células por animal. As lâminas de cada uma das concentrações (por localidade) e as dos controles negativo e positivo foram codificadas, para configurar análise em teste cego. As células micronucleadas foram contabilizadas e registradas para a análise estatística.

## 2.9 Análise Estatística

Todos os resultados foram tabulados e os valores expressos como média  $\pm$  erro padrão. A normalidade dos dados dos tratamentos (extratos, controles positivo e negativo) foi avaliada segundo o teste de Kolmogorov Smirnov. Os dados foram posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do Teste de Tukey. As médias de cada dose, por população, foram comparadas usando o Teste Mann-Whitney. A significância estatística comparando dados entre diferentes grupos de tratamento foi realizada utilizando-se o software Assistat v. 7.0. Os Valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos.

# 3. RESULTADOS

## 3.1 Toxicidade aguda

Os valores relativos à toxicidade aguda apontam que os animais resistem a uma alta dose do extrato de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray, tendo em vista que ocorreram apenas três óbitos quando realizado o tratamento com  $1.000 \text{ mg.kg}^{-1}$ , representando apenas 30% de toda a população.

## 3.2 Frequências de Eritrócitos Normocromáticos Micronucleados

Os valores relativos à frequência de eritrócitos normocromáticos micronucleados obtidos a partir da análise dos diferentes tratamentos não diferiram significativamente, entre si ou mesmo em relação ao controle negativo, o que indica que a *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray não apresentou ação mutagênica. Observa-se, também, que todos os tratamentos apresentaram diferença significativa em relação ao controle positivo, o que reforça ainda mais a sua ausência de mutagenicidade (Tabela 2). Esses valores, quando comparados às mesmas concentrações, entre as diferentes localidades em estudo (Colatina e Santa Teresa), também não revelaram diferenças estatísticas entre si, o que demonstra um comportamento similar dos extratos independentemente de sua origem.

Localidade	Tratamento	(NCEMN*)
		Média ± Erro Padrão
Colatina	Controle negativo	0,273 ± 0,19 b
	Controle positivo	3,73±0,90 a
	50 mg.kg <sup>-1</sup>	1,91±0,80 b
	100 mg.kg <sup>-1</sup>	0,64±0,27 b
	150 mg.kg <sup>-1</sup>	0,73±0,45 b
	Controle negativo	0,273±0,19 b
Santa Tereza	Controle positivo	3,73±0,90 a
	50 mg.kg <sup>-1</sup>	0,36±0,19 b
	100 mg.kg <sup>-1</sup>	0,54±0,20 b
	150 mg.kg <sup>-1</sup>	0,18±0,12 b

Tabela 2 - Frequência de eritrócitos normocromáticos micronucleados (NCEMN) em 1000 células em camundongos *Swiss* tratados com três doses do extrato hidroalcoólico de *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray por um período de cinco dias

\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

## 4. DISCUSSÃO

Segundo Lorke (1983), quando o material testado em relação à toxicidade aguda não expõe uma DL50 em concentrações abaixo de 1000 mg.kg<sup>-1</sup> é considerado pouco tóxico. Os dados do presente estudo apontam esta situação, para os extratos de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray aqui testados, uma vez que, mesmo na concentração de 1000 mg.kg<sup>-1</sup>, os óbitos foram em número abaixo dos 50% e nas concentrações menores nem houve óbito. Este dado é uma importante informação à população que faz uso desta planta, pois a baixa toxicidade aguda implica um ponto positivo quanto ao seu uso como planta medicinal (TUROLLA, 2006).

No presente estudo, o teste do micronúcleo foi realizado em células do sangue periférico, o qual é considerado como um teste com várias vantagens, por ser de fácil preparação da amostra, usando-se pequena quantidade de sangue, além da rapidez na obtenção dos resultados, tem também a possibilidade de se obter repetidas amostras de um mesmo animal e com isso possibilitar coleta de amostras para estudos crônicos (ABRAMSSON-ZETTERBERG; GRAWE; ZETTERBERG et al., 1999; CAMMERER et al., 2007). Em relação à frequência de micronúcleos, que é parâmetro indicativo de mutagenicidade, as doses testadas não diferiram entre si ou mesmo em relação ao controle negativo, expondo discrepância significativa apenas com o controle positivo, que obteve uma maior taxa de micronúcleos, como já era esperado, uma vez que a cisplatina aumenta a taxa de micronúcleos formados nas células (RODRIGUES, 2016). Tal situação reflete o fato esperado de

a planta não ter caráter mutagênico, situação favorável ao seu uso pela população.

O fato de o extrato de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray não ter induzido mutagenicidade pode contribuir para seu uso seguro como planta medicinal, porém faz-se necessária uma análise mais aprofundada, com maior número de comparações envolvendo extratos de outras regiões geográficas, para confirmar a inexistência de ação mutagênica em quaisquer extratos avaliados e, também, se as diferenças de solo dessas outras localidades influenciarão ou não na composição da planta. Mesmo havendo a sugestão de mais estudos, o fato de os extratos testados não exibirem atividade mutagênica em células de sangue periférico é um ponto positivo, pois assim como a baixa toxicidade aguda, esta é uma característica que torna o uso desta planta como promissor para aspectos terapêuticos. (OLUKUNLE et al., 2014; OWOYELE et al., 2004; ELUFIOYE; AGBEDAHUNSIE, 2004; MIURA et al., 2005).

Os resultados aqui apresentados assemelham-se àqueles encontrados por Lourenço et al. (2010), que comentam que o potencial genotóxico de um extrato ou droga testada tem relação direta com vários aspectos endógenos, um deles a metabolização das drogas, como é o caso dos extratos administrados via oral, uma vez que serão metabolizados no fígado, processo que envolve enzimas do citocromo P450, que com sua ação pode gerar compostos potencialmente tóxicos ou carcinogênicos. Situação não percebida aqui, e que sugere que mesmo aqueles metabólitos produzidos por esses extratos não foram mutagênicos.

Com relação às localidades, nas condições testadas, os aspectos ambientais não determinaram diferença quanto ao efeito tóxico/mutagênico, apesar de pesquisas indicarem uma relação direta entre os fatores ambientais como pluviosidade, vento, temperatura, pressão atmosférica, qualidade do solo e a atividade mutagênica de plantas (DJERRAD; KADIK; DJOUAHRI, 2015; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Os fatores bióticos atribuídos à planta, como a idade, também devem ser levados em consideração. Plantas jovens podem ter acúmulo e distribuição de substâncias de maneira diferente das plantas mais velhas, uma vez que ao longo do crescimento da planta novos órgãos vão surgindo, o que faz com que haja uma flutuação na concentração de certos metabólitos secundários na planta (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

## 5. CONCLUSÃO

Os extratos de *Tithonia diversifolia*, (Hemsl) A. Gray independentemente da localidade de origem do material foliar, não apresentaram ações mutagênicas e toxicidade aguda alta, quando analisada em sangue periférico de camundongos. Esse comportamento, mesmo dentro do esperado por se tratar de um vegetal amplamente usado na medicina tradicional de outros países, reflete uma condição favorável de sua indicação de segurança. Além disso, a verificação de que as condições ambientais não trouxeram um comportamento variável indica uma condição favorável ao seu cultivo, por facilitar a uniformização de modos de manejo dessa planta.

Assim, à luz de outros estudos, a *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray mostra-se como uma promissora espécie para introdução em cultivo, o que poderá favorecer maior

aproveitamento da espécie e reduzir os riscos de sua diminuição nas populações naturais, devido ao extrativismo, condições sempre danosas à preservação de espécies que têm potencial medicinal.

## 6. AGRADECIMENTOS

À FAPES, UFES, CNPq e Capes pelo apoio às pesquisas do LGVT.

## Referências

- ABRAMSSON-ZETTERBERG, L.; GRAWÉ, J.; ZETTERBERG, G. The micronucleus test in rat erythrocytes from bone marrow, spleen and peripheral blood: the response to low doses of ionizing radiation, cyclophosphamide and vincristine determined by flow cytometry. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 423, n. 1, p. 113-124, 1999.
- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant signaling & behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- CAMMERER, Z. et al. Comparison of the peripheral blood micronucleus test using flow cytometry in rat and mouse exposed to aneugens after single-dose applications. **Mutagenesis**, v. 22, n. 2, p.129-34, 2007.
- CAMMERER, Z.; ELHAJOUJI, A.; SUTER, W. *In vivo* micronucleus test with flow cytometry after acute and chronic exposures of rats to chemicals. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 626, n. 1, p. 26-33, 2007.
- CHAGAS-PAULA, D.A. et al. Chlorogenic acids from *Tithonia diversifolia* demonstrate better anti-inflammatory effect than indomethacin and its sesquiterpene lactones. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 2, p. 355- 362, 2011.
- CHAGAS-PAULA, D. A. et al. Ethnobotany, chemistry, and biological activities of the genus *Tithonia* (Asteraceae). **Chemistry & Biodiversity**, v. 9, n. 2, p. 210-235, 2012.
- COSTA, R.M.A.; MENK, C.F.M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**, São Paulo, v. 2, n. 12, p. 24 -26, 2000.
- DA SILVA, N.P.C.; VEIGA, M.J.V.; MACHADO, V.L.L. Entomofauna visitante de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Compositae) durante o seu período de floração. **Bioikos**, v. 13, n. 1/2, p. 19-28, 1999.
- LORKE, D. A new approach to practical acute toxicity testing. **Archives of toxicology**, v. 54, n. 4, p. 275-287, 1983.
- DJERRAD, Z.; KADIK, L.; DJOUAHRI, A. Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 440-449, 2015.
- ELUFIOYE, T.O.; AGBEDAHUNSI, J.M. Antimalarial activities of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Rubiaceae) on mice *in vivo*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 93, n. 2, p. 167-171, 2004.
- FERREIRA, P.I. et al. Experimentação animal: o desenvolvimento de uma nova percepção humana. **Salão do Conhecimento**, v. 2, n. 2, 2016.
- FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.
- ESPÍRITO SANTO. **Governo ES - Geografia**. Disponível em: <<https://es.gov.br/geografia>>. Acesso em: 22 jun 2017.
- GRAHAME-SMITH, D.G.; ARONSON, J.K. Tratado de farmacologia clínica e farmacoterapia. 3rd. ed. Rio de Janeiro. p.83, 2004.
- ESPÍRITO SANTO. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. **Programa de Assistência Técnica e Extensão Rural - Proater 2011-2013**. Santa Teresa, 2011.
- ESPÍRITO SANTO. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. **Programa de Assistência Técnica e Extensão Rural Proater 2011- 2013**. Colatina, 2011.
- KLUMPP, A. et al. Influence of climatic condition the mutations in pollen mother cells of *Tradescantia* clone 4430 and implications for the Trad-MCN bioassay protocol. **Hereditas**. v. 141, p. 142-148, 2004.
- KAMATENESI-MUGISHA, M. et al. Oral acute toxicity study of selected botanical pesticide plants used by subsistence farmers around the Lake Victoria Basin. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 7, n. 3, p. 93-101, 2013.
- KRISHNA, G.; HAYASHI, M. *In vivo* rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. **Mutation Research**, v. 20, n. 455, p.155- 166, 2000.
- LOURENCO, J.A. et al. Ausência de mutagenicidade e antimutagenicidade do extrato obtido das flores do ipê roxo [*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl.]. **Rev. bras. plantas med.**, v. 12, n. 4, p. 414-420, 2010.
- LUTOSA, C.F.P.; CHO, L.Y. Aplicação das folhas de *Tithonia diversifolia* como fertilizantes para o cultivo de *Celosia plumosa*. **IV Encontro Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba**. v. 1, n. 1, p 1201-1203, 2004.
- MAIER, P.; SCHMID, W. Ten model mutagens evaluated by the micronucleus test. **Mutation Research/ Genetic Toxicology**, v. 40, n. 4, p. 325-337, 1976.
- MIURA, T. et al. Antidiabetic effect of Nitobegiku, the herb *Tithonia diversifolia*, in KK-Ay diabetic mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 11, p. 2152-2154, 2005.
- NASH, D.L.; WILLIAMS, L.O. Flora of Guatemala, Compositae. In: **Fieldiana: Botany**, v. 24, Part XII. Chicago: Field Museum of Natural History, 1976.
- OLUKUNLE, J.O. et al. Hypoglycaemic and Hypolipidaemic Effects of the Aqueous Leaf Extracts of *Tithonia diversifolia*. **Annual Research & Review in Biology**, v. 4, n. 16, p. 2655, 2014.
- OWOYELE, V.B. et al. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. **Journal of ethnopharmacology**, v. 90, n. 2, p. 317-321, 2004.
- RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. **Mutagênese ambiental**. Canoas: ULBRA, 2003.
- RODRIGUES, M.A.C. et al. Carvedilol protects the kidneys of tumor-bearing mice without impairing the biodistribution or the genotoxicity of cisplatin. **Chemico-biological interactions**, v. 245, p. 59-65, 2016.
- SANTOS, R.I dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: **SIMÕES; SCHENKEL; GOSMANN; MELLO**, p. 403-434, 2004.
- TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.
- VARANDA, E.A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2006.
- ZACARIAS, C.H.A importância da FISPQ no processo de gerenciamento de risco químico-uma visão crítica e conceitual. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 2, n. 2, 2015.
- WANJAU, S.; MUKALAMA, J.; THIJSSSEN, R. Biomass transfer: Harvesting free fertiliser. **ILEIA Newsletter**, v. 13, n. 3, p. 25, 1998.

# CAPÍTULO 4

## **DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO E DAS AÇÕES ANTIMUTAGÊNICA E ANTIOXIDANTE DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE *Solanum* sp EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE**

*DETERMINATION OF YIELD AND ANTIMUTAGENIC AND ANTIOXIDANT  
ACTIONS OF SECONDARY METABOLITES OF *Solanum* sp AS A  
FUNCTION OF SEASONALITY*

**Judá Ben-Hur de Oliveira**  
**Jean Carlos Vencioneck Dutra**  
**Miriéli Bernardes Xavier**  
**Suiany Vitorino Gervásio**  
**Mainã Mantovanelli da Mota**  
**Lana Bonfim da Silva**  
**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**



## Resumo

As plantas de caráter fitoterápico são utilizadas pela sociedade desde a antiguidade e colaboram para a obtenção de fármacos, entretanto, é necessário de estudar sua provável mutagenicidade e genotoxicidade no organismo. Apesar da ação protetora dos vegetais, muitos ainda não foram investigados quanto à sua composição. Para o uso adequado de plantas na terapia, testes podem ser utilizados, sendo a avaliação pré-clínica um passo importante na produção de um medicamento ou utilização de uma planta como medicinal. O câncer, bem como o diabetes, é considerado um problema de saúde pública, em vista de sua amplitude epidemiológica, social e econômica. O diabetes e o câncer são doenças associadas com a redução dos antioxidantes endógenos e aumento do estresse oxidativo. O presente estudo é relevante por apresentar dados de ensaios antioxidantes, mutagênicos, citotóxicos, anticitotóxicos, além da ação antiglicêmica, a partir de extratos obtidos da planta em diferentes épocas do ano (estação seca e chuvosa). Os resultados mostram que a disponibilidade hídrica interfere na produção de metabólitos secundários, pois o déficit hídrico ocasionou no aumento da atividade antioxidante. Não foram observados resultados positivos para a diminuição da glicemia, como descrito em algumas literaturas. Foram observados efeitos citotóxicos para as duas linhagens celulares avaliadas (linfócitos humanos e sarcoma 180). Para a anticitotoxicidade, não houve prevenção significativa dos danos causados pela cisplatina e no teste de micronúcleo houve considerável diminuição de danos causados pela STZ na menor dose avaliada (50 mg.kg<sup>-1</sup>).

**Palavras-chave:** Micronúcleo, Jurubeba, Mutagenicidade, MTT, Sazonalidade.

## Abstract

Herbal plants have been used by society since ancient times and collaborate to obtain drugs, however, it is necessary to study their probable mutagenicity and genotoxicity in the body. Despite the protective action of plants, many of them have not been investigated yet for their composition. For the proper use of plants in therapy, tests can be used, and pre-clinical evaluation is an important step in the production of a drug or use of a plant as medicinal. Cancer, as well as diabetes, is considered a public health problem, in view of its epidemiological, social and economic scope. Diabetes and cancer are diseases associated with reduced endogenous antioxidants and increased oxidative stress. The present study is relevant for presenting data from antioxidant, mutagenic, cytotoxic, anticytotoxic assays, in addition to the antiglycemic action, from extracts obtained from the plant at different times of the year (dry and rainy seasons). The results show that water availability interferes in the production of secondary metabolites, because water deficit causes an increase in antioxidant activity. No positive results were observed for the decreased blood glucose as described in some literature. Cytotoxic effects were observed for the two cell lines evaluated (human lymphocytes and sarcoma 180). For anticytotoxicity, there was no significant prevention of damage caused by cisplatin and in the micronucleus test there was a considerable decrease in damage caused by STZ at the lowest dose evaluated (50 mg.kg<sup>-1</sup>).

**Keywords:** : Micronucleus, Jurubeba, Mutagenicity, MTT, Seasonality.

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura do uso de medicamentos naturais é uma prática muito antiga utilizada pela sociedade e muito disseminada nos tempos atuais (VARANDA, 2006). As plantas de caráter fitoterápico colaboram com um importante papel na obtenção de fármacos (YUNES; CALIXTO, 2001) e sua correta utilização pode trazer vantagens à saúde, entretanto, há a necessidade de estudar seus efeitos de mutagenicidade e genotoxicidade no organismo (NUNES; ARAÚJO, 2003).

Muitas das plantas usadas para fins medicinais não são cultivadas sob condições controladas e estão sujeitas às variações ambientais, como variações sazonais, o que inclui mudanças de temperatura e oscilações de precipitação. Neste contexto, os estresses bióticos e/ou abióticos podem interferir no metabolismo das plantas medicinais, modificando vias biossintéticas e, conseqüentemente, o conteúdo/disponibilidade destas substâncias (PACIFICO et al., 2015).

Para a avaliação do uso adequado de uma planta sob o ponto de vista terapêutico, uma série de testes e ensaios podem ser utilizados, sendo a avaliação pré-clínica um dos primeiros passos da produção de um medicamento ou mesmo da adequada utilização de uma planta como medicinal. Dentre os testes avaliativos, há o teste de micronúcleo *in vivo* que é utilizado para a análise de efeitos mutagênicos, sendo recomendado por agências reguladoras no mundo todo como parte da avaliação de segurança de um produto com finalidade terapêutica (KLUMPP et al., 2004).

O câncer é considerado um problema de saúde pública, em vista de sua amplitude epidemiológica, social e econômica. A incidência de casos de neoplasia tem sido crescente, seja pelo aumento da exposição aos fatores cancerígenos, pelo envelhecimento populacional ou pelo aprimoramento das tecnologias para o diagnóstico (BATISTA; MATTOS; SILVA, 2015).

A utilização das plantas no cuidado à saúde está se ampliando, principalmente entre as pessoas que apresentam alguma doença crônica, como o Diabetes mellitus (DM). Essa é uma doença que ocorre quando o pâncreas não produz insulina em quantidade suficiente ou quando o organismo não consegue utilizar com eficiência a insulina produzida (FEIJÓ et al., 2012). A hiperglicemia é um efeito comum da doença quando não controlada e, com o passar do tempo, causa lesões graves ao organismo, principalmente aos sistemas nervoso e sanguíneo (WHO, 2022).

O diabetes e o câncer são doenças também associadas com a redução dos antioxidantes endógenos e aumento do estresse oxidativo, sendo que terapias com antioxidantes têm sido praticadas para inibir o início destas doenças, além de melhorar algumas complicações a ela associadas (GOUVEIA; LIMA, 2017; MCCUNE; JOHNS, 2007).

Dentre as plantas utilizadas pela população para o controle do diabetes, *Solanum* sp. (jurubeba) costuma ser citada em estudos de etnobotânica (FEIJÓ et al., 2012; BOLSON et al., 2015). Pesquisas demonstraram potencial antimutagênico e ausência de genotoxicidade referentes à plantas do gênero *Solanum* (HERNANDES et al., 2014; MUNARI et al., 2012), propriedades hipoglicemiantes (KAR et al., 2006; PEREZ et al., 2006) e antioxidantes (HSU et al., 2011; WANG; HSU; YIN, 2012), além de possuir variedade de meta-

bólitos secundários como alcalóides esteroidais, saponinas, terpenos e etc. (WINK, 2003).

Tendo em vista estudos anteriores que indicam potencial uso medicinal para a espécie *Solanum* sp., o presente estudo visa avaliar a atividade antioxidante, os efeitos mutagênicos *in vivo* (roedores) e atividade antiproliferativa (MTT) de extratos brutos obtidos de folhas de *Solanum* sp. coletadas em épocas de diferentes condições climáticas (estação chuvosa e seca), no sentido de ampliar as informações sobre as atividade biológicas da espécie e verificar a possível interferência de condições ambientais nas ações dessa planta, contribuindo assim para o uso seguro de plantas medicinais pela população.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta de informações meteorológicas

As informações meteorológicas, necessárias para estabelecer as estações de observação, foram provenientes do site do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), no quesito de índice pluviométrico e umidade relativa do ar nos anos de coleta do material vegetal.

### 2.2 Obtenção do extrato vegetal

O material avaliado é parte do banco de extratos do Laboratório de Genética de Plantas e Toxicológica, localizado na Universidade Federal do Espírito Santo. As folhas de um mesmo espécime de *Solanum* sp. foram coletadas em estações de seca (2015) e chuvosa (2016) no Horto da Prefeitura Municipal de Vitória-ES, Brasil e utilizadas para obtenção do extrato. O extrato bruto foi obtido por maceração exaustiva, em etanol absoluto P.A. (99,3%) à temperatura ambiente (25-30 °C), protegido da luminosidade durante 7 dias, sendo revolvido diariamente. Posteriormente, o material foi filtrado e concentrado em um evaporador rotatório a vácuo.

### 2.3 Atividade Antioxidante

#### 2.3.1 ABTS

O método descrito por Rufino et al. (2007), com modificações, foi utilizado para verificar a atividade antioxidante do extrato bruto de *Solanum* sp., estimando-se pelo método colorimétrico a partir da captura do radical ABTS<sup>+</sup>, derivado do ácido 2,2'-azinobis(-3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico.

Em 25 mL água destilada, dissolveu-se 96mg de ABTS, armazenando-se em frasco âmbar ao abrigo de luz. Posteriormente, 189,2 mg de persulfato de potássio foram dis-

solvidos em 5mL de água destilada mantido sob abrigo de luz.

O radical ABTS<sup>+</sup> é preparado a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio em reação de 16h ao abrigo de luz e temperatura ambiente. Depois diluiu-se 1 mL da solução em etanol, até obter uma absorbância de  $0,70 \pm 0,05$  nm a 734 nm. Foram dissolvidos 25mg de Trolox em 50 mL de álcool etílico mantidos sob abrigo de luz para utilizar-se como padrão.

A substância teste (extrato vegetal diluído em etanol) e o padrão (Trolox) foram diluídos para a curva padrão, sendo necessárias 7 concentrações seriadas (1000, 500, 250, 125, 62,5 31,25 e 15,625 µg.mL<sup>-1</sup>).

Em cada poço de microplacas de leitor ELISA, adicionou-se 40µL de amostra + 200 µL de solução radical ABTS<sup>+</sup>, sendo executada a leitura em ELISA Epoch BioTek® após 6 mim de incubação ao abrigo de luz, à 734 nm.

Todo o teste foi realizado em triplicata, em comparação com o padrão Trolox e um controle. A percentagem do potencial inibitório do radical ABTS<sup>+</sup> foi calculado por meio da equação:

$$\% \text{ Inibição} = [( \text{absorbância controle} - \text{Abs. amostra} / \text{absorbância controle} )] \times 100$$

### 2.3.2 DPPH

A atividade antioxidante do extrato bruto de *Solanum* sp. foi mensurada pelo método colorimétrico de redução do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), descrito por Rufino et al. (2007), com modificações.

Dissolveu-se 12 mg de DPPH em 100 mL de metanol, armazenado em frasco âmbar, para produção do DPPH como forma radicalar. Em seguida, dissolveu-se 20mg de ácido ascórbico em 20 mL de metanol, para utilizá-lo como padrão.

A substância teste (extrato vegetal diluído em metanol) e o padrão (ácido ascórbico) foram diluídos para a curva padrão, sendo necessárias 7 concentrações seriadas desejada (1000, 500, 250, 125, 62,5 31,25 e 15,625 µg.mL<sup>-1</sup>). Após 30 minutos de reação dos compostos, a absorbância da solução resultante foi mensurada em leitor ELISA Epoch BioTek® à 517 nm. Todo o teste foi realizado em triplicata, em comparação com o padrão ácido ascórbico (Sigma-Aldrich) e um controle. A percentagem do potencial inibitório do radical DPPH• foi calculado por meio da equação:

$$\% \text{ Inibição} = [( \text{absorbância controle} - \text{Abs. amostra} / \text{absorbância controle} )] \times 100$$

## 2.4 Teste do Micronúcleo *in vivo*

Camundongos Swiss albinos machos (n=40) foram obtidos do Biotério Central da UFES e, aleatoriamente, separados em 8 grupos (n=5), dos quais sete foram induzidos à diabetes, por meio da aplicação intramuscular de estreptozotocina (STZ) 100 mg.kg<sup>-1</sup>, após jejum de 6 a 8 horas e um foi usado como grupo controle negativo (CN). A glicemia dos animais foi aferida com o auxílio de um glicosímetro, duas vezes ao dia, para observação do diabetes. Os protocolos citados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Espírito Santo (Certificado - CEUA - 89/2015).

Os animais foram tratados com o extrato por gavagem por 30 dias consecutivos, com exceção do grupo CN, e a glicemia foi aferida 2 vezes por semana. Ao final do tratamento, foi realizada a eutanásia, sendo o sangue periférico extraído da artéria caudal do animal, por perfuração e gotejamento direto na lâmina para análise.

## 2.5 Preparação e análise de lâminas

Duas lâminas de cada animal passaram por esfregaço e foram fixadas em metanol, sendo coradas com Leishman eosina-azul de metileno. Enumeraram-se 1.000 eritrócitos/lâmina, perfazendo um total de 2.000 células/animal, em teste cego e registrando-se o número de eritrócitos normocromáticos micronucleados (MNNCE).

A porcentagem de redução de danos (diminuição da frequência média de células micronucleadas), nas diferentes concentrações, foi calculada de acordo com Manoharan e Banerjee (1985) e Waters et al. (1990), usando a fórmula:

$$(\%) \text{ Redução} = \frac{\text{frequência de MNPCEs em A} - \text{frequência de MNPCEs em B}}{\text{frequência de MNPCEs em A} - \text{frequência de MNPCEs em C}} \times 100$$

onde "A" é o grupo de células tratadas com STZ (controle positivo); "B" é o grupo de células tratadas com o extrato e "C" é o grupo controle negativo (NaCl 0,9%).

## 2.6 Citotoxicidade e atividade antiproliferativa *in vitro* - Ensaio MTT

O princípio deste ensaio baseia-se na redução do MTT em um produto com a coloração violeta (MTT-formazan) pela enzima mitocondrial tetrazolium-succinato-desidrogenase. Dessa forma o brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) foi usado para avaliar a viabilidade celular. A conversão só ocorre em células viáveis. Após o tratamento, as microplacas foram centrifugadas a 860 rcf durante 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e 20 µL de MTT a 5 mg.mL<sup>-1</sup> foram adicionados a cada poço. Três horas depois, as placas foram centrifugadas a 860 rcf por 5 minutos, o sobrenadante foi descartado e adicionou-se 100 µL de DMSO. A absorbância a 595 nm foi detectada no leitor ELISA Epoch BioTek®. O experimento foi realizado em triplicata.

### 2.6.1 Linfócitos humanos

As células de linfócitos humanos foram obtidas a partir de sangue periférico de doadores saudáveis, com idade média entre 20 e 30 anos, e isoladas pelo método do Ficoll® Paque Plus, com pequenas modificações, e plaqueados em microplaca de 96 poços com  $2 \times 10^5$  células em cada poço. E para a avaliação da citotoxicidade, essas células foram tratadas com os dois extratos de *Solanum* sp. diluídos em água nas concentrações 10,0; 50,0 e 100  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  por 24h e 48h. Para a avaliação da anti-citotoxicidade, as células receberam os extratos de *Solanum* sp. com adição de cisplatina (50,0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), agente citotóxico, seguindo protocolos de pré-tratamento e tratamento simultâneo. No pré-tratamento, as células recebem primeiro o extrato e 24h depois, o agente citotóxico (cisplatina). No tratamento simultâneo, recebem o extrato e a cisplatina simultaneamente. Ao final do tempo de exposição ao extrato, os linfócitos humanos foram submetidas ao teste de viabilidade celular pelo método do brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT). Os protocolos citados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Espírito Santo (Certificado 2.333.879).

### 2.6.2 Sarcoma-180

Os protocolos citados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFES (Parecer: 89/2015). As células de sarcoma-180 foram adquiridas do Banco de Células do Rio de Janeiro e mantidas sob as devidas condições de cultura e suplementadas com antibióticos. As células foram cultivadas em microplaca de 96 poços, 100 $\mu\text{L}$  de células ( $2 \times 10^5$  células/mL) em cada poço e mantidas a 37 °C em atmosfera úmida, na presença de 5% de  $\text{CO}_2$ . As células foram tratadas com os extratos de *Solanum* sp. nas concentrações de 10,0; 50,0 e 100,00  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  por 24h e 48h. As células do grupo controle não foram tratadas e as células do grupo cisplatina foram tratadas com cisplatina a 50,0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Após o fim do tratamento, a viabilidade celular foi avaliada pelo método de redução do MTT.

## 2.7 Análise estatística

Todos os resultados foram tabulados e os valores expressos como média  $\pm$  erro padrão. Os dados de ensaios antioxidantes foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de comparação múltipla de Tukey ao nível de probabilidade de 5%. Os dados de teste antimutagenicidade de micronúcleos, atividade citotóxica e anticitotóxica foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de *post hoc* Dunnett ( $p < 0,0001$ ), enquanto que a comparação entre os tratamentos (linfócitos humanos e sarcoma 180) foi realizada com teste *t* para múltiplas comparações ( $p < 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Dados meteorológicos - 2015/2016

Os dados obtidos no Sistema de Informações Meteorológicas do INCAPER indicaram que o clima na região do Espírito Santo, nos anos em que as amostras vegetais foram coletadas, apresentou variações consideráveis quanto aos índices pluviométrico e de umidade relativa do ar. A umidade relativa do ar variou de moderada seca, em 2015, à umidade incipiente, em 2016. Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), esse fator é importante na produção dos metabólitos secundários das plantas, e assim deve também ser considerado para essas duas espécies avaliadas no presente estudo. Quanto ao índice de precipitação pluviométrico anual do Espírito Santo, em 2015, a margem da variação se mostrou abaixo dos 800 mm<sup>3</sup>, sendo um fator decisivo para a seca moderada apresentada na região. No ano seguinte, os níveis de precipitação se mostraram melhores, em torno de 1100 e 1200 mm<sup>3</sup>, culminando o quadro de umidade incipiente apresentado (INCAPER, 2015; 2016).

#### 3.2 Atividade antioxidante

Na Figura 1, observam-se os resultados da determinação da atividade antioxidante pelo método do ABTS. Tais resultados indicam que o extrato do material coletado em 2015 apresentou alta capacidade antioxidante em todas as concentrações, sendo que nas menores concentrações, a partir de 62,50 µg.mL<sup>-1</sup>, o extrato demonstrou atividade superior àquela exibida pelo Trolox. O material coletado em 2016, originou um extrato que não exibiu a mesma condição antioxidante, tendo uma redução acentuada desta atividade desde a concentração de 250,0 g.mL<sup>-1</sup>.

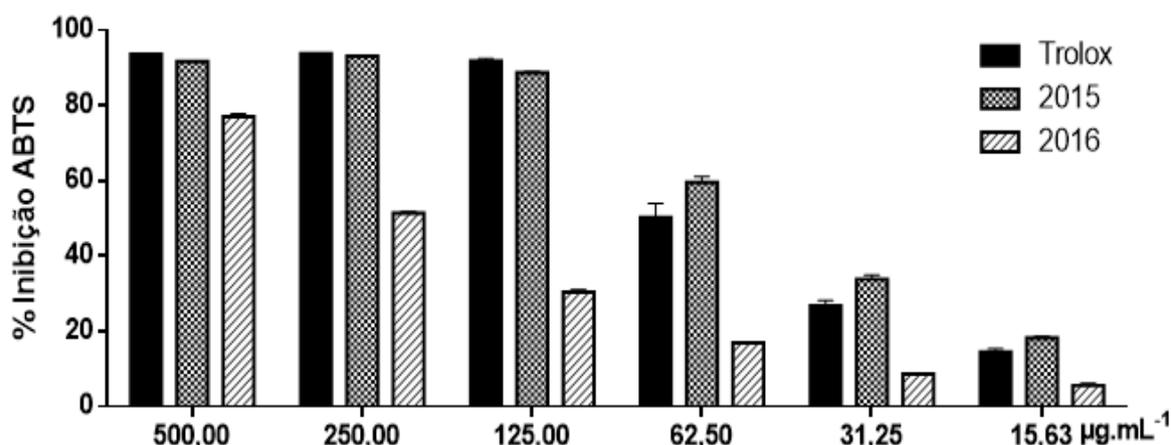


Figura 1 – Atividade antioxidante frente ao radical ABTS de *Solanum* sp. nos anos de 2015 e 2016  
Fonte: Autoria própria (2022)

No ensaio DPPH, o extrato de *Solanum* sp. teve um comportamento similar àquele exposto para o método do ABTS, ou seja, sua atividade antioxidante reduz à medida que as doses diminuíram e, também, houve um comportamento distinto de acordo com o ano de coleta, sendo os resultados de 2015 mais satisfatórios que os de 2016, demonstrando a influência das condições ambientais, como por exemplo a seca, nesta atividade biológica (Figura 2).

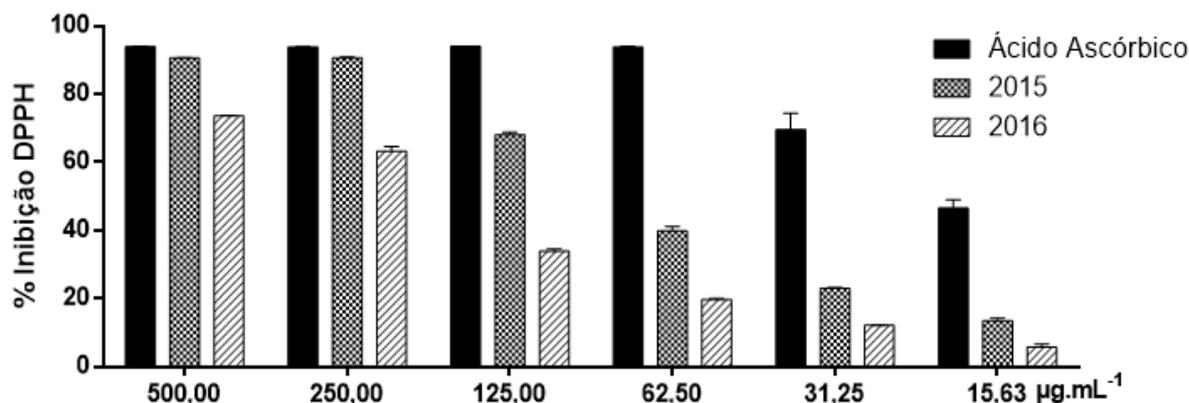


Figura 2 – Atividade antioxidante frente ao radical DPPH de *Solanum* sp. nos anos de 2015 e 2016  
Fonte: Autoria própria (2022)

Abdulkadir, et al. (2016), em estudos com *Solanum torvum* Swartz. determinaram que os extratos de folhas desta planta apresentam um alto conteúdo de flavonoides e, conseqüentemente, uma atividade antioxidante (DPPH) maior do que a expressa pelos extratos de frutos e caules dessa espécie e, sugerem que esse conteúdo tenha relação direta com a atividade antioxidante mais acentuada exibida pelas preparações obtidas desse órgão vegetal.

Como 2015 foi um ano de seca moderada, tendo como base os dados fornecidos pelo INCAPER, podemos sugerir que o estresse hídrico, ao qual as plantas foram submetidas, culminou em um aumento na produção de metabólitos secundários, assim como num aumento da concentração fenólica (flavonoides e taninos) e, conseqüentemente, a melhores resultados na ação antioxidante que são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação (ANTUNES; CANHOS, 1984; BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; ZHENG; WANG, 2001; FENNEMA, 1993; SIMÃO, 1985).

Em 2016, o clima com umidade incipiente ocasionou um excesso de irrigação levando, possivelmente, a uma diminuição na concentração dos metabólitos secundários nas folhas das plantas e, por conseguinte, determinou resultados um pouco abaixo daqueles exibidos na análise das amostras do ano anterior.

### 3.3 Teste de micronúcleos

A partir da análise da frequência de eritrócitos normocromáticos micronucleados (MNNCE), os resultados demonstraram que a concentração de 50 mg.kg<sup>-1</sup> do extrato de *Solanum* sp. foi efetiva em reduzir os danos genômicos promovidos pela STZ, sendo que o índice relativo de redução de danos desta concentração foi de 79,81%, vide figura 3. Entretanto, as concentrações de 100,0 e 200,0 mg.kg<sup>-1</sup> não apresentaram valores, significativamente, diferentes daqueles observados no grupo que recebeu apenas a dose de STZ (50 mg.kg<sup>-1</sup>), demonstrando com isso que tais concentrações não foram efetivas em reduzir os possíveis danos mutagênicos ocasionados pela droga.

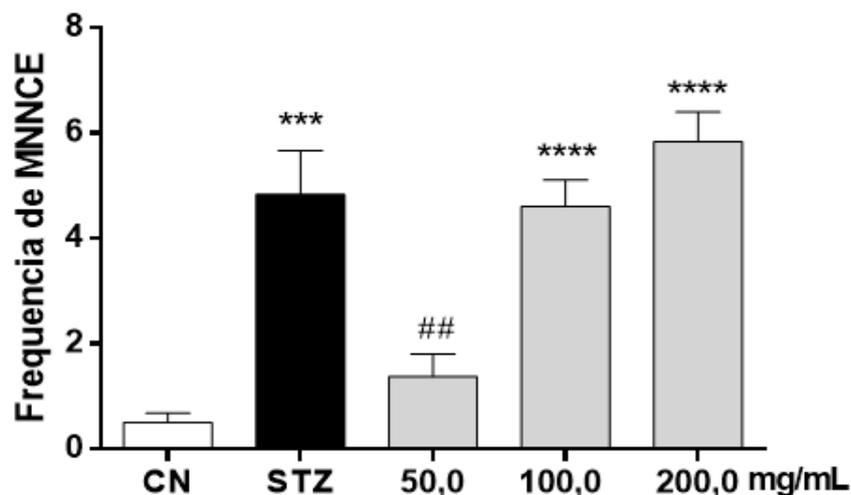


Figura 3 – Frequência de eritrócitos normocromáticos micronucleados (NCEMN) em camundongos após 30 dias de tratamento com extrato etanólico de *Solanum* sp. (CN) - controle negativo; Extratos brutos de *Solanum* sp.: (J50) – 50 mg.kg<sup>-1</sup> (J100) – 100 mg.kg<sup>-1</sup>, (J200) – 200 mg.kg<sup>-1</sup>. Dados apresentados em média ± erro padrão. ANOVA (p<0,05) pós-teste Dunnett

Fonte: Autoria própria (2022)

O fato de a frequência de NCEMN não diferir do controle negativo (CN) na dose de 50 mg.kg<sup>-1</sup> dos grupos tratados com *Solanum* sp. sugere uma atividade antimutagênica desses extratos brutos, nesta concentração. Em contraposição à ação exibida pela concentração de 50 mg.kg<sup>-1</sup>, as concentrações de 100 e 200 mg.kg<sup>-1</sup> apresentaram um comportamento indicativo de uma ação não corretiva.

Em seus estudos, Vieira (2013) utilizou diferentes concentrações (25, 50 ou 100 mg.kg<sup>-1</sup>) do extrato de *Solanum paniculatum*, em experimentos com camundongos e, apesar das doses usadas serem similares às do nosso ensaio, o autor verificou ausência de genotoxicidade na dose de 100 mg.kg<sup>-1</sup>. Tal condição pode ser explicada por vários fatores como, a espécie usada, o local e a condição da planta no momento da coleta e, também, ao fato de usarmos as concentrações em um ensaio em que os animais já haviam sido expostos a um provável agente causador de danos.

### 3.4 Glicemia

A literatura relata o uso de *Solanum* sp. no tratamento de diabetes (ALVES, 2016). Contudo, após 30 dias de tratamento os extratos de *Solanum* sp. não foram capazes de reduzir o índice glicêmico. O controle negativo apresentou índice glicêmico abaixo de 200 mg.dL<sup>-1</sup>, o que é considerado o quadro normal no organismo. Entretanto, os animais que receberam o tratamento com concentrações de 50, 100 e 200 mg.kg<sup>-1</sup> de extrato não apresentaram redução do índice glicêmico, mantendo os níveis de glicose acima de 400 mg.dL<sup>-1</sup>.

Apesar de a redução da glicemia ser uma característica muito relacionada, pela população e por estudos científicos à *Solanum* sp., tal comportamento não foi observado nos experimentos aqui avaliados e, há diferentes opiniões e resultados na literatura quanto a

esta capacidade expressa pelas espécies em foco.

Em relação à avaliação das plantas do gênero *Solanum*, os frutos de *S. lycocarpum* St. Hil. são utilizados, tradicionalmente, no tratamento do diabetes, obesidade, inflamações, hipertensão e para diminuir as concentrações de colesterol sanguíneo (CRUZ, 1982; VIEIRA et al., 2003). No entanto, em estudos realizados com o polvilho de lobeira (*S. lycocarpum* St. Hil.) em ratos portadores de diabetes induzido por STZ não foi possível evidenciar o efeito hipoglicemiante quando administradas doses entre 1 e 2 g.kg<sup>-1</sup>, durante 7 dias (OLIVEIRA et al., 2003).

Contudo em outro estudo, conduzido por Farina et al. (2010), foram observadas reduções na glicemia e alterações de parâmetros fisiológicos (volume de urina e volemia) em ratos diabéticos, sugerindo seu potencial uso como adjuvante no tratamento do Diabetes, reforçando a necessidade de ampliação de estudos.

### 3.5 Atividade citotóxica e antiproliferativa *in vitro*

Os efeitos citotóxicos dos extratos brutos etanólicos de *Solanum* sp. em linfócitos humanos e antiproliferativos em sarcoma-180 são apresentados na figura 4, após 24h de tratamento com a amostra. Observa-se que, após as 24h de exposição, ambos os extratos (estação seca e chuvosa) reduziram de forma significativa a viabilidade celular, tanto de células saudáveis quanto as tumorais, nas doses testadas. A maior dose (100,0 µg.mL<sup>-1</sup>) do extrato produzido de 2016, (estação chuvosa), apresenta nível maior de citotoxicidade para as células de sarcoma-180 ( $p=0.0124$ ).

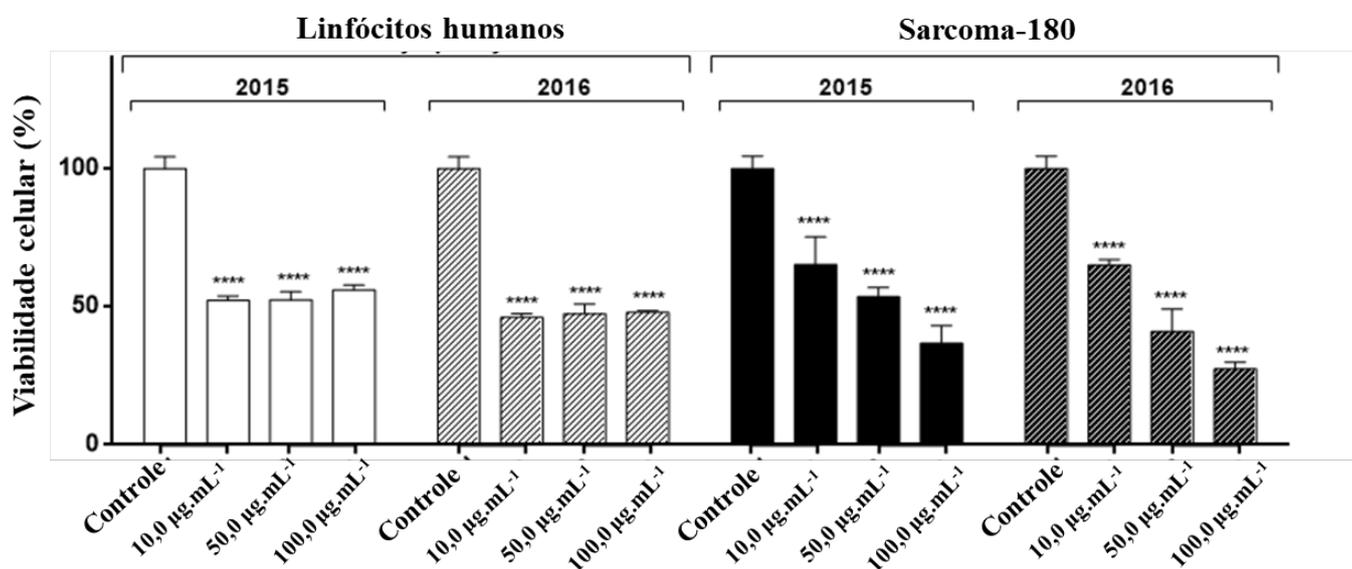


Figura 4 – Percentual de viabilidade celular de linfócitos humanos e Sarcoma-180 24h após tratamento com doses dos extratos etanólicos das folhas de *Solanum* sp., coletada em estação seca e chuvosa, pelo método do MTT. Valores expressos em média ± desvio padrão (n=3). Controle - células não tratadas; doses de extrato de *Solanum* sp. - células tratadas com 10,0, 50,0 e 100,0 µg.mL<sup>-1</sup>; 2015 - estação seca; 2016 - estação chuvosa. A viabilidade celular foi comparada com seus respectivos controles pela ANOVA *post hoc* teste de Dunnett - \*\*\*\* $p < 0,0001$  - células tratadas com doses de *Solanum* sp. vs. grupo controle de linfócitos humanos ou sarcoma-180. A comparação entre linfócitos humanos e sarcoma-180 tratados foi realizado pelo teste *t* para múltiplas comparações ( $p < 0,05$ )

Fonte: Autoria própria (2022)

Os efeitos citotóxicos dos extratos brutos etanólicos de *Solanum* sp. em linfócitos humanos e os efeitos antiproliferativos em sarcoma-180 após 48h, foram dispostos na Figura 5, identificando os resultados observados para os dois extratos (estação seca e chuvosa).

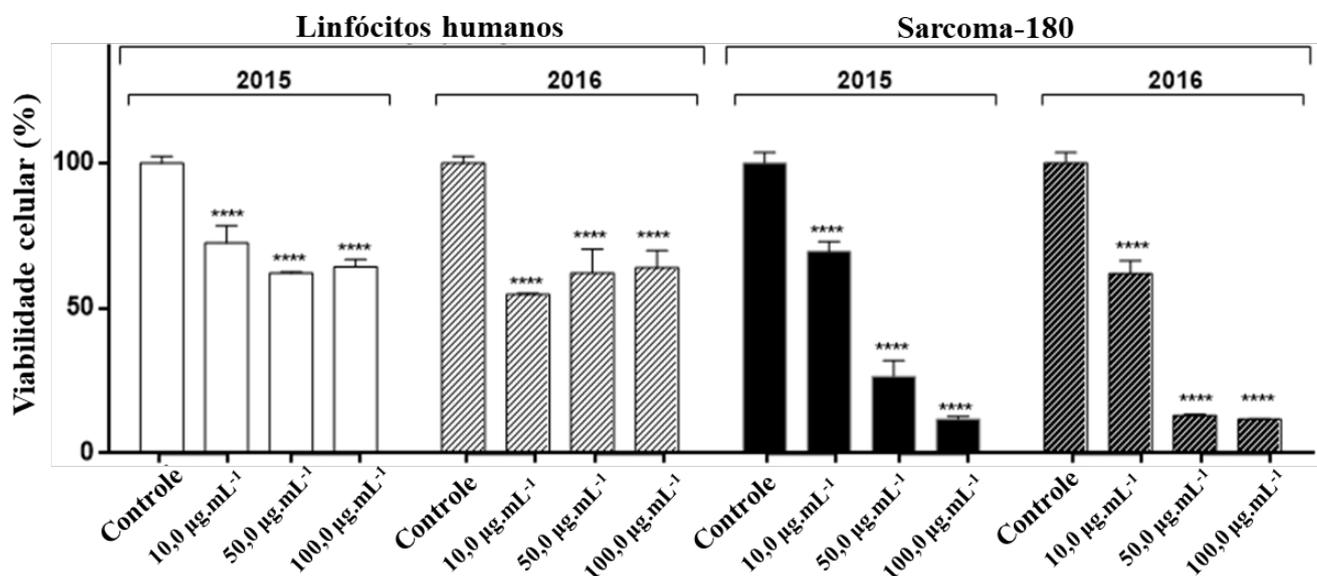


Figura 5 – Percentual de viabilidade celular de linfócitos humanos e Sarcoma-180 48h após tratamento com doses dos extratos etanólicos das folhas de *Solanum* sp., coletada em estação seca e chuvosa, pelo método do MTT

Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão (n=3). Controle - células não tratadas; doses de extrato de *Solanum* sp. - células tratadas com 10,0, 50,0 ou 100,0  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ; 2015 - estação seca; 2016 - estação chuvosa. A viabilidade celular foi comparada com seus respectivos controles pela ANOVA *post hoc* teste de Dunnett - \*\*\*\* $p < 0,0001$  - células tratadas com doses de *Solanum* sp. vs. grupo controle de linfócitos humanos ou sarcoma-180. A comparação entre linfócitos humanos e sarcoma-180 tratados foi realizado pelo teste *t* para múltiplas comparações ( $p < 0,05$ )

Fonte: Autoria própria (2022)

Após 48h de exposição, as doses testadas foram citotóxicas tanto para os linfócitos quanto para o sarcoma-180. As doses de 50.0 e 100.0  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  foram mais citotóxicas para as células de sarcoma 180 do que para os linfócitos humanos em ambos os extratos ( $p < 0.0001$ ). Com isso, o extrato produzido com o material vegetal coletado na estação chuvosa (2016) demonstrou ser o mais promissor para a atividade anticâncer.

O trabalho de Thomas (2022), corrobora com o presente estudo, ao avaliar o efeito citotóxico de nanopartículas de ZnO produzidas a partir do extrato metanólico de folhas de *Solanum nigrum* em linhagem de célula tumoral, proveniente do câncer de colo do útero, onde foi observada uma relação dose dependente de citotoxicidade. Gabrani (2012), também relata a citotoxicidade dose-dependente em células de linhagem tumoral advindas de células leucêmicas humanas, com o uso do extrato aquoso de *Solanum nigrum*. Li (et al., 2008), relatam ação citotóxica para linhagens tumorais e saudáveis, de células de câncer cervical e linfócitos humanos, respectivamente. O estudo menciona uma ação citotóxica maior para células tumorais e muito baixa para células saudáveis.

Os dados retomam para importância da utilização dos extratos de *Solanum* sp. na interrupção da proliferação de células de linhagens tumorais, uma vez que diferentes formas de produção dos extratos têm demonstrado ação citotóxica. Entretanto, é importante determinar que compostos estão envolvidos em tal atividade e como diminuir ou anular esta, nos mecanismos de proliferação de células saudáveis.

### 3.6 Atividade anticitotóxica *in vitro*

Os resultados obtidos nos ensaios de anti-citotoxicidade segundo os protocolos de pré-tratamento são apresentados na Figura 6. Ambos extratos não foram capazes de prevenir o dano citotóxico induzido pela cisplatina com as doses testadas nos protocolos citados, com exceção da dose de 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  no ano de 2015.

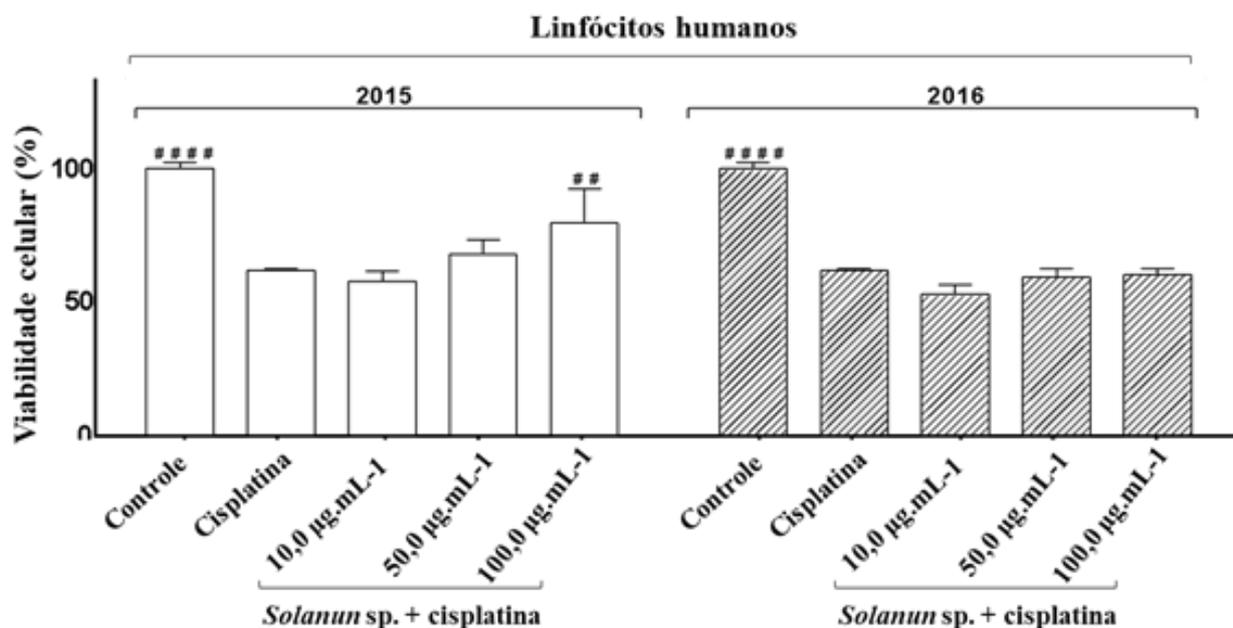


Figura 6 A – Percentual de viabilidade celular de linfócitos humanos segundo os protocolos de anti-citotoxicidade em pré-tratamento. Resultados analisados 24h após o tratamento com doses dos extratos etanólicos de *Solanum* sp., pelo método do MTT visando prevenir as células de danos futuros advindos da cisplatina. Valores expressos em média  $\pm$  DP (n=3).. Controle - células não tratadas; Cisplatina - células tratadas com cisplatina (50,0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ); doses de extrato de *Solanum* sp. - células tratadas com 10,0, 50,0 ou 100,0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 2015 - estação seca; 2016 - estação chuvosa.. A viabilidade celular nos protocolos de anti-citotoxicidade foi comparada com o grupo de células tratadas com cisplatina pela ANOVA *post hoc* teste de Dunnett - \*\*\*\* $p < 0,0001$  - grupo de células tratadas com cisplatina vs. grupo controle ou células tratadas com doses de *Solanum* sp

Fonte: Autoria própria (2022)

Após 24h de tratamento, o extrato de *Solanum* sp. obtido com folhas de estação seca (2015), na concentração de 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  foi capaz de impedir o dano citotóxico gerado pelo mutágeno cisplatina, entretanto, nas menores concentrações não foi observada redução. O extrato de *Solanum* sp. produzido com folhas de estação chuvosa (2016) não foi capaz de prevenir as células do dano causado pela cisplatina, mantendo valores de percentagem de células viáveis similares ao controle positivo da cisplatina.

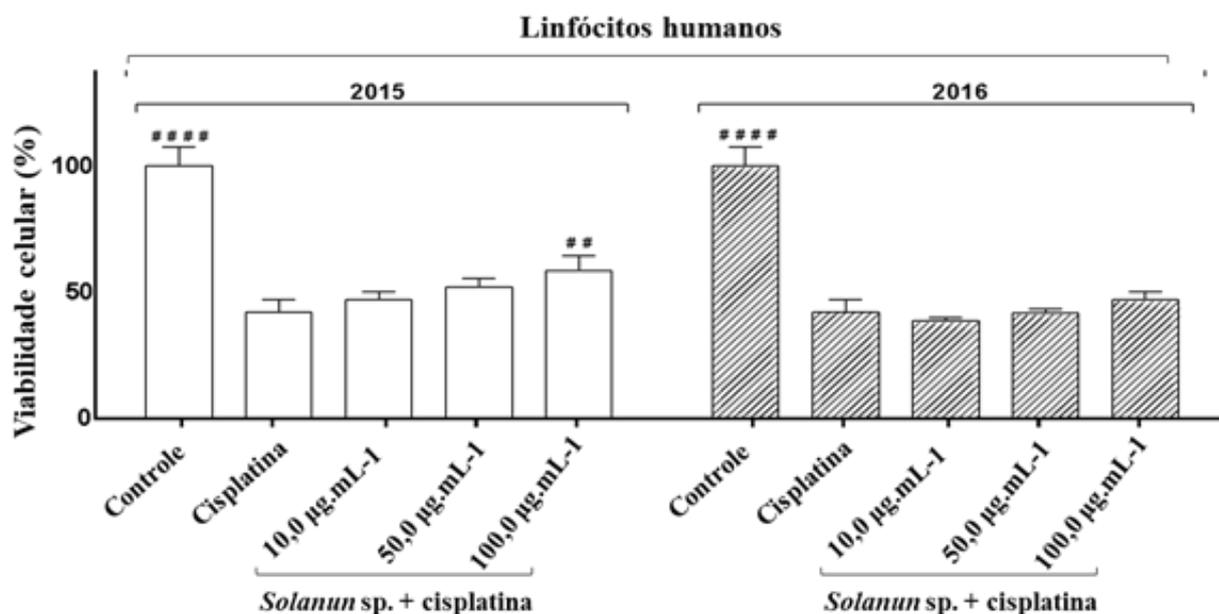


Figura 7 – Percentual de viabilidade celular de linfócitos humanos segundo os protocolos de anti-citotoxicidade em tratamento simultâneo dos extratos juntamente com cisplatina. Resultados analisados 48h após o tratamento com doses dos extratos etanólicos de *Solanum* sp., coletada em estação seca e chuvosa, pelo método do MTT. Valores expressos em média  $\pm$  DP (n=3).. Controle - células não tratadas; Cisplatina - células tratadas com cisplatina ( $50,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ); doses de extrato de *Solanum* sp. - células tratadas com  $10,0$ ,  $50,0$  ou  $100,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ; 2015 - estação seca; 2016 - estação chuvosa.. A viabilidade celular nos protocolos de anti-citotoxicidade foi comparada com o grupo de células tratadas com cisplatina pela ANOVA *post hoc* teste de Dunnett -  $****p < 0,0001$  - grupo de células tratadas com cisplatina vs. grupo controle ou células tratadas com doses de *Solanum* sp.

Fonte: Autoria própria (2022)

No tratamento simultâneo, onde observa-se a capacidade de uma amostra de inibir a ação de um agente citotóxico concomitantemente. Dessa forma, os extratos de *Solanum* sp. de ambas as estações não foram capazes de impedir o dano causado às células de linfócito (Figura 7).

Apesar dos dados obtidos não apresentarem resultados significativos para atividades anticitotóxicas, Wang (2021), observou, ao avaliar 16 substâncias isoladas do extrato etanólico de plantas inteiras de *Solanum lyratum* Thunb, que 2 componentes eram responsáveis por inibir de forma significativa a atividade de células de câncer de fígado.

Os resultados do presente estudo, sugerem, que os extratos produzidos por *Solanum* sp. não conseguem promover a atividade direta sobre a cisplatina, não promovendo, assim, a inativação dos compostos citotóxicos em ambos os tratamentos (pré-tratamento e simultâneo) (MARULLO, 2013; DAMIA et al., 1996).

A cisplatina é uma molécula com altas capacidades reativas, utilizada largamente no tratamento e combate ao câncer, devido a sua tendência a se ligar a moléculas como RNA, DNA e proteínas, gerando diferentes efeitos (OLIVERO et al., 1997; YANG, 2006; SANTOS, 2007; DEHNE, 2001; JIANG, 2008).

## 4. CONCLUSÃO

Nos anos em que as amostras vegetais foram coletadas foram observadas variações consideráveis quanto aos índices pluviométrico e de umidade relativa do ar.

É notável a correlação existente entre o déficit hídrico e produção de metabólitos secundários, tendo em vista que os extratos de *Solanum* sp. apresentaram alta atividade antioxidante, que pode ser relacionada com a ação de metabólitos presentes nos vegetais capazes de inibir ações oxidantes.

No ensaio de micronúcleos, os resultados demonstraram que a concentração de 50 mg.kg<sup>-1</sup> do extrato de *Solanum* sp. foi efetiva em reduzir os danos genômicos promovidos pela STZ em até 79,81%.

Apesar de a literatura relatar o uso de *Solanum* sp. no tratamento de diabetes visando a redução da hiperglicemia, no presente estudo observou-se que após 30 dias de tratamento, os extratos de *Solanum* sp. não foram capazes de reduzir o índice glicêmico em camundongos para níveis normais de glicose (200 mg.dL<sup>-1</sup>), mantendo-se níveis glicêmicos acima de 400 mg.dL<sup>-1</sup>.

Em relação à ação citotóxica e antiproliferativa, ambos os extratos (estação seca e chuvosa) reduziram de forma significativa a viabilidade celular, das células saudáveis e tumorais, nas doses testadas. A dose de 100.0 µg.mL<sup>-1</sup> do extrato da estação chuvosa, apresenta nível maior de citotoxicidade para as células de sarcoma 180. Após as 48h de exposição, as doses testadas foram citotóxicas tanto para os linfócitos quanto para o sarcoma 180. As doses de 50.0 e 100.0 µg.mL<sup>-1</sup> foram mais citotóxicas para as células de sarcoma 180 do que para os linfócitos humanos, usando os extratos oriundos tanto da coleta na estação seca (2015) quanto da estação chuvosa (2016).

## 5. AGRADECIMENTOS

À FAPES, UFES, CNPq e Capes pelo apoio às pesquisas do LGVT.

## Referências

- ABDULKADIR, A.R. et al. *In vitro* antioxidant activity of the ethanolic extract from fruit, stem, and leaf of *Solanum torvum*. **Science Asia**, v. 42, n. 3, p. 184-189, 2016.
- ALVES, M.J.S. et al. **Caracterização e conservação com recobrimento comestível em hortaliças**. 2016.
- ANTUNES, A.J.; CANHOS, V. **Aditivos em Alimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 1984.
- BATISTA, D.R.R.; DE MATTOS, M.; DA SILVA, S.F. Convivendo com o câncer: do diagnóstico ao tratamento. **Revista de Enfermagem da UFSM**, v. 5, n. 3, p. 499-510, 2015.
- BOLSON, M. et al. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, p. 1-10, 2015.

- BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4841-4844, 2001.
- CRUZ, G.L. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. 2ed. São Paulo: Civilização Brasileira, p. 360, 1982.
- DAMIA, G. et al. Sensitivity of CHO mutant cell lines with specific defects in nucleotide excision repair to different anti-cancer agents. **International journal of cancer**, v. 66, n. 6, p. 779-783, 1996.
- DEHNE, N. et al. Cisplatin ototoxicity: involvement of iron and enhanced formation of superoxide anion radicals. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 174, n. 1, p. 27-34, 2001.
- FARINA, F. et al. Glycemic and urinary volume responses in diabetic mellitus rats treated with *Solanum lycocarpum*. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 35, n. 1, p. 40-44, 2010.
- FEIJÓ, A.M. et al. Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, p. 50-56, 2012.
- FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993.
- GABRANI, R. et al. Antiproliferative effect of *Solanum nigrum* on human leukemic cell lines. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, n. 5, p. 451, 2012.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.
- GOUVEIA, S.S.; LIMA, A.A. Relação entre espécies reativas de oxigênio e a promoção carcinogênica. **Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 20, n. 3, p. 174-179, 2017.
- HERNANDES, L.C. et al. In vivo assessment of the cytotoxic, genotoxic and antigenotoxic potential of maná-cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) fruit. **Food research international**, v. 62, p. 121-127, 2014.
- HSU, C. et al. Protective effects of an aqueous extract from pepino (*Solanum muricatum* Ait.) in diabetic mice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 8, p. 1517-1522, 2011.
- ESPÍRITO SANTO. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. **Coordenação de Meteorologia**. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Vitória, 2015. Disponível em: <<https://meteorologia.incaper.es.gov.br/>>. Acesso em: 8 jul 2022.
- ESPÍRITO SANTO. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. **Coordenação de Meteorologia**. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Vitória, 2016. Disponível em: <<https://meteorologia.incaper.es.gov.br/>>. Acesso em: 8 jul 2022.
- JIANG, Y. et al. Implications of apurinic/aprimidinic endonuclease in reactive oxygen signaling response after cisplatin treatment of dorsal root ganglion neurons. **Cancer research**, v. 68, n. 15, p. 6425-6434, 2008.
- KAR, D.M. et al. Studies on hypoglycaemic activity of *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl. fruit extract in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n. 2, p. 251-256, 2006.
- KLUMPP, A. et al. Influence of climatic conditions on the mutations in pollen mother cells of *Tradescantia* clone 4430 and implications for the Trad-MCN bioassay protocol. **Hereditas**, v. 141, n. 2, p. 142-148, 2004.
- LI, J. et al. Antitumor effects of total alkaloids isolated from *Solanum nigrum* *in vitro* and *in vivo*. **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 63, n. 7, p. 534-538, 2008.
- MANOHARAN, K.; BANERJEE, M.R.  $\beta$ -Carotene reduces sister chromatid exchanges induced by chemical carcinogens in mouse mammary cells in organ culture. **Cell Biology International Reports**, v. 9, n. 9, p. 783-789, 1985.
- MARULLO, R. et al. Cisplatin induces a mitochondrial-ROS response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetic functions. **PLoS one**, v. 8, n. 11, p. e81162, 2013.
- MCCUNE, L.M.; JOHNS, T. Antioxidant activity relates to plant part, life form and growing condition in some diabetes remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 3, p. 461-469, 2007.
- MUNARI, C.C et al. Evaluation of cytotoxic, genotoxic and antigenotoxic potential of *Solanum lycocarpum* fruits glicoalkaloid extract in V79 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 10, p. 3696-3701, 2012.
- NUNES, A.P.M.; ARAUJO, A.C. Ausência de genotoxicidade de esteviosídeo em *E. coli*. **Semana de Inicia-**

**ção Científica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro**, v. 10, p. 15, 2003.

OLIVEIRA, A.C.P. et al. The starch from *Solanum lycocarpum* St. Hill. fruit is not a hypoglycemic agent. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 525-530, 2003.

OLIVERO, O.A. et al. Preferential formation and decreased removal of cisplatin–DNA adducts in Chinese hamster ovary cell mitochondrial DNA as compared to nuclear DNA. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 391, n. 1-2, p. 79-86, 1997.

PACIFICO, S. et al. Seasonal variation in phenolic composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of *Calamintha nepeta* (L.) Savi. **Food Research International**, v. 69, p. 121-132, 2015.

PEREZ, A.C. et al. Effect of *Solanum lycocarpum* St. Hill on various haematological parameters in diabetic rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 106, n. 3, p. 442-444, 2006.

RUFINO, M.D.S.M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

RUFINO, M.D.S.M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS<sup>0+</sup>. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

SANTOS, N.A.G. et al. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. **Archives of toxicology**, v. 81, n. 7, p. 495-504, 2007.

SIMÃO, A.M. **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. Tese de Doutorado. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1985.

THOMAS, S. et al. Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles of *Solanum nigrum* and its anticancer activity via the induction of apoptosis in cervical cancer. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 6, p. 2684-2697, 2022.

VARANDA, E.A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, v. 27, n. 1, 2006.

VIEIRA, G. et al. Anti-inflammatory effect of *Solanum lycocarpum* fruits. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 17, n. 8, p. 892-896, 2003.

VIEIRA, P.M. et al. Protective effects of steroidal alkaloids isolated from *Solanum paniculatum* L. against mitomycin cytotoxic and genotoxic actions. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 553-560, 2013.

WANG, X. et al. Amides and lignans from *Solanum lyratum*. **Phytochemistry Letters**, v. 45, p. 25-29, 2021.

WANG, Z.; HSU, C.; YIN, M. Aqueous extract from pepino (*Solanum muricatum* Ait.) attenuated hyperlipidemia and cardiac oxidative stress in diabetic mice. **International Scholarly Research Notices**, v. 2012, 2012.

WATERS, M.D. et al. Antimutagenicity profiles for some model compounds. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 238, n. 1, p. 57-85, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diabetes**. [S.l.]. WHO, 2022. Disponível em: <[https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1)>. Acesso em: 8 jul 2022.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 3-19, 2003.

YANG, Z. et al. Cisplatin preferentially binds mitochondrial DNA and voltage-dependent anion channel protein in the mitochondrial membrane of head and neck squamous cell carcinoma: possible role in apoptosis. **Clinical cancer research**, v. 12, n. 19, p. 5817-5825, 2006.

YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B.; **Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**, Chapecó: Editora Argos, 2001.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.



# CAPÍTULO 5

## **ALELOPATIA E ALELOQUÍMICOS NO BRASIL: UMA REVISÃO**

*ALLELOPATHY AND ALLELOCHEMICALS IN THE BRAZIL: A REVIEW*

**Alex Santos Coswosk**

**Jean Carlos Vencioneck Dutra**

**Vanessa Silva dos Santos**

**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**



## Resumo

**A**lelopatia é um importante tema de Ecofisiologia com reflexos ecológicos de interação vegetal e, conseqüentemente, importante tema para a agricultura. Esta revisão focou em artigos da plataforma SciELO sobre o tema alelopatia, com busca de publicações no Brasil, no período de 2011 a 2021, sendo analisados artigos que abrangeram um total de 141 espécies. Observou-se um grande aumento de registros e número de espécies testadas, em comparação a estudos anteriores sobre o mesmo tema. A revisão apontou que, mais de 70% dos estudos não classificaram os compostos químicos das plantas estudadas e foram laboratoriais, além de que a maioria dos estudos utilizaram as folhas e a forma de preparo predominante foi a de extratos aquosos. A espécie utilizada como organismo teste, em maior proporção, foi *Lactuca sativa*. Não houve uma espécie doadora específica se sobressaindo, apesar de a família Poacea ser a mais presente nos estudos (19,25%). A região do Brasil que produziu mais artigos indexados no SciELO foi a Sudeste, com destaque para São Paulo, estado que também contou com a maior verba de fomento à pesquisa, no período investigado.

**Palavras-chave:** Ecofisiologia, Bioherbicidas, Plantas invasoras.

## Abstract

**A**llelopathy is an important theme of Ecophysiology with ecological reflexes of plant interaction and, consequently, an important theme for agriculture. This review focused on articles from the SciELO platform on the theme allelopathy, searching for publications in Brazil, from 2011 to 2021, and articles covering a total of 141 species that were analyzed. There was a large increase in records and number of species tested, compared to previous studies on the same theme. The review pointed out that more than 70% of the studies did not classify the chemical compounds of the studied plants and were laboratory, in addition to the fact that most studies used the leaves and the predominant form of preparation was that of aqueous extracts. The species used as the test organism, in greater proportion, was *Lactuca sativa*. There was no specific donor species standing out, despite the Poacea family being the most present in the studies (19.25%). The region of Brazil that produced the most articles indexed to SciELO was the Southeast, especially São Paulo, a state that also had the largest funding for research in the period investigated.

**Keywords:** Ecophysiology, Bio-herbicides, Invasive plants.



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Alelopatia

Segundo Reigosa et al. (2013) “o primeiro registro do uso da palavra “alelopatia” foi por Theophrastus (ca. 300 a.C.), discípulo de Aristóteles, que observou, além do efeito no desenvolvimento de plantas invasoras, que plantas de grão-de-bico (*Circer arietium* L.) não enriqueciam o solo como outras plantas”. Aristóteles descreveu em seus trabalhos botânicos como *C. arietium* esgotava o solo (LI et al., 2010). Scavo et al. (2018) atribuíram o “cunho” do termo Alelopatia a Hans Molisch, em 1937, no seu livro “Allelopathie” abrangendo tanto efeitos benéficos quanto efeitos prejudiciais entre todos os tipos de plantas, incluindo também os microrganismos. A palavra alelopatia vem do grego que tendo *allelon* significando “de um para outro” e *phatos* “sofrer” (CORSATO et al., 2016).

Atividades alelopáticas determinam impacto nos organismos vizinhos devido à produção de aleloquímicos, uma vez que esses compostos podem interferir no crescimento e desenvolvimento de outros, seja inibindo ou estimulando essas ações fisiológicas. Os estudos sobre alelopatia se ampliaram e, atualmente, também objetivam verificar os mecanismos fisiológicos (bioquímicos e genéticos) envolvidos nessas interações, além de abordar os organismos impactados direta ou indiretamente por essas associações. Assim sendo, o campo se ampliou ao longo dos anos e agora relaciona-se a estudos tanto sobre ecossistemas terrestres (natural e agrícola) quanto aquáticos (marinhos e ribeirinhos).

#### 1.1.1 Liberação do aleloquímico no ambiente

A liberação do aleloquímico tem dois principais envolvidos, os organismos “doadores”, que liberam o aleloquímico no meio, e os “receptores” ou “alvo”, que são aqueles afetados pelos aleloquímicos (SOLTYS et al., 2013). Para Pires e Oliveira (2011) há quatro formas de liberação de aleloquímicos no ambiente: a) Volatilização, que é a liberação do aleloquímico por meio de sua dissolução no ar. Os químicos produzidos pelo doador são capazes de evaporar em condições normais de temperatura e pressão, sendo misturados e transportados até os alvos. Li et al. (2018), em um estudo com o óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L., revelaram que a exposição tinha efeito tempo dependente e causava o aumento de apoptose em células de raízes de milho. b) Lixiviação: quando um aleloquímico liberado pelo doador, por alguma parte aérea da planta, seja, fruto, flor, folhas, galhos ou tronco, é então transportados para o solo até o alvo pela água de chuva ou de vapor do ar e/ou transpiração. Oliveira et al. (2014), em testes de irrigação, revelaram que quando havia cobertura da palha de milheto pérola (*Pennisetum glaucum* (L.) sobre solo, apenas a irrigação que simulava chuva (precipitação) tinha efeito alelopático, ou seja, quando irrigadas, subsuperficialmente, as sementes de *Bidens pilosa* e *Euphorbia heterophylla* germinaram normalmente mesmo cobertas. c) Exsudação radicular: quando o doador libera o aleloquímico através de suas raízes (exsuda). Silva et al. (2017) com estudo sobre o efeito de exsudatos da raiz de *Brachiaria decumbens* observaram a inibição no crescimento de três espécies nativas da Mata Atlântica; d) Decomposição: o aleloquímico é resultado da decomposição de parte da planta doadora e, posteriormente,

lixiviada. Este processo pode ocorrer seja pelo rompimento de células ou tecidos e liberação e lixiviação direta do aleloquímico ou ainda a liberação do aleloquímico ocorrerá pela produção de substâncias pelo microrganismo decompositor (PIRES; OLIVEIRA, 2011). Mehmood et al. (2017) demonstraram que há efeito tardio da decomposição de resíduos de *Alternanthera sessilis* e *A. philoxeroides* no crescimento de arroz, decorrente da decomposição. Para Soltys et al. (2013), ainda pode haver uma quinta forma de liberação de aleloquímicos, que é a interação (Figura 1), a qual ocorre quando o exsudado liberado pelo doador é ativado por um microrganismo ou por condições ambientais (pH, umidade, luminosidade, temperatura, oxigênio, etc.) e, posteriormente, atinge a planta alvo. Neste caso, o químico liberado pela planta pode também estimular um microrganismo a liberar o aleloquímico.

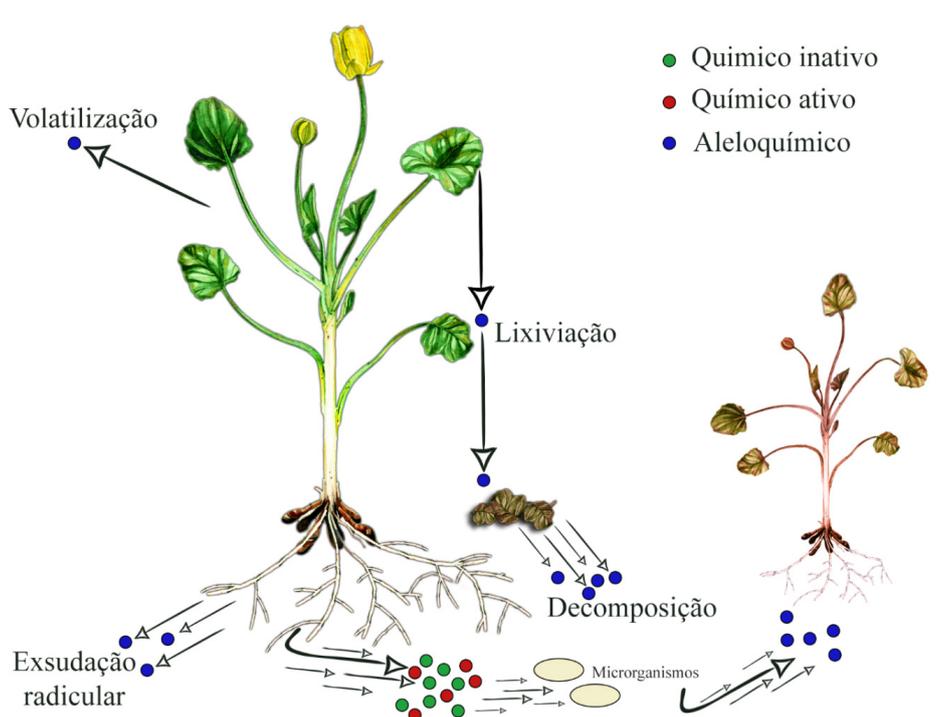


Figura 1 – Formas de liberação do aleloquímico no ambiente  
Fonte: adaptado de SCOZERO L. (2018)

## 1.2 Importância biológica e econômica

As atividades agrícolas em áreas tropicais têm sido limitadas pelo aparecimento de uma comunidade de plantas invasoras (BORGES et al., 2007). Silva e Durigan (2009) relatam a redução de até 96,9% na produtividade de arroz quando em contato com plantas daninhas durante todo ciclo. Teixeira et al. (2017) reportaram variação na perda de produtividade de até 95%, em estudo da interferência de plantas invasoras sob dois cultivares de grão-de-bico.

No controle de plantas invasoras e de pragas é comum o uso de agrotóxicos, e sua comercialização tem aumentado no Brasil, atingindo 620.537,98 toneladas em 2019 (IBA-MA, 2019). Uma alternativa para redução do uso de herbicidas seria o uso de plantas geneticamente modificadas (OGM) resistentes ou a seleção de culturas com genótipos mais resistentes às pragas, como realizado em trabalho com tomateiros (SILVA et al., 2013). No entanto, Almeida et al. (2017) apontam que com o aumento da utilização de culturas

OGM no Brasil houve também um aumento da utilização de herbicidas, ao contrário do que se esperava.

Ainda neste contexto, Galon et al. (2016) consideraram que é necessária a redução do uso de agrotóxicos, seja pela redução de danos ambientais como pela preocupação com o consumo de alimentos contaminados com possíveis resíduos e, ainda sob a ótica desses autores, o uso de bioherbicidas pode favorecer não somente o controle de plantas invasoras, mas também reduzir prejuízos ambientais pelo uso contínuo de herbicidas sintéticos, sendo que o Brasil apresenta grande potencial para o desenvolvimento dos bioherbicidas, tendo em vista a diversidade vegetal do país, além da prática diversa de modos de produção agrícola.

Bioherbicidas são produzidos por organismos vivos, incluindo assim os aleloquímicos e, de acordo com o registro CAS (Chemical Abstracts Service), dentre os mais de 24 milhões de compostos orgânicos, um grande grupo de metabólitos secundários é representado e, alguns destes participam de relações alelopáticas (SOLTYS et al., 2013).

Os últimos herbicidas com descrição de novo mecanismo de ação foi há mais de 20 anos, o que motiva pesquisas neste sentido, pois há evolução na resistência de plantas invasoras e os compostos naturais eram, e ainda são, fontes de novos herbicidas de sítios específicos (DUKE; DAYAN, 2013; SOLTYS et al., 2013). Em relação aos cultivos orgânicos, a utilização de plantas que são capazes de produzir e liberar compostos fitotóxicos é uma ferramenta bastante efetiva (PUIG et al., 2018). Silva et al. (2015), em estudo com *U. decumbens*, espécie invasora bem-sucedida e agressiva que ameaça áreas protegidas, demonstraram efeito alelopático negativo de *Microlobius foetidus*, relacionado à proximidade física das espécies.

### 1.2.1 Importância ecológica

A matéria orgânica é um componente fundamental em substratos para a produção de mudas, que tem como finalidade básica contribuir com nutrientes e a retenção de água (CALDEIRA et al., 2008). Estudos buscam dar viabilidade para utilização da matéria orgânica proveniente de resíduos da agroindústria, devido ao seu baixo custo e disponibilidade, além de reduzir o acúmulo dos mesmos no ambiente (KRATZ et al., 2013; LIMA et al., 2007; CALDEIRA et al., 2008).

Lima et al. (2017) observaram inibição total na germinação de *Myracodroun urundeuva* Allemão, uma espécie ameaçada de extinção, quando resíduos de café foram incorporados ao solo. Tais resultados são similares aos encontrados por Lima et al. (2007), com resíduos da indústria de chá preto, os quais inibiram a germinação das sementes de pepino, alface e tomate, mas se tornavam viável para utilização para produção de mudas, quando esses resíduos eram decompostos. Já Mehmood et al. (2017) em estudos sobre o tempo de decomposição de duas espécies *Alternanthera sessilis* e *A. philoxeroides* na emergência de arroz (0, 15 e 30 dias de decomposição), observaram que aos 30 dias havia maior resposta inibitória. Portanto, a matéria orgânica a ser utilizada no substrato deve ser submetida ao devido estudo alelopático antes de sua utilização.

Considerando a relevância dos estudos sobre alelopatia e seus reflexos agrônômicos e ecofisiológicos, o presente estudo objetivou, a partir de um levantamento bibliográfico sobre os estudos brasileiros acerca deste tema, no período de 2011 a 2021, para fomentar a identificação e discussão sobre os principais grupos de pesquisa voltados para essa linha de pesquisa, além de referenciar os organismos testes e plantas doadoras mais frequentemente envolvidos na pesquisa do Brasil, além da parte do vegetal, modo de experimentação, substrato e solventes mais utilizados nesses estudos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho de revisão foi feito no portal SicELO com a utilização de operadores booleanos onde a chave de pesquisa foi "alelopatia OR allelopathy OR aleloquímicos OR allelochemicals", cujo prefixo OR amplia o campo de busca para a próxima somando-as. Outros operadores utilizados foram o AND e o NOT, que são operadores de restrição. Sendo feitas restrições quanto aos anos (2011 a 2021), e o local, Brasil, por meio de marcadores de pesquisa fornecidos pelo próprio site. Foi decisão do autor não utilizar restrição por operadores booleanos.

Todos os artigos verificados na plataforma SicELO foram armazenados no programa Zootero, o qual foi escolhido devido à interface dedutiva e fácil, além de o programa colaborar com a organização e possibilitar a escrita de notas, criação de pastas, subpastas, utilização de gerenciador de referências, etc. Para melhor utilizar o programa foi realizado um cadastro gratuito no site do Zootero e posterior *login* no computador que permitiu a sincronia entre computadores dos artigos, anotações, pastas, subpastas, etc. Foi também utilizado o plugin fornecido pelo próprio programa que permitia o download dos artigos direto para o programa.

O presente trabalho apenas teve enfoque na alelopatia de plantas terrestres e aquáticas testadas em plantas, portanto quaisquer artigos sem estas definições foram descartados.

Uma tabela foi elaborada segundo o modelo de Reigosa et al. (2013) (dados não mostrados). Todos os nomes de espécies testadas com potencial alelopático contidos nos artigos foram revisados e corrigidos utilizando os sites FLORA DO BRASIL ([floradobrasil.jbrj.gov.br](http://floradobrasil.jbrj.gov.br)), TROPICOS ([tropicos.org](http://tropicos.org)) e THE PLANT LIST ([theplantlist.org](http://theplantlist.org)). Além disso, na tabela foram adicionados dois campos: o da instituição de onde provinham os artigos e o da família da planta doadora para posterior análise e comparação.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de trabalhos que versam sobre alelopatia vem crescendo muito nos últimos 27 anos tanto no Brasil quanto no mundo. No Brasil, nos últimos onze anos (2010-2021), o número de publicações foi superior ao do período de 1990 a 2010, demonstrando com isso um impulso na área, o que pode estar relacionado com o interesse recente na busca de novos aleloquímicos para uso como bioherbicidas, sob a premissa de serem menos impactantes tanto para o ambiente (fauna e flora) e para saúde humana (CERQUEIRA et al.,

2018, DUTRA et al., 2017). Outro dado importante, é o maior impulso dos estudos sobre alelopatia no período da presente pesquisa, no Brasil (140,9%), em relação ao aumento mundial (43,98%), o que revela que a área tem se revelado como promissora no país.

Reigosa et al. (2013) encontraram 92 espécies doadoras envolvendo pesquisa em 115 artigos. Assim, nos últimos anos, houve um aumento no número de espécies estudadas por artigo, o que indica uma valorização do estudo da biodiversidade brasileira, que no período de 2007 a 2015 teve a descrição de 1900 novas espécies de angiospermas [maioria das espécies observadas neste trabalho] além de conter 34,916 espécies no Brasil, sendo 19,187(55%) endêmicas (STEHMANN; SOBRAL, 2017).

No presente estudo, a maioria das espécies doadoras identificadas são nativas (61,49%), sendo que poucos são os trabalhos (Brasil) classificaram ou buscaram indicar a classe ou substância dos aleloquímicos. A maioria dos estudos focaram nos efeitos da germinação (75,15%), do crescimento ou de ambos, com poucas descrições quanto ao efeito negativo ao estado morfofisiológico (18,63%), o que demonstra que os estudos brasileiros ainda são preliminares. O que corrobora com o fato de 98,76% dos trabalhos terem sido laboratoriais, ou seja, sob condições controladas, o que elimina variáveis que poderiam influenciar no crescimento das espécies alvos, como a competição, desidratação, condições do solo, microrganismos, etc.

Vale ressaltar ainda que, de 2017 a 2021 houve um aumento de estudos que visaram a análise de resíduos com relação a sua possível utilização como bioherbicida ou a sua interferência no ambiente agrícola durante a rotação de culturas como vistos nos estudos de Fioreze et al. (2019) e de Vargas et al. (2018), fato que mostra a busca de usos alternativos e a valorização desses materiais.

Para Reigosa et al. (2013), trabalhos sob condição laboratorial sobre a produção ou não de substância bioativa que afeta uma planta alvo [entende-se que é uma planta que pode ocorrer ou não em condições naturais com a planta doadora] não podem ser considerados como prova de interação alelopática e, "que [estudos laboratoriais] apenas sugere, em condições naturais, que estes compostos podem talvez ter algum tipo de efeito no crescimento planta vizinha". Esses autores ainda consideram uma série de critérios que, na sua concepção, deveriam ser seguidos em estudos preliminares laboratoriais: a) extratos para testes apenas feitos com água (solvente); b) estudar apenas com espécies que ocorrem naturalmente juntas(doadora e alvo); c) não se utilizar papel filtro, mas sim um substrato representante da região onde as espécies ocorrem.

Sobre essas reflexões, considera-se também que estudos de alelopatia e, principalmente, estudos preliminares laboratoriais, não se definem apenas para com sua interação natural ou se ela de fato ocorre em condições naturais, mas na busca por aleloquímicos também é um campo da alelopatia, assim como é definido pela IAS (2018). E mesmo, por exemplo, não utilizando um solvente que ocorra naturalmente, caso seja encontrado um efeito alelopático não descaracteriza o estudo.

Silva et al. (2013) citam que estudos prévios identificaram o gênero *Derris* (*Lonchocarpus/Deguelia*) como produtor de químicos utilizáveis na agricultura, e posteriormente estudando a espécie *Deguelia urucu* foram capazes de isolar e verificar três compostos quanto às suas atividades alelopáticas. Portanto, estudos preliminares podem dar um

foco a estudos posteriores, guiando onde (gênero, família, espécie até classe dos aleloquímicos) podem ser encontrados mais comumente aleloquímicos, assim otimizando os esforços para estudos em áreas específicas.

Estudos laboratoriais, e principalmente, estudos preliminares laboratoriais não necessitam necessariamente de um embasamento natural, isto se o foco for a busca de aleloquímicos. Por exemplo, plantas medicinais são estudadas não pelo fato de ocorrerem próximas às plantas alvos, mas pelo conhecimento prévio de seus químicos ativos (ISLAM; KATO-NOGUCHI, 2014).

Na revisão foi possível também verificar que: as partes da planta mais estudadas, solvente e substrato utilizados. Em geral, os estudos revelaram uma padronização: folhas e parte aérea, água e papel filtro. Percebe-se ainda que os extratos aquosos representaram mais de 70% das formulações avaliadas, o que está condizente com a literatura na intenção de priorizar este solvente (REIGOSA et al., 2013), além do fato de ser um solvente altamente polar e se inferir que grande parte dos aleloquímicos sejam polares (SOUZA FILHO et al., 2010). Entretanto, Souza Filho et al. (2010) consideram que priorizar a água como solvente “limita o conhecimento mais amplo sobre as reais potencialidades alelopáticas da planta em estudo”.

As partes vegetais mais estudadas foram a folha e parte aérea, que somadas perfazem 75,53% do total nesta revisão. A escolha pode ser embasada nos seguintes fatos: fácil coleta; rendimento de elevada biomassa, o que é uma variável importante na busca de um aleloquímico, e; sua coleta não causa a morte da planta. Outro local de elevada biomassa seria o caule para plantas superiores, mas foram observados poucos estudos com este material.

A escolha do papel filtro como substrato ocorreu em 73,17% dos estudos, pois em teoria é um substrato inerte além de facilmente manipulável (REIGOSA et al., 2013) e amplamente utilizado em estudos de germinação e/ou alelopatia.

A planta alvo mais estudada foi a *Lactuca sativa* (alface), representando 30,15% dos testes, sendo que mais da metade de estudos com *L. sativa* também utilizaram pelo menos mais uma espécie. A *L. sativa* é tida como uma espécie sensível e a expressão alelopática pode ser superestimada, recomenda-se que para evitar isto que sejam utilizadas três espécies: uma de baixa sensibilidade, uma de média e uma de alta (SOUZA FILHO et al., 2010). *Allium cepa* foi a segunda espécie alvo utilizada, citada em 8% dos estudos. Ambas são espécies de rápida germinação, tendo *A. cepa* aproximadamente 4 dias de germinação (MÜLLER et al., 2007), que apesar de não terem histórico de ocorrência natural no Brasil, são amplamente utilizadas e de fácil comparação com a literatura, podendo se caracterizar espécies modelos. Percebe-se também uma maior variedade de plantas envolvidas como modelos, que vão desde plantas cultivadas em consórcio (girassol, milho) assim como plantas invasoras, das quais são buscadas informações ecofisiológicas (GROSSI et al., 2021; ARAÚJO et al., 2021).

A família com maior número de espécies utilizadas, como planta doadora, nesta revisão, foi a Poaceae (Gramínea) com citação em 19,25% dos estudos, seguida das Myrtales (12,42%), mas não havendo uma restrição a essas famílias, pois há ocorrências em pelo menos mais seis famílias como a Fabaceae, Cyperaceae, Asteraceae, Erythroxylaceae e Polygonaceae. Sánchez-Moreiras et al. (2003) já citam a capacidade alelopática dessa

família em um levantamento, onde o efeito de inibição foi o prevalente, tanto das espécies doadoras cultivadas como das selvagens. Favaretto et al. (2018) realizaram uma revisão sobre alelopatia em Poaceae, também restrita aos estudos desenvolvidos no Brasil, na qual foram encontrados 47 artigos e, destes apenas 2,56% versaram sobre espécies de Poaceae nativas do Brasil. Esses autores criticam os estudos brasileiros sobre os aspectos alelopáticos das poáceas, que na sua visão, são poucos e na maioria laboratoriais, sem a identificação dos compostos químicos, que envolveram simples avaliação de germinação ou crescimento inicial.

Favaretto et al. (2018) e Sánchez-Moreiras et al. (2003) consideram que o aprofundamento dos estudos sobre esta família contribuirá para o desenvolvimento da compreensão das interações alelopáticas, uma vez que auxiliará no entendimento do comportamento natural das espécies e no manejo de plantios além da bioprospecção de aleloquímicos com potencial uso como bioherbicidas. Apesar de uma alta concentração de estudos nas poáceas, o presente estudo apontou uma grande variedade de espécies envolvidas na busca de aleloquímicos e nas pesquisas sobre os efeitos alelopáticos, perfazendo um total de 57 famílias nos artigos analisados.

Para ver onde se foram feitos mais estudos foi feita uma relação da instituição com a Unidade Federal (UF) proveniente do artigo. E esse dado foi plotado no mapa em conjunto com dados da verba destinada para cada estado pela instituição de fomento CAPES (Figura 2).

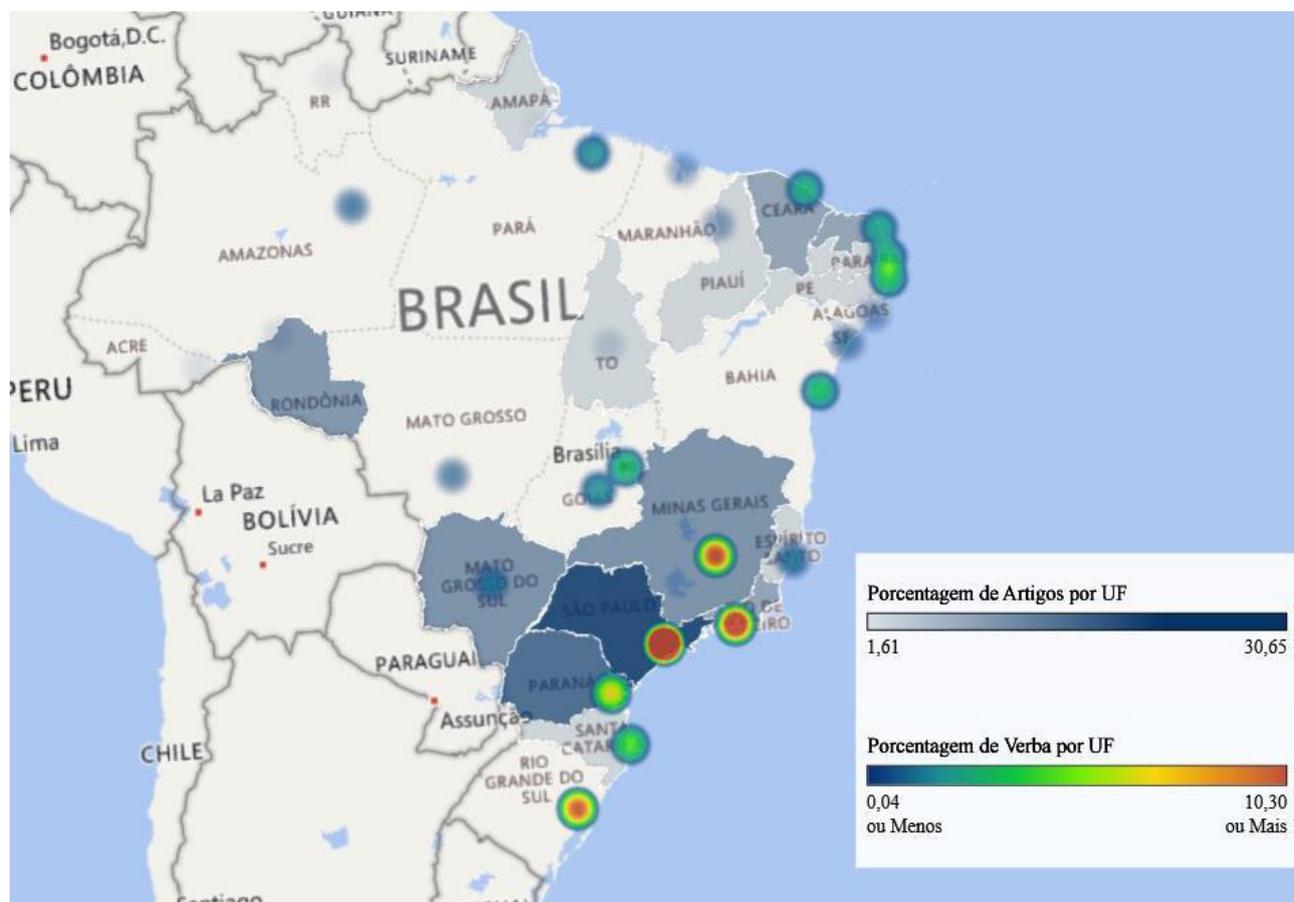


Figura 2 – Número de artigos por UF e verba por UF no Brasil. Os artigos estão representados pela cor do território da UF, sendo que naqueles que não tem cor, a produção foi nula 0. A escala 1,61% representa 1 artigo. A verba destinada aos Estados está indicada pelos círculos, variando de 0,11% a 25,20%, representadas pelas UFs Amapá e São Paulo, respectivamente

Fonte: Produzido pelo autor

Foram reveladas várias incongruências como as regiões de maior produção de artigos são a sudeste e nordeste, assim como a maior verba destinada a estas regiões. Mas existem destaques discrepantes como Rondônia e Amapá com uma verba quase imperceptível comparados com os outros apresentando uma grande produção de artigos, e o Rio Grande do Sul com uma grande verba possuindo a quantidade nula na contribuição de artigos, Bahia, Amazonas, Pará em situações similares. O que pode revelar a ausência de grupos de pesquisas fortes em alguns estados e a presença em estados com menor destinação de verba. Também demonstra potenciais locais para desenvolver pesquisas. Amazonas e Bahia que possuem uma grande biodiversidade.

## 4. CONCLUSÃO

Os estudos de alelopatia vêm seguindo uma metodologia muito similar, o que não é um problema, mas pode restringi-la a estudos apenas naturais o que pode ser um problema ou limitação para a área. A possibilidade de se encontrar uma “nova espécie” que vai de forma natural ter efeito alelopático talvez seja uma tarefa muito complexa, pois envolveria parâmetros muito restritivos (mesmo ambiente, espécies alvo e doadora e ambas sendo nativas). As espécies podem, realmente, ser encontradas em uma busca assim, mas a investigação de um aleloquímico, independentemente de ser de uma planta ou microrganismo, não é menos importante do que encontrar a espécie. Então, se estudar utilizando solúveis não encontrados no ambiente, focar em estudos laboratoriais, testar em espécies que não ocorrem naturalmente, como *Lactuca sativa*, mas tem uma abrangência de estudos e podem ser comparados, padronizar isto é também uma forma promissora de estudo da alelopatia.

As interações são tantas que este estudo natural, sem um estudo preliminar laboratorial e esclarecedor, pode ser inviável, e algo que dificulta os estudos naturais percebidos nesta revisão são que o aleloquímico: a) pode ser ou não produzido em quantidade suficiente pela planta a ponto de provocar o efeito alelopático; b) pode ser liberado apenas na decomposição da raiz, ou seja, quando a planta morrer, e mais preocupante quando for adulta e morrer, poucos foram estudos deste tipo; c) pode estar ligado a uma cadeia de interações que envolvem o solo e sua flora; d) pode ser produzido apenas em condições de estresse, e nesta revisão apenas foi visto dois estudos que tentam estudar tal efeito na planta; e) pode ser produzido em uma época específica, em fase reprodutiva, frutificante, da planta. E observar isso na natureza carece de métodos. Algo que foi muito observado foi a prioridade dada ao crescimento inicial e à germinação, mas poucos estudos buscavam interações alelopáticas entre plantas adultas.

A alelopatia no Brasil é uma área que se tem muito a desenvolver, e a crítica de que se tem poucos estudos que buscam os compostos é de fato relevante e preocupante, pode sugerir que se deve ter uma interação entre laboratórios diferentes para que se tenha uma abrangência maior. Estudos brasileiros ainda têm muito com o que contribuir para essa área da ciência e essa área da ciência para o mundo.

## 5. AGRADECIMENTOS

À FAPES, UFES, CNPq e Capes pelo apoio às pesquisas do LGVT.

## Referências

- ALLEM, Laisa N.; GOMES, Anabele S.; BORGHETTI, Fabian. Pequi leaves incorporated into the soil reduce the initial growth of cultivated, invasive and native species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, p. 1761-1768, 2014.
- ALMEIDA, Vicente Eduardo Soares de et al. Use of genetically modified crops and pesticides in Brazil: growing hazards. **Ciência & Saúde coletiva**, v. 22, p. 3333-3339, 2017.
- ALVES, L. L. et al. Atividade alelopática de extratos aquosos de plantas medicinais na germinação de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 328-336, 2011.
- ALVES, M. C. S. et al. Allelopathic effect of essential oils of medicinal plants in *Bidens pilosa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 731-736, 2014.
- ANESE, Simoni et al. Phytotoxic potential of *Drimys brasiliensis* miers for use in weed control. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 37, p. 505-516, 2015.
- ARAÚJO, Grazielle Rodrigues et al. Potencial alelopático de óleo de Eucalyptus e de capim citronela no controle de plantas daninhas. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 44248-44237, 2021.
- BETTONI, Jean Carlos et al. Potencial alelopático de plantas de cobertura verde de inverno sobre o crescimento do porta-enxerto VR043-43. **Revista Ceres**, v. 59, p. 136-141, 2012.
- BONFIM, F. P. G. et al. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Melissa officinalis* L. e *Mentha x villosa* L. na germinação e vigor de sementes de *Plantago major* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 564-568, 2011.
- BORELLA, Junior et al. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikianium* (Kunth) Steudel. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, p. 415-420, 2012..
- BORGES, Fábio Cardoso et al. Potencial alelopático de duas neolignanas isoladas de folhas de *Virola surinamensis* (Myristicaceae). **Planta Daninha**, v. 25, p. 51-59, 2007.
- BORGHETTI, Fabian; LIMA, Elisa Coutinho de; SILVA, Lucas de Carvalho Ramos. A simple procedure for the purification of active fractions in aqueous extracts of plants with allelopathic properties. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, p. 50-53, 2013.
- CALDEIRA, Marcos Vinicius Winckler et al. Composto orgânico na produção de mudas de aroeira-vermelha. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 1, p. 027-033, 2008.
- CÂNDIDO, Ana Carina da Silva et al. Atividade fitotóxica de *Croton doctoris* S. Moore. **Ciência Rural**, v. 43, p. 645-652, 2013.
- CECCHIN, K. et al. Allelopathy and allelochemicals of *Eragrostis plana* (Poaceae) and its relation with phenology and nitrogen fertilization. **Planta daninha**, v. 35, 2017.
- COELHO, Maria de Fatima B.; MAIA, Sandra SS; OLIVEIRA, Andrey K.; et al. Allelopathic activity of juazeiro seed extract. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 108-111, 2011.
- CORSATO, Jaqueline Malagutti et al. Estresse oxidativo mediado por aleloquímicos e suas implicações na germinação e crescimento inicial de plantas. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.5, n. especial, p.136-150, 2016.
- CRUZ-SILVA, C. T. A. et al. Allelopathy of *Bidens sulphurea* L. aqueous extracts on lettuce development. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 679-684, 2015.

- DUKE, S. O., & DAYAN, F. E. Clues to new herbicide mechanisms of action from natural sources. In: BECK, J. et al. Pest Management with Natural Products Washington: DC, **American Chemical Society** 2013. p. 203-215.
- DUTRA TAVEIRA, Leila Kelly Pereira; SILVA, Maria Arlene Pessoa; LOIOLA, Maria Iracema Bezerra. Allelopathy in five species of *Erythroxylum*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, 2013.
- DUTRA, Rodrigo Marciel Soares; DA SOUZA, Murilo Mendonça Oliveira. Impactos negativos do uso de agrotóxicos à saúde humana. **Hygeia: Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 13, n. 24, p. 127, 2017.
- ERASMO, Eduardo Andrea Lemus et al. Effects of extracts of green manure in *Lactuca sativa* and *Digitaria horizontalis*. **Bragantia**, v. 70, n. 3, p. 529-557, 2011.
- FABRICANTE, Juliano Ricardo et al. Atributos ecológicos da bioinvasora *Nicotiana glauca* Graham (Solanaceae) e avaliação da susceptibilidade de sua ocorrência no Brasil. **Ciência Florestal**, v. 25, p. 959-967, 2015.
- FAVARETTO, A.; SCHEFFER-BASSO, S. M.; PEREZ, N. B. Autotoxicity in tough Lovegrass (*Eragrostis plana*). **Planta Daninha**, v. 35, 2017.
- FAVARETTO, Adriana; SCHEFFER-BASSO, Simone M.; PEREZ, Naylor B. Allelopathy in Poaceae species present in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 38, n. 2, p. 22, 2018.
- FAVARETTO, Adriana et al. Growth of white clover seedlings treated with aqueous extracts of leaf and root of tough lovegrass. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 6, p. 1168-1172, 2011.
- FIOREZE, Samuel Luiz et al. Growth and yield parameters of white oat and wheat as affected by canola residues. **Revista Ceres**, v. 66, p. 416-421, 2019.
- FONSECA, Rainiomar Raimundo da et al. Allelopathic potential of extracts the from marine macroalga *Placomium brasiliense* and their effects on pasture weed. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 4, p. 850-853, 2012.
- GALON, Leandro et al. Manejo biológico de plantas daninhas–breve revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 15, n. 1, p. 116-125, 2016.
- GATTI, A. B. et al. Seasonality effect on the allelopathy of cerrado species. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, p. S064-S069, 2014.
- GRISI, P. U. et al. Efeito alelopático do fruto de *Sapindus saponaria* na germinação e na morfologia de plântulas daninhas e de hortaliças Allelopathic effect of *Sapindus saponaria* fruit on germination and seedlings morphology of weed and vegetables. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 311-322, 2011.
- GRISI, P. U. et al. Effect of *Serjania lethalis* ethanolic extract on weed control. **Planta Daninha**, v. 31, p. 239-248, 2013.
- GRISI, Patrícia Umeda et al. Allelopathic interference of *Sapindus saponaria* root and mature leaf aqueous extracts on diaspore germination and seedling growth of *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, n. 1, p. 1-9, 2012.
- GRISI, Patricia Umeda et al. Allelopathic potential of *Sapindus saponaria* L. leaves in the control of weeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, n. 1, 2012.
- GROSSI, Sophia Motta et al. Avaliação do potencial alelopático e fitotoxicidade de *Hymenaea stigonocarpa* em espécies invasoras e cultivadas. **Heringeriana**, v. 15, p. 30-39, 2021.
- HABERMANN, E. et al. Phytotoxic potential of young leaves from *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 531-538, 2016.
- IMATOMI, Maristela; NOVAES, Paula; GUALTIERI, Sonia Cristina Juliano. Interspecific variation in the allelopathic potential of the family Myrtaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 1, p. 54-61, 2013.
- IMATOMI, Maristela et al. Phytotoxic effects of aqueous leaf extracts of four Myrtaceae species on three weeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 2, p. 241, 2015.
- ISLAM, A. K. M.; KATO-NOGUCHI, Hisashi. Phytotoxic activity of *Ocimum tenuiflorum* extracts on germina-

- tion and seedling growth of different plant species. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.
- INTERNATIONAL Allelopathy Society. Disponível em: <<http://allelopathy-society.osupytheas.fr/about/>>. Acesso em: 22 maio 2018.
- KRATZ, Dagma et al. Utilização de resíduos urbanos e agroflorestais para produção de mudas de *Eucalyptus benthamii* e *Mimosa scabrella*. **Floresta e Ambiente**, v. 20, p. 530-537, 2013.
- LI, Jiao et al. Volatile allelochemicals of *Chenopodium ambrosioides* L. induced mitochondrion-mediated Ca<sup>2+</sup>-dependent and Caspase-dependent apoptosis signaling pathways in receptor plant cells. **Plant and Soil**, v. 425, n. 1-2, p. 297-308, 2018.
- LI, Z. H.; WANG, Q.; RUAN, X.; PAN, C.; JIANG, D. Phenolics and plant allelopathy. **Molecules**, v. 15, n. 12, p.8933-8952, 2010.
- LIMA, C. P. et al. Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. **Acta Bot. Bras**, v. 25, p. 331-336, 2011.
- LIMA, Juliana Domingues et al. Resíduos da agroindústria de chá preto como substrato para produção de mudas de hortaliças. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1609-1613, 2007.
- LIMA, Lucas Kennedy Silva et al. Produção de mudas de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) em resíduos orgânicos. **Revista Ceres**, v. 64, n. 1, p. 1-11, 2017.
- LOUSADA, L. L. et al. Bioatividade de extratos hidroalcoólicos de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. sobre picão-preto (*Bidens pilosa* L.) e alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 282-286, 2012.
- MATIAS, Rosemary et al. Cashew nut shell liquid and formulation: toxicity during the germination of lettuce, tomato seeds and coffee senna and seedling formation. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 39, n. 4, p. 487, 2017.
- MEHMOOD, A. et al. Phenolics in two *Alternanthera* species residues affect the germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa*). **Planta Daninha**, v. 35, 2017.
- MELO, Karla Andréia de; CARRENHO, Rosilaine. Growth and mycorrhizal colonization of maize plants treated with aqueous extracts from nonmycorrhizal weeds. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 11, p. 1042-1049, 2017.
- MENDES, C. E. et al. Avaliação do potencial fitotóxico de *Persea venosa* Nees & Mart.(Lauraceae) sobre sementes e plântulas de diferentes espécies cultivadas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 337-346, 2013.
- MENGARDO, Ana Luisa T.; PIVELLO, Vânia R. The effects of an exotic palm on a native palm during the first demographic stages: contributions to ecological management. **Acta Botanica Brasilica**, v. 28, n. 4, p. 552-558, 2014.
- MIRANDA, Cíntia Alvarenga Santos Fraga et al. Chemical characterisation and allelopathic potential of essential oils from leaves and rhizomes of white ginger. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, 2015.
- MORAES, P. V. D. et al. Allelopathy of cover crops on the soil surface or incorporated into the soil for *Digitaria* spp. control. **Planta Daninha**, v. 29, n. SPE, p. 963-973, 2011.
- MÜLLER, Caroline et al. Potencial fitotóxico de algumas espécies Gleicheniaceae sobre *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 45-47, 2007.
- NOBRE, D.A.C et al. Bioatividade de extratos aquosos de plantas medicinais em sementes de feijão-fava. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2 suppl 1, p. 467-472, 2014.
- OLIVEIRA JR, R. S. et al. Grass straw mulching to suppress emergence and early growth of weeds. **Planta daninha**, v. 32, p. 11-17, 2014.
- OLIVEIRA, A.P.P. et al. Can Allelopathic Grasses Limit Seed Germination and Seedling Growth of Mutambo? A Test with Two Species of Brachiaria Grasses. **Planta Daninha**, v. 34, n. 4, p. 639-648, 2016.
- OLIVEIRA, Ademir KM et al. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na

germinação de alface. **Hortic. Bras**, v. 32, n. 1, 2014.

OLIVEIRA, Andreyka K. et al. Alelopatia de extratos de diferentes órgãos de mulungu na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 480–483, 2012.

OLIVEIRA, Andreyka Kaliana de et al. Atividade alelopática de extratos de diferentes órgãos de *Caesalpinia ferrea* na germinação de alface. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1397-1403, 2012.

OLIVEIRA, J.S. et al. Avaliação de extratos das espécies *Helianthus annuus*, *Brachiaria brizantha* e *Sorghum bicolor* com potencial alelopático para uso como herbicida natural. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 379–384, 2015.

OLIVEIRA, Luiz Gustavo André et al. Allelopathic action of ethyl-acetate extract of the leaves of *Solanum cernuum* Vell. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 538–543, 2013.

OLIVEIRA, Sarah Christina Caldas; GUALTIERI, Sonia Cristina Juliano; DOMÍNGUEZ, Francisco Antônio Macías; et al. Estudo fitoquímico de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Solanaceae) e sua aplicação na alelopatia. **Acta Botânica Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 607–618, 2012.

PELEGRINI, L. L.; CRUZ-SILVA, C. T. A. 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 Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 376–382, 2012.

PEREIRA, M. R. R.; TEIXEIRA, R. N.; SOUZA, G. S. F.; et al. Inibição do desenvolvimento inicial de plantas de girassol, milho e triticale por palhada de capim-colchão. **Planta Daninha**, p. 305–310, 2011.

PIRES, Nádja de Moura; OLIVEIRA, Valter Rodrigues. Alelopatia. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R S et al. Biologia e manejo de plantas daninhas. **Curitiba: Omnipax**, 2011. p. 95-123.

PUIG, Carolina G. et al. Unravelling the bioherbicide potential of *Eucalyptus globulus* Labill: Biochemistry and effects of its aqueous extract. **PLoS one**, v. 13, n. 2, p. e0192872, 2018.

RECH, Katlin S. et al. *Croton argenteus* preparation inhibits initial growth, mitochondrial respiration and increase the oxidative stress from *Senna occidentalis* seedlings. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 753–763, 2015.

REIGOSA, Manuel et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 629–646, 2013.

RIBEIRO, Jose Pedro Nepomuceno; LIMA, Maria Inês Salgueiro. Allelopathic effects of orange (*Citrus sinensis* L.) peel essential oil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 1, p. 256–259, 2012.

RIPARDO FILHO, Haroldo da Silva et al. Bioensaios de atividade alelopática dos esteroides espinasterol, espinasterona e glicopiranosil espinasterol. **Planta Daninha**, v. 30, p. 705-712, 2012.

RODRIGUES, Adriana Paula D. et al. Allelopathy of two *Brachiaria* species in seeds of three species of *Stylosanthes*. **Ciência Rural**, v. 42, n. 10, p. 1758–1763, 2012.

SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. M.; WEISS, O. A.; REIGOSA-ROGER, M. J. Allelopathic evidence in the Poaceae. **The Botanical Review**, v. 69, n. 3, p. 300-319, 2003.

SANTOS, Roseane Cavalcanti dos et al. Temporal expression of the *sor1* gene and inhibitory effects of *Sorghum bicolor* L. Moench on three weed species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 28, n. 3, p. 361–366, 2014.

SANTOS, S.; MORAES, Maria de Lourdes Leite de; REZENDE, M. O. O.; et al. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. **Eclética Química**, v. 36, n. 2, p. 51–68, 2011.

SCAVO, Aurelio; RESTUCCIA, Alessia; MAUROMICALE, Giovanni. Allelopathy: principles and basic aspects for agroecosystem control. In: **Sustainable agriculture reviews** 28. Springer, Cham, 2018. p. 47-101.

SCOZERO, Lucrezia. Spring Flower. 2018. Disponível em <<https://www.deviantart.com/lu-art/art/Spring-flower-735422239>> acesso em jun. de 2018

SILVA, Alex Antônio da et al. Resistência a *Myzus persicae* em genótipos de tomateiro com altos teores foliares de aleloquímicos. **Bragantia**, v. 72, n. 2, 2013.

- SILVA, Cristiane Bezerra et al. The presence of *Microlobius foetidus* cause changes in the antioxidant defense of *Urochloa decumbens*?. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, p. 565-573, 2015.
- SILVA, Ewerton A.S. et al. Flavonoids from leaves of *Derris urucu*: assessment of potential effects on seed germination and development of weeds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 881-889, 2013.
- SILVA, Lgia Maria Inocência et al. Potential allelopathic effect of *Brachiaria decumbens* root exudates on neotropical tree seedlings. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 29, n. 4, p. 177-186, 2017.
- SILVA, Maria Rosângela Malheiros; DURIGAN, Julio Cezar. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura do arroz de terras altas. II – Cultivar caiapó (1). **Bragantia**, v.68, n.2, p.373-379, 2009.
- SILVA, P. B. et al. Avaliação do potencial alelopático, atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos orgânicos das folhas de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 447-455, 2011.
- SILVA, Rodrigo Fonseca da et al. Growth suppression of sandspur grass by cover crops 1. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 3, p. 319-325, 2015.
- SILVEIRA, Bruna Denardin da et al. Atividade alelopática de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 1, p. 79-85, 2014.
- SILVESTRE, Daniel Moreto et al. Phytotoxicity of organic extracts of *Turnera ulmifolia* L. and *Turnera diffusa* Willd. ex Schult. in cucumber seeds. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 3, p. 476-482, 2013.
- SOLTYS, Dorota et al. Allelochemicals as bioherbicides—Present and perspectives. **In: Herbicides-Current research and case studies in use**. IntechOpen, 2013.
- SOUZA FILHO, AP da S.; GUILHON, Giselle Maria Skelding Pinheiro; SANTOS, Lourivaldo da Silva. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica. **Planta daninha**, v. 28, p. 689-697, 2010..
- SOUZA, E. F. C. et al. Early growth of common bean cropped over ruzigrass residues. **Planta Daninha**, v. 32, p. 775-781, 2014.
- STEHMANN, João Renato; SOBRAL, Marcos. **Biodiversidade no Brasil**. Simões, CMO; Schenkel, EP; Mello, JCP, p. 1-10, 2017.
- SZCZEPANSKI, Andrzej J., Allelopathy as a means of biological control of waterweeds. **Aquatic Bot**, 3:193\_197, 1977.
- TAKAO, Leandro Kenji; RIBEIRO, Jose Pedro Nepomuceno; LIMA, Maria Inês Salgueiro. Allelopathic effects of *Ipomoea cairica* (L.) Sweet on crop weeds. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, p. 858-864, 2011.
- TEIXEIRA, Matheus Ferreira França et al. Interferência de plantas daninhas na qualidade e produtividade do grão-de-bico. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 2, p. 69-75, 2017.
- TREVISAN, R. R. et al. Avaliação da atividade fitotóxica com enfoque alelopático do extrato das cascas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent Ulmaceae e purificação de dois triterpenos. **Rev bras plantas med**, v. 14, n. 3, p. 494-499, 2012.
- VARGAS, L. A.; PASSOS, A. M. A.; KARAM, D. Allelopathic potential of cover crops in control of shrubby false buttonweed (*Spermacoce verticillata*). **Planta Daninha**, v. 36, 2018.
- VENTURA, A.C.S.S. et al. Efeito fitotóxico do óleo volátil de *Cleome guianensis* Aubl. sobre o crescimento inicial de *Senna occidentalis* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1 suppl 1, p. 349-355, 2016.
- VOLTARELLI, Valquiria Marin; RIBEIRO, Jose Pedro Nepomuceno; LIMA, Maria Inês Salgueiro. Allelopathic potential of *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching on weed plant species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 4, p. 779-784, 2012.

# CAPÍTULO 6

## **INIBIÇÃO FLUXO EXTRACELULAR DE PRÓTONS (H<sup>+</sup>) DE RAÍZES PRIMÁRIAS DE *Allium cepa* E SEUS REFLEXOS NAS ATIVIDADES ALELOPÁTICAS E MUTAGÊNICAS**

*INHIBITION OF EXTRACELLULAR FLOW OF PROTONS (H<sup>+</sup>) OF *Allium cepa* PRIMARY ROOTS AND THEIR REFLEXES ALLELOPATHIC AND MUTAGENIC ACTIVITIES*

**Monique Ellen Farias Barcelos**

**Amanda Azevedo Bertolazi**

**Sávio Bastos de Souza**

**Alessandro Coutinho Ramos**

**Hildegardo Seibert França**

**Sávio Cabral Lopes de Lima**

**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**



## Resumo

A produção de metabólitos secundários está voltada ao mecanismo de adaptação das vias biossintéticas e da defesa do vegetal contra agentes endógenos. Os estudos com metabólitos secundários visam a identificação e seu uso de forma sustentável, como um possível substituto de pesticidas, já que possuem alguns possuem funções alelopáticas e são de fácil degradação, não oferecendo riscos ao meio ambiente. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade alelopática da cumarina presente no extrato de Guaco (*Mikania glomerata*) em dois organismos testes (*Allium cepa* e *Lactuca sativa*) e avaliar sua atividade mutagênica, genotóxica e capacidade de modular o fluxo extracelular de prótons em raízes primárias. Os resultados revelaram que a cumarina promoveu uma inibição significativa no fluxo de  $H^+$  quando comparado ao controle negativo. A maior inibição foi observada na dose de  $0,002 \text{ mg.mL}^{-1}$  de cumarina. Em relação à atividade alelopática, foi encontrado que as raízes de *Allium cepa* foram mais resistentes ao tratamento com a cumarina em comparação às raízes de *Lactuca sativa*, as quais apresentaram maior sensibilidade na germinação, crescimento e desenvolvimento das raízes de acordo com teste dose-resposta. Nas análises mutagênicas foi possível verificar que os tratamentos de  $0,002 \text{ mg.mL}^{-1}$  e  $0,004 \text{ mg.mL}^{-1}$ , apresentaram efeitos clastogênicos. Ineditamente, mostramos que a atividade alelopática e mutagênica da cumarina em raízes está diretamente associada ao fluxo de prótons e conseqüentemente ao pH extracelular, o qual emerge como um possível indicador fisiológico de fitotoxicidade de metabólitos secundários de interesse agrícola.

**Palavras-chaves:** Metabólitos Secundários, Alelopatia, Mutagenicidade, Prótons, Guaco.

## Abstract

The production of secondary metabolites is aimed at the adaptation mechanism of biosynthetic pathways and the plant's defense against endogenous agents. Studies with secondary metabolites seek to identify and use them in a sustainable way, as a possible substitute for pesticides, since some have allelopathic functions and are easily degraded, offering no risks to the environment. This study aimed to evaluate the allelopathic activity of coumarin present in Guaco extract (*Mikania glomerata*) in two test organisms (*Allium cepa* and *Lactuca sativa*) and to evaluate its mutagenic and genotoxic activity and ability to modulate the extracellular flux of protons in primary roots. The results revealed that coumarin promoted a significant inhibition in the  $H^+$  flux when compared to the negative control. The greatest inhibition was observed at the dose of  $0.002 \text{ mg.mL}^{-1}$  of coumarin. Regarding allelopathic activity, it was found that *Allium cepa* roots were more resistant to treatment with coumarin compared to *Lactuca sativa* roots, which showed greater sensitivity in germination, growth and root development according to the dose-response test. In the mutagenic analysis, it was possible to verify that the treatments of  $0.002 \text{ mg.mL}^{-1}$  and  $0.004 \text{ mg.mL}^{-1}$  presented clastogenic effects. For the first time, we show that the allelopathic and mutagenic activity of coumarin in roots is directly associated with proton flux and consequently with extracellular pH, which emerges as a possible physiological indicator of phytotoxicity of secondary metabolites of agricultural interest.

**Keywords:** Secondary Metabolites, Allelopathy, Mutagenicity, Protons, Guaco.

## 1. INTRODUÇÃO

Durante a evolução biológica, as plantas desenvolveram vias biossintéticas voltadas à produção e acúmulo de uma grande variedade de compostos secundários que podem ter a sua constituição molecular modificada por fatores bióticos e abióticos. Deste modo, os metabólitos secundários passaram a ser utilizados como estratégias de sobrevivência das plantas às adversidades do ambiente (KAUFMAN et al., 1998; SOUZA FILHO, 2002; VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). A função alelopática dos metabólitos secundários das plantas altera a atividade e dinâmica do meio externo e, dependendo da substância exudada, pode causar efeito tóxico em espécies de plantas e micro-organismos (HOS-SAIN; ANWAR; NANDI, 2016; MENSAH et al., 2015; SAHID; TAN; CHUAH, 2015).

Os aleloquímicos são encontrados em todos os órgãos vegetais, podendo a sua quantidade variar em diferentes partes do vegetal, como raízes, rizomas, folhas, cascas e sementes; os autores Anese et al. (2015) realizaram experimentos com *Mikania micrantha*, *Aristolochia esperanzae* e em três espécies de *Copaifera*, e observam que os compostos presentes em extratos vegetais foram considerados fitotóxicos dependendo da quantidade liberada e da sua ação no ambiente. Atualmente, os estudos com metabólitos secundários visam a identificação, uso e aplicação na agricultura como alternativa sustentável tomando vantagem da sua função de pesticida, já que oferecem pouco risco à saúde pública e ambiental, e a sua rápida degradação no ambiente devido à sua estrutura química (ANESE et al., 2015; DEBASTIANI, 2015; SAHID; TAN; CHUAH, 2015). Dentre estas estruturas, destacam-se as cumarinas, que são compostos fenólicos conhecidos como benzopirona, constituídos de um anel de benzeno unido a uma pirona, encontrados livres ou como heterosídeos. Elas são produzidas no metabolismo vegetal e participam da regulação do crescimento por meio da ação das furanocumarinas (CZELUSNIAK et al., 2012).

Apesar de serem sintetizadas nas folhas, as cumarinas podem estar presentes em níveis mais elevados em frutas, caules e principalmente nas raízes (ASIF, 2015) atuando como agentes alelopáticos contra microorganismos do solo (CZELUSNIAK et al., 2012) e nos processos fisiológicos associados à germinação de sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas. A interferência no crescimento do vegetal, pela ação das cumarinas, se dá por meio da inibição do metabolismo de hormônios e indução de alterações nas biomembranas (ASIF, 2015; SALEH; MADANY; GONZÁLEZ, 2015).

A energização da membrana plasmática, em plantas e fungos, é gerada por uma força próton- motriz de adenosina trifosfato (ATPases) especializadas em transporte de prótons (HARUTA; GRAY; SUSSMAN, 2015). Durante o crescimento celular, estas bombas de H<sup>+</sup> funcionam no transporte ativo primário gerando um gradiente eletroquímico que impulsiona a absorção de nutrientes em células vegetais. Este transporte está envolvido no processo de crescimento celular, proporcionando um ambiente ácido na parede celular favorecendo a sua expansão e o aumento na translocação de auxinas (HARUTA; GRAY; SUSSMAN, 2015).

Ainda não existem estudos que relacionem a atividade de fluxo de prótons e os efeitos citogenéticos, referentes a possíveis alterações cromossômicas devido à presença de agentes mutagênicos. Testes com *Allium cepa* são muito importantes para avaliar

a capacidade citotóxica-mutagênica e monitoramento ambiental, de plantas medicinais, além da avaliação do potencial mutagênico de muitos compostos químicos, por meio de avaliação de células meristemáticas de raízes (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

No Brasil, o gênero *Mikania* está na lista de vegetais de grande interesse nacional pela sua capacidade terapêutica, sendo estabelecidos padrões de cultivo e processamento desta planta para produção de medicamentos (RAPOSO et al., 2017). Estudos fitoquímicos comprovam a presença de metabólitos secundários, em especial a cumarina, que lhe foi atribuída como um marcador químico da qualidade do vegetal (DOS SANTOS et al., 2017).

Apesar de existirem estudos isolados da ação do extrato de guaco na interferência alelopática e mutagênica, estudos associando a ação da cumarina sobre o fluxo de prótons e pH extracelular em raízes primárias, são inexistentes. Por isso, objetivamos avaliar a atividade alelopática da cumarina, presente no extrato de guaco, em dois organismos testes *Allium cepa* e *Lactuca sativa*, além de avaliar se sua atividade mutagênica e genotóxica está relacionada à modulação do fluxo extracelular de prótons.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais vegetal

Todo o estudo foi feito com extrato hidroalcoólico (70%) de *Mikania glomerata* em dois organismos testes: *Allium cepa* (cebola) e *Lactuca sativa* (alface). O *Allium cepa* é um reconhecido bioindicador de genotoxicidade, podendo ser utilizado para monitoramento ambiental e avaliação da mutagenicidade de muitos compostos químicos (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007). E a *Lactuca sativa* é muito utilizada para monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas e em estudos de avaliação alelopática (MACHADO et al., 2005).

### 2.2 Fluxo de íons prótons

A medição do fluxo de íons foi realizada com as raízes de *Allium cepa*, com 5mm de comprimento, que foram germinadas em tratamento contínuo nas concentrações de 0,001; 0,002; 0,004; 0,008 e 0,016 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina do extrato de guaco; controle negativo (CN); cumarina pura 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP) e metil-metano-sulfonato (MMS), como controle positivo (CP).

O fluxo de prótons no meio extracelular foi medido de acordo com Feijó e colaboradores (1999) e Ramos; Façanha; Feijó (2008). Os microeletrodos vibráteis ion-específicos serão produzidos como descrito por Feijó et al. (1999). Estes foram produzidos de microcapilares de borosilicato com diâmetro exterior de 1,5 mm e 1,12 mm de diâmetro interior (www.sutter.com), utilizando o aparelho Puller Flaming Brown, Sutter P-98 (Sutter Instruments, Novato, CA). Posteriormente, os microeletrodos foram colocados sob um

suporte de vidro e coberto por um becker de vidro (1 L) e secos em estufa a 250 ° C por 3 horas. Após este período, foi realizada a silanização dos microcapilares, por exposição a vapor de N, N-dimetiltrimetilsilamina (C<sub>5</sub>H<sub>15</sub>NSi, Fluka 41716), ainda na estufa por 20 minutos e deixados para secar por mais 3 horas, na mesma temperatura. Após a vaporização com silano (C<sub>5</sub>H<sub>15</sub>NSi), os microeletrodos foram preenchidos com uma solução de eletrólito (15 mM KCl e 40 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 6.0, para H<sup>+</sup>; 100 mM KCl para ânions e potássio; 100 mM CaCl<sub>2</sub> para Ca<sub>2</sub><sup>+</sup>) correspondente a uma coluna de 1,5 mm do eletrodo. Após esta etapa, foram preenchidos na ponta, com uma coluna de 20 a 25 µm do respectivo coquetel seletivo, contendo os ionóforos respectivos aos íons estudados (Fluka, Milwaukee, WI). Para estabelecer o contato elétrico com o meio, foi inserido na extremidade basal do microeletrodo, um suporte com um eletrodo de Ag/AgCl (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA).

O eletrodo de referência foi uma referência seca (DRIFEF-2, World Precision Instruments), inserido no meio de banho da amostra. Sinais foram medidos pelo amplificador ([www.applicableelectronics.com](http://www.applicableelectronics.com)), sendo a vibração e o posicionamento do eletrodo obtidos através de motores posicionais (stepper-motors), os quais permitem um movimento tridimensional. O controle dos motores, a aquisição de dados e o seu processamento preliminar foram ajustados no software ASET (Science Wares [East Falmouth, MA] – [www.sciencewares.com](http://www.sciencewares.com)). A calibração dos eletrodos foi realizada por medição do potencial (mV) registrada em três soluções contendo o íon em estudo, com concentração conhecida: 0,1mM, 1mM e 10mM, dado que as concentrações abrangem as condições dos meios utilizados.

A coleta dos dados da microsonda vibrátil seletiva foi realizada pelo software ASET, que fornece a informação necessária para calcular o fluxo iônico em um determinado ponto [x, y, z] do espaço, por meio da lei de Fick ( $J = D (dc/dx)$ ). O coeficiente de difusão (D) é um valor tabelado para cada íon (de acordo com Handbook of Chemistry and Physics, Chemical Rubber Co.). A diferença espacial (dx) resulta do cálculo da distância entre os dois pontos em que foram realizadas as medições das concentrações para cálculo do fluxo (10 µm). A diferença de concentração (dc) é um vetor que varia ao longo do ensaio. Em cada ponto, a concentração pode ser calculada a partir do valor de mV registrado no dado ponto e da equação previamente determinada para o ionóforo durante o processo de calibração.

## 2.3 Alelopatia

As sementes de *Allium cepa* e *Lactuca sativa* foram selecionadas de mesmo lote de fabricação e submetidas à germinação a fim de testar a alelopatia e os efeitos sobre o desenvolvimento inicial das plantas determinados pela concentração de cumarina em extrato hidroalcoólico 70% de *Mikania glomerata*. Para tanto foram realizados tratamentos com diferentes concentrações do extrato de acordo com seus teores de cumarina (0,001; 0,002; 0,004, 0,008 e 0,016 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina de extrato).

Para o controle negativo (CN) foi utilizada água destilada. No caso do controle positivo, foi utilizada cumarina pura na concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP). As sementes foram colocadas em placas de Petri forradas com papel filtro, nas quais foram adicionados



5mL do extrato de *M. glomerata* de cada uma das concentrações ou controles testados, sendo distribuídas 30 sementes por placa e cada tratamento feito em triplicata. As sementes ficaram em observação durante quatro dias e, a cada 24 horas, foram mensurados o número de sementes germinadas e o comprimento das radículas com o auxílio do Software gratuito, Image J.

Para mensurar efeito alelopático foram considerados: porcentagem do índice de germinação (%IG), índice de alelopátia (%IA), índice de velocidade de germinação (IVG), crescimento radicular médio (CRM) e índice de velocidade do crescimento radicular (IVCR).

## 2.4 Atividade mutagênica

Para esta avaliação foi utilizado o *Allium cepa*, e foram avaliadas as concentrações 0,001; 0,002; 0,004 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina de extrato de *M. glomerata*. Seguindo procedimento descrito por FISKESJÖ (1985) as sementes de *A. cepa* foram colocadas para germinação em: água destilada (CN), metilmetanosulfonato (MMS) 4x10<sup>-4</sup> M - controle positivo (CP) e nas concentrações de tratamento (0,001; 0,002; 0,004 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina de extrato de *M. glomerata*). As sementes germinaram diretamente nos tratamentos, sendo, portanto, caracterizadas como tratamento contínuo.

Após o período de germinação, as raízes foram coletadas e fixadas em Carnoy 3:1, submetidas à hidrólise em HCl 1N a 60°C, por 5 minutos e, posteriormente, foram confeccionadas as lâminas, pelo método de esmagamento. Para coloração, o material foi exposto ao Reativo de Schiff, por 48 minutos, em local protegido de luz, sendo o esmagamento da ponta da raiz realizado em uma gota de orceína acética 1%. As lamínulas foram fixadas com Entellan.

Para contagem das células, foram utilizadas cinco lâminas de cada tratamento, sendo contabilizadas 1000 células por lâmina, em microscópio óptico, em aumento de 40X, totalizando 5000 células analisadas por tratamento.

O efeito citotóxico foi calculado pelo índice mitótico (IM), onde:

$$IM = \frac{\text{Número de células em divisão}}{\text{Número total de células observadas}} \times 100$$

Para o efeito genotóxico, foi calculado o índice de aberração (IA), onde:

$$IA = \frac{\text{Número de células aberrantes}}{\text{Número total de células observadas}} \times 100$$

## 2.5. Estatística

Todos os dados foram avaliados usando ANOVA seguida do teste de Tukey (p<0,05), utilizando o software GraphPadPrism (GraphPad Software, San Diego, CA). Para a análise

mutagênica, os dados foram analisados por Kruskal Wallis com nível de significância de  $p \leq 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Fluxo de prótons

O teste dose-efeito realizado com o fluxo extracelular de  $H^+$  (Figura 1) revelou a concentração ideal de estudo em condições in vivo. Foi possível observar que todos os tratamentos promoveram uma inibição do fluxo de  $H^+$  (Figura 2) quando comparado ao controle negativo e a maior inibição do fluxo de  $H^+$  foi provocada pelo extrato hidro-alcoólico contendo cumarina ( $0,002 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), sem qualquer efeito de ruído na análise.

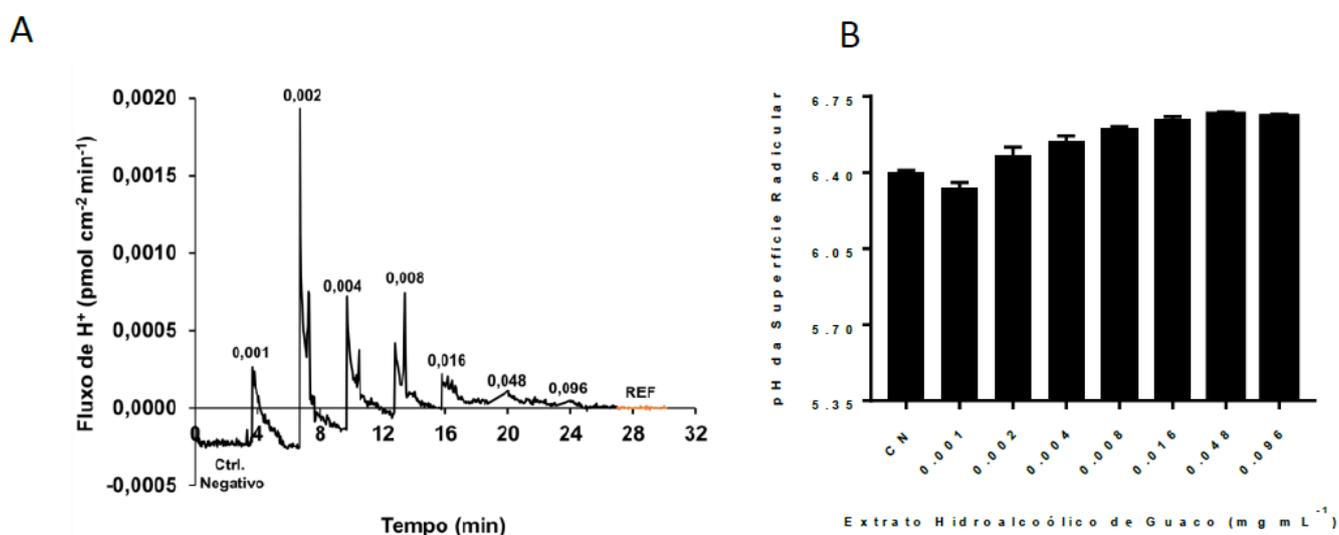


Figura 1 - Fluxos de  $H^+$  (A) e médias dos valores de pH da superfície radicular (B) detectados na zona de alongamento da raiz principal de *Allium cepa* com diferentes concentrações ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ) de extrato hidroalcoólico (70%) de *Mikania glomerata* (Guaco) adicionadas gradualmente no momento da medição. Valores em laranja representam a referência do meio de medição. CN (Controle Negativo =  $0,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ )

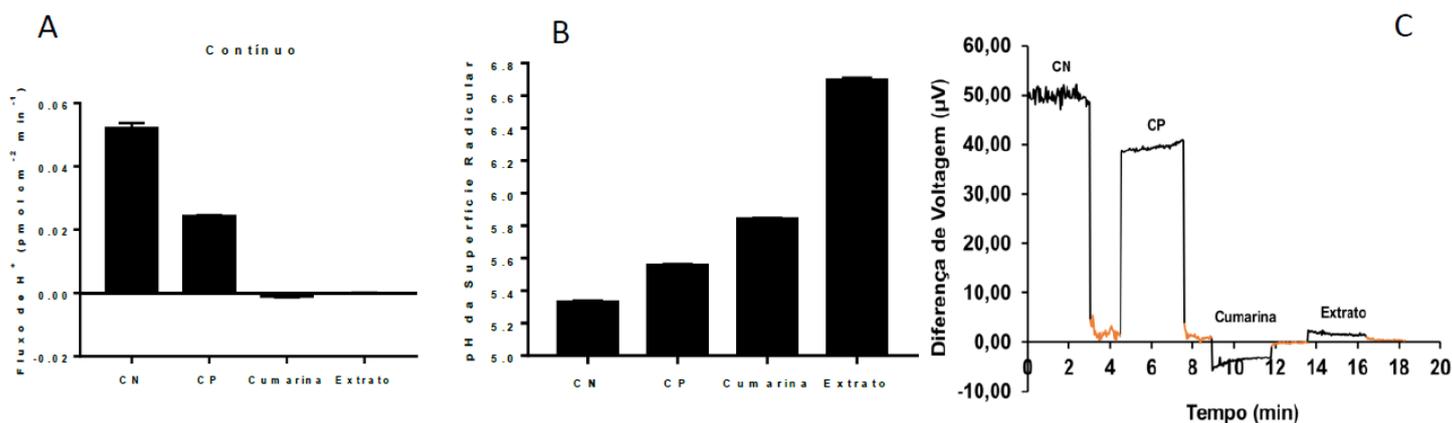


Figura 2 - Representação gráfica das médias dos valores dos fluxos de H<sup>+</sup> (A), das médias dos valores do pH da superfície radicular (B) e da diferença de voltagem (C) detectados na zona de alongamento da raiz principal de *Allium cepa*. O regime de medição adotado foi de modo descontínuo - 24h. As concentrações de cumarina e de extrato hidroalcoólico (70%) de *Mikania glomerata* (Guaco) utilizadas foram de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup>. CN = Controle Negativo (0,0 mg.mL<sup>-1</sup>), CP = Controle Positivo (cumarina pura em concentração de 0,02 mg.mL<sup>-1</sup>). 3.2. alelopatia 3.2.1 *Lactuca sativa*

Analisando a atividade alelopática, foi possível verificar que o extrato de *M. glomerata*, quando testado em *Lactuca sativa* apresentou um aumento significativo do índice de alelopatia (%IA) à partir da concentração de 0,004 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina no extrato, uma vez que esse índice é indicativo de alelopatia negativa quando os valores ultrapassam o limite de 50%. O mesmo resultado foi evidenciado no tratamento com a concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina pura. Quanto ao índice de germinação foi evidenciada uma queda deste parâmetro mediante o aumento da concentração de cumarina no extrato, demonstrando um comportamento dose-dependente (Tabela 1).

Extratos	Concentrações	Nº total de sementes	Nº sementes germinadas	Índice de germinação (%)	Índice de Alelopatia (%)
CN	-	90	65	72,22	-
CuP	Cumarina 0,002	90	32	35,56	50,77
	0,001	90	46	51,11	29,23
	0,002	90	46	51,11	29,23
Extrato Guaco	0,004	90	22	24,44	66,15
	0,008	90	4	4,44	93,85
	0,016	90	0	0	100

Tabela 1 - Índice de Alelopatia para as sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao tratamento contínuo com controle negativo (CN), cumarina pura em concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP) e com as concentrações decumarina 0,001; 0,002; 0,004; 0,008; 0,016 mg.mL<sup>-1</sup> de extrato hidroalcoólico (70%) de *Mikania glomerata* (Guaco)

Em relação ao índice de velocidade de germinação (IVG) foi possível observar que todas as concentrações de cumarina contidas no extrato ocasionaram um retardamento na germinação das sementes, todavia mais expressivo nas concentrações de 0,008 e 0,016 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina contida no extrato (Figura 3). A porcentagem do índice de germinação (%IG) evidencia que as maiores concentrações de cumarina contidas no extrato (0,008; 0,016 mg.mL<sup>-1</sup>), e a cumarina pura proporcionaram um declínio na germinação mais expressiva quando comparadas ao controle negativo.

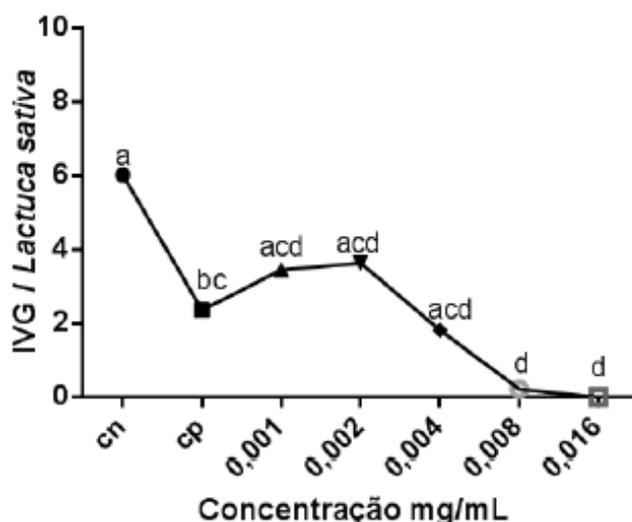


Figura 3 - Índice de velocidade de germinação do cultivar *Lactuca sativa*, em resposta ao tratamento contínuo com o controle negativo (CN), cumarina pura na concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP) e quatro concentrações de cumarina mg.mL<sup>-1</sup> contidas no extrato hidroalcoólico 70% de *Mikania glomerata*

Na avaliação do crescimento radicular médio (CRM) (Figura 4 A) e do índice de velocidade de crescimento da raiz (IVCR) (Figura 4 B) foi possível observar uma uniformidade de comportamento entre as concentrações estudadas, exceto nas concentrações de cumarina 0,008 e 0,016 mg.mL<sup>-1</sup>.

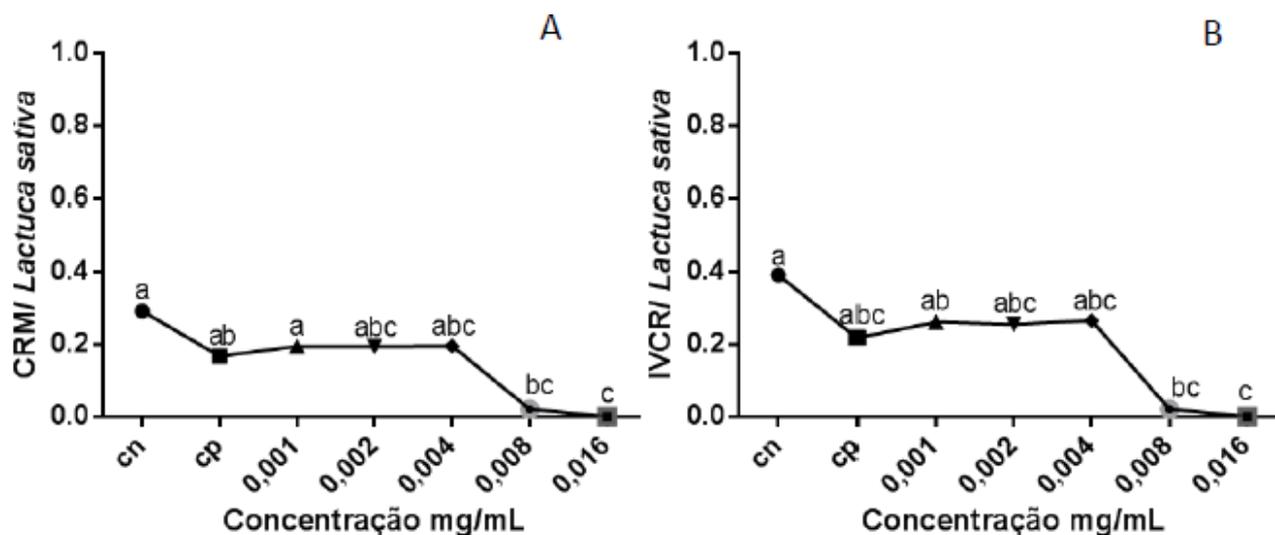


Figura 4 - A) Crescimento radicular médio (CRM); B) índice da velocidade do crescimento radicular (IVCR) do cultivar *Lactuca sativa*, em resposta ao tratamento contínuo com o controle negativo (CN), cumarina pura na concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP) e quatro concentrações de cumarina mg.mL<sup>-1</sup> contidas no extrato hidroalcoólico 70% de *Mikania glomerata*

### 3.2.2 *Allium cepa*

Na avaliação do efeito alelopático do extrato de *Mikania glomerata* sobre o *Allium cepa* foi possível verificar que o índice de alelopátia (%IA) ultrapassou o índice significativo de 50%, a partir da concentração 0,004 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina. Não sendo evidenciado efeito alelopático na concentração de cumarina pura a 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (Tabela 2).

Extratos	Concentrações	Nº total de sementes	Nº sementes germinadas	Índice de germinação (%)	Índice de Alelopatia (%)
CN	-	90	68	75,56	-
CuP	Cumarina 0,002	90	58	64,44	14,71
Extrato Guaco	0,001	90	54	60	20,59
	0,002	90	41	45,56	39,71
	0,004	90	18	20	73,53
	0,008	90	11	12,22	82,82
	0,016	90	2	2,22	97,06

Tabela 2 - Índice de Alelopatia para as sementes de *Allium cepa* submetidas ao tratamento contínuo com o controle negativo (CN), cumarina pura em concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP) e com as concentrações de cumarina 0,001; 0,002; 0,004; 0,008; 0,016 mg.mL<sup>-1</sup> de extrato hidroalcoólico (70%) de *Mikania glomerata* (Guaco)

No índice de velocidade de germinação (Figura 5) é possível verificar que as concentrações de 0,008 e 0,016 mg.mL<sup>-1</sup> de cumarina de extrato de *M. glomerata* determinaram uma queda da germinação, significativamente, mais expressiva que as demais, proporcionando um retardo na germinação (Figura 4). Ao observar o índice de germinação (%IG) (Figura 6) é possível perceber que existe um declínio dose-dependente na quantidade de sementes germinadas em relação ao aumento da concentração de cumarina mg.mL<sup>-1</sup> contidas no extrato. Nos parâmetros de crescimento radicular médio (CRM) e índice de velocidade de crescimento de raiz (IVCR) (Figura 7), é possível observar que não houve diferença significativa entre os tratamentos.

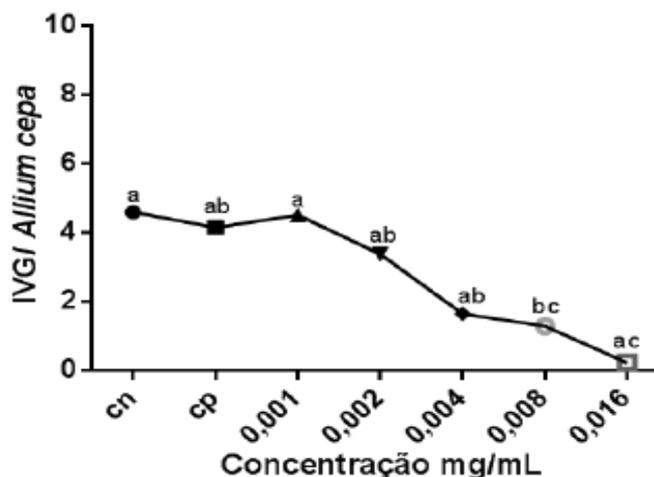


Figura 5 - Índice de velocidade de germinação (IVG) do cultivar *Allium cepa*, em resposta ao tratamento contínuo com o controle negativo (CN), cumarina pura na concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP) e quatro concentrações de cumarina mg.mL<sup>-1</sup> contidas no extrato hidroalcoólico 70% de *Mikania glomerata*

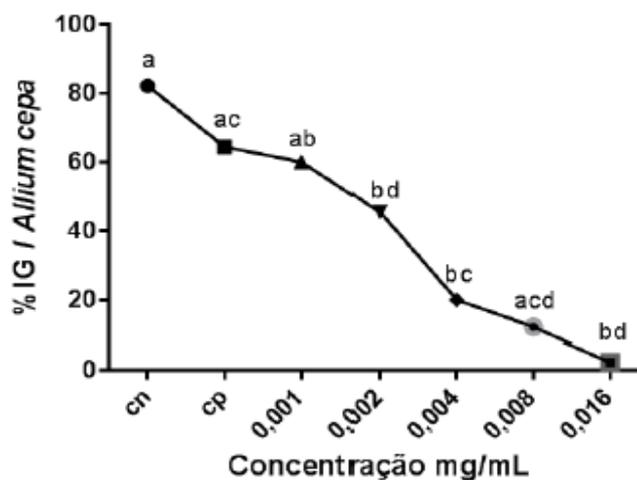


Figura 6 - Porcentagem do índice de germinação (%IG) do cultivar *Allium cepa*, em resposta ao tratamento contínuo com o controle negativo (CN), cumarina pura na concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP) e quatro concentrações de cumarina mg.mL<sup>-1</sup> contidas no extrato hidroalcoólico 70% de *Mikania glomerata*

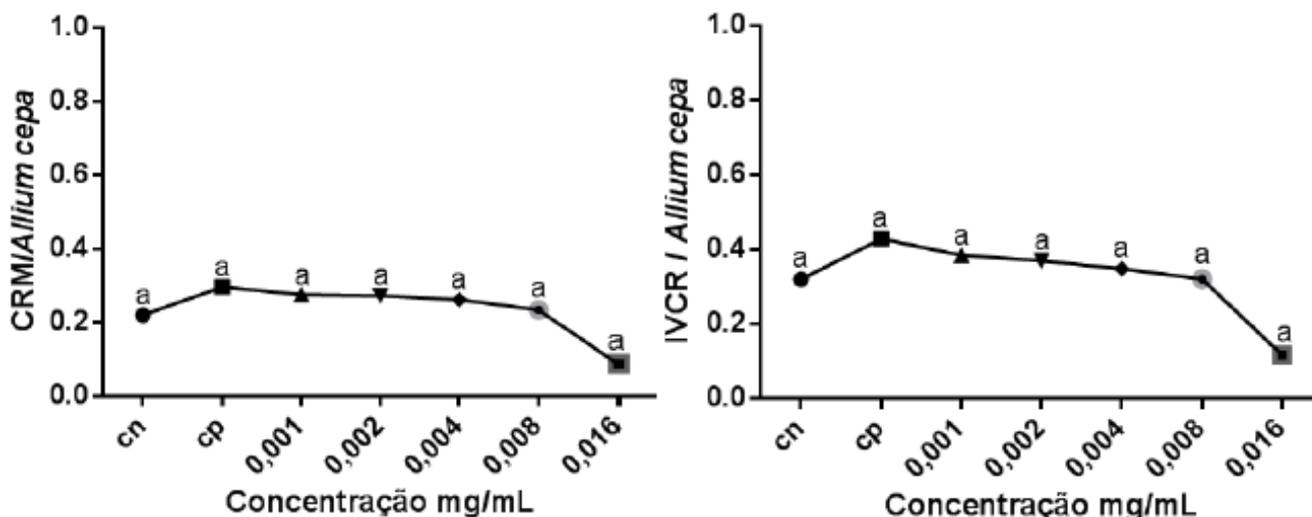


Figura 7 - Crescimento radicular médio (CRM) e índice de velocidade de crescimento radicular (IVCR) do cultivar *Allium cepa*, em resposta ao tratamento contínuo com o controle negativo (CN), cumarina pura na concentração de 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP) e quatro concentrações de cumarina mg.mL<sup>-1</sup> contidas no extrato hidroalcoólico 70% de *Mikania glomerata*

### 3.3 Atividade Mutagênica

Quanto aos dados relativos à análise mutagênica, foi possível verificar que as concentrações de 0,002 e 0,004 mg.mL<sup>-1</sup> de extrato de guaco apresentaram efeitos clastogênicos significativos (Figura 8) quando comparados ao controle positivo e ao tratamento CuP (Cumarina Pura a 0,002 mg.mL<sup>-1</sup>), não havendo diferença significativa entre os tratamentos para o índice mitótico e índice do efeito aneugênico.

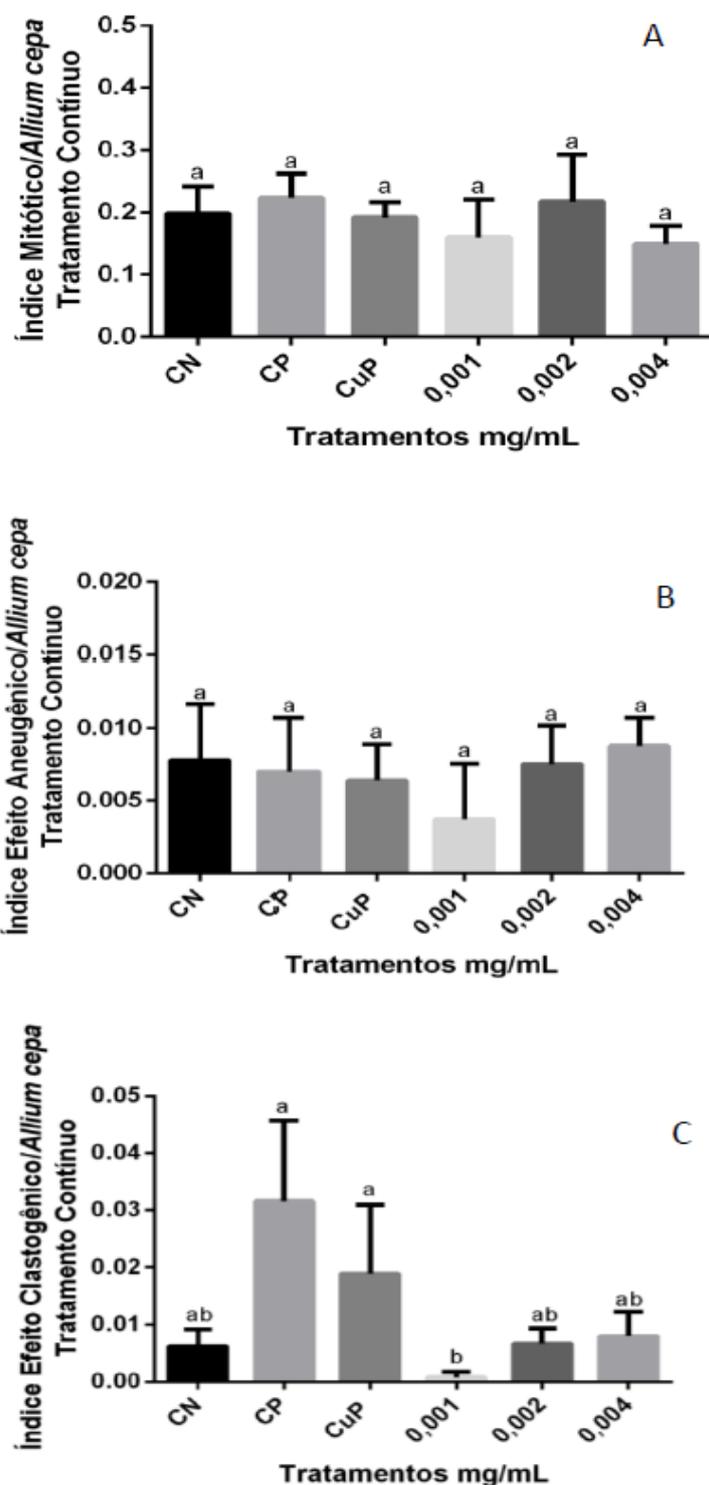


Figura 8 - A) Índice mitótico B) Índice efeito aneugênico C) Índice efeito clastogênico. Em sementes de *Allium cepa* em resposta ao tratamento contínuo, com controle negativo (CN), controle positivo metilmetanosulfonato - mms (CP), cumarina pura 0,002 mg.mL<sup>-1</sup> (CuP), e três concentrações de cumarina 0,001; 0,002 e 0,004 mg.mL<sup>-1</sup> em extrato de hidroalcoólico 70% de *Mikania glomerata*

## 4. DISCUSSÃO

A inibição do fluxo  $H^+$  causado pelo CuP e, especialmente, o extrato hidro-alcoólico contendo cumarina pode estar relacionada à inibição da germinação de sementes via bloqueio do efluxo de  $H^+$  relacionado à atividade das  $H^+$ -ATPases de membrana plasmática.

Por mais que o mecanismo bioquímico envolvido na ação da bomba seja conhecido com detalhes, as evidências do seu papel no crescimento com envolvimento de metabólitos secundários permanecem escassas. Estudo realizado por Lupini et al. (2010), em raízes de milho, verificou que o efeito de curto prazo da cumarina na zona de alongamento ocasionou hiperpolarização do potencial de membrana, sendo esta indução similar ao comportamento da auxina para este aleloquímico. Interação da cumarina com a membrana plasmática causa uma despolarização imediata, de forma direta ou indireta, havendo um estímulo da membrana e atividade da  $H^+$ -ATPase.

O efeito de produtos aleloquímicos, em diferentes processos fisiológicos da planta, é dependente das concentrações utilizadas. Diante dos dados obtidos, observa-se que a *Lactuca sativa* teve comportamento semelhante aos relatados no estudo de Debastiani (2015), em que concentrações de extrato de *Mikania glomerata* inibiram em 10% e 15% da germinação das sementes. O mesmo ocorreu nos estudos de Baratto et al. (2008), que evidenciaram maior capacidade alelopática em extrato etanólico de guaco, quando utilizadas concentrações de 5, 10, 15 e 20  $mg.mL^{-1}$ .

Em situações, em que não há germinação da semente, como é o caso deste trabalho, em concentrações de 0,008 e 0,016  $mg.mL^{-1}$ , pode-se aferir pela interferência dos aleloquímicos na cadeia de síntese de glicídios, suprimindo a fonte de carbono durante o processo fisiológico e como consequência a não germinação, ocorrendo por meio da redução da atividade enzimática de enzimas ligadas a glicólise e a via oxidativa de pentoses fosfatos, não atingindo níveis suficientes de ATP e esqueletos de carbono para germinação de sementes (GNIAZDOWSKA; BOGATEK, 2005).

Assim, como os efeitos alelopáticos podem ser mediados por substâncias que pertencem aos metabólitos secundários, há uma dificuldade para a identificação do principal responsável pela atividade alelopática e desta maneira a diferença da capacidade alelopática dos extratos pode ser explicada pela influência ambiental, variando de acordo com o estágio de desenvolvimento do vegetal ou com o tipo de cultivo empregado. Efeitos destes compostos em plantas próximas pode reduzir o crescimento de plantas vizinhas; contudo a alelopatia possui importância no equilíbrio do ecossistema (BARATTO et al., 2008)

Estudos citogenéticos evidenciam possíveis alterações cromossômicas nas plantas, devido à presença de agentes mutagênicos na sua composição ou provenientes do seu metabolismo, podendo ser detectados pela inibição do ciclo celular, interrupção de metáfases, indução e alterações cromossômicas (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007; VIEIRA; VICENTINI, 1997). Os dados da atividade mutagênica não corroboram os resultados obtidos por Dias et al. (2014), que quando trabalhando com concentrações elevadas de *Mikania*, observaram uma atividade antiproliferativa, com consequente queda do índice mitótico. As alterações clastogênicas podem ser comparadas com as encontradas por Dias et al. (2014), que ao utilizarem extrato aquoso de *Mikania glomerata*, nas concentrações de 4  $g.L^{-1}$  e 16  $g.L^{-1}$ , perceberam uma capacidade genotóxica, apresentando irregulari-

dades no cromossomo, como pontes anafásicas, quebras cromossômicas, cromossomos perdidos e células binucleadas. Muitos compostos podem ser responsáveis por este efeito clastogênico, uma vez que a *M. glomerata* possui uma grande quantidade de cumarina (1,2-benzopirona), triterpenos, heterosídeos, flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos e polifenóis em sua composição química conforme relatado por Bolina, Garcia e Duarte (2009) e Oliveira et al. (1984).

As alterações aneugênicas e clastogênicas, como formação de micronúcleo, podem ser explicadas por quebra do cromossomo ou não segregação dos cromossomos, lesões sem reparo ou reparadas incorretamente, ou má função mitótica (LUCIO NETO, 2011). Podendo também ser induzidas por estresse oxidativo, apresentando grande número de alterações cromossômicas (DA SILVA; MIRANDA; NETO, 2015). A ocorrência de micronúcleos está intimamente ligada à resposta da instabilidade do cromossomo, fenótipos e alterações deletérias genéticas, refletindo em alterações cromossômicas para a carcinogênese (STANGE et al., 2009).

## 5. AGRADECIMENTOS

A FAPES pela bolsa de doutorado concedida, a UFES pela estrutura laboratorial e professores e a UENF pela colaboração nas análises.

## Referências

- ANESE, S.; GRISI, P.U.; DE JESUS, L.J.; DE CÁSSIA, V.P.; GUALTIERI, S.C.J. Phytotoxic activity of different plant parts of *Drimys brasiliensis* Miers on germination and seedling development. **Bioscience Journal**, v. 31, 2015.
- ASIF, M. Pharmacological activities and phytochemistry of various plant containing coumarin derivatives. **Current Science**, v. 1, p. 77-90, 2015.
- BAGATINI, M.D.; SILVA, A.C.F.D.; TEDESCO, S.B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Rev Bras Farmacognosia**, v. 17, p. 444-447, 2007.
- BARATTO, L.; LANG, K.L.; VANZ, D.C.; REGINATTO, F.H.; OLIVEIRA, J.B.; FALKENBERG, M. Investigação das atividades alelopática e antimicrobiana de *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtida de cultivos hidropônicos e tradicionais. **Rev Bras Farmacognosia**, v. 18, p. 577-582, 2008.
- BOLINA, R.C.; GARCIA, E.D.E.; DUARTE, M.G.R. Comparative study of the chemical composition of the species *Mikania glomerata* Sprengel and *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. **Rev Bras Farmacognosia**, v. 19, p. 294-298, 2009.
- CZELUSNIAK, K.; BROCCO, A.; PEREIRA, D.; FREITAS, G. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 400-409, 2012.
- DA SILVA, A.E.P.; MIRANDA, J.W.; NETO, M.P.L. Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica da turnera ulmifolia l.(chanana) em células eucarióticas/evaluation toxicity, cytotoxic, genotoxic and mutagenic evaluation of *Turnera ulmifolia l.* (chanana) in eukaryotic cells. **Saúde em Foco**, v. 2, p. 25-48, 2015.
- DEBASTIANI, C. Interferência alelopática na germinação de alface e tomate por derivados de avenca (*Adiantum capillus-veneris* l.), espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* R.) e guaco (*Mikania glomerata* S.). **SaBios-**

-**Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, p. 15-22, 2015.

DIAS, M.; CANTO-DOROW, T.; COELHO, A.; TEDESCO, S. Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikania cordifolia* (LF) Willd.(Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 202-208, 2014.

DOS SANTOS, R.R.; TURRA, B.; SIMON, K.U.; DARÓS, M.R.; DE AGUIAR, A.P. **Análise de cumarina em diferentes modelos de cultivo da espécie medicinal *Mikania glomerata* spreng (asteraceae)**. 2017.

FEIJÓ, J.; SAINHAS, J.; HACKETT, G.; KUNKEL, J.; HEPLER, P. Growing pollen tubes possess a constitutive alkaline band in the clear zone and a growth-dependent acidic tip. **The Journal of cell biology**, v. 144, p. 483-496, 1999.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, p. 99-112, 1985.

GNIAZDOWSKA, A.; BOGATEK, R.. Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 27, p. 395-407, 2005.

HARUTA, M.; GRAY, W.M.; SUSSMAN, M.R. Regulation of the plasma membrane proton pump (H<sup>+</sup>-ATPase) by phosphorylation. **Current opinion in plant biology**, v. 28, p. 68-75, 2015.

HOSSAIN, M.; ANWAR, S.; NANDI, R. Allelopathic effects of *Mikania cordata* on forest and agricultural crops in Bangladesh. **Journal of forestry research**, v. 27, p. 155-159, 2016.

KAUFMAN, P.B.; CSEKE, L.J.; WARBER, S.; DUKE, J.A.; BRIELMANN, H.L. **Natural products from plants**. CRC Press Inc., 1998.

LUCIO NETO, M. **Avaliação Tóxica, Citotóxica, Genotóxica e Mutagênica do Composto 3-(2-cloro-6-fluorobenzil)-imidazolidina-2, 4-diona em Células Eucarióticas**. Master thesis, Universidade Federal do Piauí, Piauí, 2011.

LUPINI, A.; SORGONÀ, A.; MILLER, A.J.; ABENAVOLI, M.R. Short-term effects of coumarin along the maize primary root axis. **Plant signaling & behavior**, v. 5, p. 1395-1400, 2010.

MACHADO, S.A.; STEIN, V.C.; VESZ CATTELAN, L.; BOBROWSKI, V.L.; GOMES ROCHA, B.H. 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**, v. 5, 2005.

MENSAH, E.E.; OWUSU-MENSAH, I.; OPPONG, E.; OSEI-SAKA, M. Allelopathic Effect of Topsoil Extract From *Tectona grandis* L. Plantation on the Germination of *Lycopersicum esculentum*. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 5, 2015.

OLIVEIRA, F.D.; ALVARENGA, M.; AKISUE, G.; AKISUE, M. Isolamento e identificação de componentes químicos de *Mikania glomerata* Sprengel e de *Mikania laevigata* Schultze Bip. Ex Baker. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 20, p. 169-183, 1984.

RAMOS, A.C.; FAÇANHA, A.R.; FEIJÓ, J.A. Proton (H<sup>+</sup>) flux signature for the pre symbiotic development of the arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 178, p. 177-188, 2008.

RAPOSO, J.D.A.; NEVES, F.G.; AGUIAR, W.A.D.; MAGALHÃES, P.M.; SILVA, R.; MAIA, J.G.S.; MOURÃO, R.H.V. Cultivation of Guaco (*Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker) in the Lower Amazon River and monitoring of coumarin, its principal active constituent. 2017.

SAHID, I.; TAN, P.; CHUAH, T. Assessment of the potential allelopathic effects of *Pennisetum purpureum* Schumach. On the germination and growth of *Eleusine indica* (L.) Gaertn. **Sains Malaysiana**, v. 44, p. 269-274, 2015.

SALEH, A.M.; MADANY, M.M.; GONZÁLEZ, L. The effect of coumarin application on early growth and some physiological parameters in Faba Bean (*Vicia faba* L.). **Journal of Plant Growth Regulation** 34, 233-241. 2015.

SOUZA FILHO, A.D.S, Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais. **Embrapa Amazônia Oriental**. 2002.

STANGE, V.S.; GOMES, T.; ANDRADE, M.A.D.; BATITUCCI, M.D.C.P. Avaliação do efeito mutagênico do

extrato hidroalcoólico bruto, por meio de bioensaios in vivo e prospecção fitoquímica de *Cecropia glaziovii* Sneth (embaúba), Cecropiaceae. **Rev Bras Farmacognosia**, v. 19, p. 637-642, 2009.

VIEIRA, D.; VICENTINI, V. Estudo do efeito mutagênico do floxacina em *Allium cepa*. **Genetics Molecular Biology Supplement**, v. 42, 1997.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A.; WEBER, G. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado**. Documentos, 2010.

# CAPÍTULO 7

## **IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC) A PARTIR DO CONHECIMENTO DE SEUS USOS POR UMA POPULAÇÃO AMOSTRAL DA GRANDE VITÓRIA - ES**

*IDENTIFICATION OF NON-CONVENTIONAL FOOD PLANTS (PANC)  
BASED ON THE KNOWLEDGE OF THEIR USES BY A SAMPLING  
POPULATION IN GRANDE VITÓRIA - ES*

**Beatriz Ribeiro Cordeiro Lyrio  
Maria Gabriela Pissinati Trindade  
Wagner Vitor de Mattos Oliveira  
Maria do Carmo Pimentel Batitucci**



## Resumo

**E**ste trabalho trata-se de uma pesquisa descritiva com abordagem mista, que tem por objetivo relacionar o nível de conhecimento de uma população amostral da Grande Vitória, e as variações entre as faixas etárias, quanto ao potencial alimentício de algumas plantas, a fim de identificar possíveis Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC). Para isso, foram entrevistadas 40 pessoas acerca do conhecimento a respeito de 33 plantas pré-selecionadas pela autora. A população amostral foi dividida em 4 categorias (adolescentes, jovens, adultos com menos de 49 anos e adultos com 50 anos ou mais). Com exceção do enquadramento de idades (maiores de 14 anos), não houve critérios de exclusão ou restrição. Os dados foram dispostos em tabelas e gráficos para melhor análise. Ao final da pesquisa foi possível identificar 12 possíveis PANC, 17 plantas convencionais, sendo destas 13 possuindo Partes Alimentícias Não Convencionais, e 4 plantas que apesar de serem bem conhecidas pelos adultos, eram pouco conhecidas por adolescentes e jovens (menos de 40% da população amostral). Acredita-se que a diminuição do repasse dos conhecimentos tradicionais, a redução de áreas agriculturáveis, para a construção de hortas e jardins, e pela falta de curiosidade das novas gerações em conhecer novas plantas, o conhecimento acerca das PANC está diminuindo.

**Palavras-chave:** Etnobotânica, Agrobiodiversidade, Segurança alimentar.

## Abstract

**T**his work is a descriptive research with a mixed approach, whose general objective is to relate the level of knowledge of a sample population in Greater Vitória, and the variations between age groups, regarding the food potential of some plants, in order to identify possible Unconventional Food Plants (PANC). For this, 40 people were interviewed about knowledge about 33 plants pre-selected by the author. The sample population was divided into 4 categories (adolescents, young people, adults aged up to 49 years and adults aged 50 years and over). Except for the age grouping (over 14 years old), there were no exclusion or restriction criteria. The data were arranged in tables and graphs for better analysis. At the end of the research, it was possible to identify 12 possible PANC, 17 conventional plants, of which 13 have Non-Conventional Food Parts, and 4 plants that, despite being well known by adults, were little known by adolescents and young people (less than 40% of the population sample). It is believed that the decrease in the transfer of traditional knowledge, the reduction of agricultural areas, for the construction of vegetable gardens and gardens, and the lack of curiosity of the new generations, in knowing new plants, the knowledge about the PANC is decreasing.

**Keywords:** Ethnobotany, Agrobiodiversity, Food Security.

## 1. INTRODUÇÃO

Durante conversas cotidianas, é observado que algumas pessoas não conhecem alguns vegetais, incluindo os que são comercializados em supermercados, além de muitas comunidades terem perdido os hábitos alimentares ao longo do tempo. Com isso, surgiu o interesse em saber se certos alimentos, ainda eram comercializados em supermercados e se eram conhecidos.

A expressão “Plantas Alimentícias Não Convencionais” (PANC) surgiu com o biólogo Valdely Kinupp. No conceito amplo de Kinupp, plantas mesmo que convencionais, mas que possuam partes não convencionais, também são consideradas PANC. Ademais, pelo conceito de PANC adotado por Kinupp e Lorenzi (2014) as plantas medicinais também são consideradas alimento. As PANC são resistentes a mudanças climáticas, são de fácil cultivo e muitas crescem de forma espontânea e, portanto, devido à falta de conhecimento sobre o potencial alimentício destas plantas, muitas são consideradas “ervas daninhas” (CHAVES, 2016). Kinupp e Lorenzi (2014) alegam que a maioria das pessoas “não conhecem nem mesmo as plantas [...] que compõem a maior parte da nossa alimentação”. Muitos quando vão aos supermercados ou feiras não sabem o nome de muitas das plantas alimentícias, “nem são curiosos para perguntar o que é” e, conseqüentemente, “não compram, não experimentam, não testam” (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 13).

Ferrão *et al* (2014), em sua pesquisa sobre a importância do conhecimento tradicional no uso de plantas medicinais, verificou “que dentre todos os entrevistados com conhecimento acerca de plantas, apenas 4% eram jovens [...] o que em breve pode ocasionar a extinção de um saber único”. Esses conhecimentos tradicionais são frutos da luta pela sobrevivência e da experiência das comunidades, adquirida ao longo dos séculos, adaptados às necessidades locais, culturais e ambientais e transmitidos por gerações (BRASIL, 2012). Nesse tema, Santilli (2004) menciona que muitos estudos demonstram que o conhecimento tradicional tem papel de fundamental importância na conservação da diversidade biológica de nossos ecossistemas, principalmente das florestas tropicais.

Por conseguinte, tendo em vista a importância do conhecimento tradicional e que “o Brasil detém a maior biodiversidade do mundo, com aproximadamente 15 a 20% das espécies do planeta” (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 21), vê-se a necessidade de medidas, tanto para a manutenção deste saber, quanto para a divulgação de plantas, principalmente as PANC. Em vista dos assuntos apresentados, este trabalho tem como objetivo relacionar o nível de conhecimento de uma população amostral da Grande Vitória, e as variações entre as faixas etárias, quanto ao potencial alimentício de algumas plantas, a fim de identificar possíveis PANC.

## 2. METODOLOGIA

A pesquisa apresentada é de caráter descritivo com abordagem mista. Os dados foram traduzidos em porcentagens e convertidos em gráficos. Procurou-se descrever as relações das informações apresentadas para “descobrir a existência de associações entre



variáveis” (GIL, 2008, p.28), além de considerar dados adquiridos ao longo das entrevistas.

## 2.1 Caracterização da Amostra e Coleta de Dados.

Foram selecionadas de forma aleatória quarenta pessoas residentes da Grande Vitória, no Espírito Santo, sendo elas: Vila Velha, Vitória, Cariacica e Serra, para compor a população amostral, que se trata de uma população urbana. Com exceção do enquadramento de idades, conforme abaixo, não houve critério de exclusão ou restrição para a escolha dos entrevistados. A amostra foi separada de acordo com a faixa etária como indicado na tabela 1.

Categoria	Quantidade de pessoas	Faixa etária	Moda ou Média
Adolescentes	10	14 a 17 anos	15 anos (moda)
Jovens	10	18 a 29 anos	23 anos (moda)
Adultos menores de 49 anos (< 49)	10	30 a 49 anos	39 anos (média)
Adultos maiores de 49 anos (> 49)	10	A partir de 50 anos	60 anos (média)

Tabela 1 - Categorias escolhidas, quantidade de pessoas e moda e média das idades indicadas.

Para a coleta de dados foram utilizadas entrevistas sobre 33 plantas escolhidas previamente, além de uma pergunta final: “Você tem o costume de consumir alguma outra planta que não foi citada aqui e que não se encontra facilmente em feiras?”. Houve o consentimento dos entrevistados ou de seus responsáveis (no caso dos menores de idade) para a realização das entrevistas. A escolha das plantas ocorreu a partir de um estudo sobre PANC, em que foi observada a citação de plantas que eram comuns na alimentação da autora e outras que estão deixando de ser consumidas pela comunidade. No parágrafo seguinte encontra-se a lista das plantas escolhidas na ordem em que foram selecionadas conforme a seguinte hipótese: em que as primeiras plantas citadas seriam as mais conhecidas.

- **Planta 1:** *Eugenia uniflora* L. Nome popular: Pitanga.
- **Planta 2:** *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel. Nome popular: Jabuticaba.
- **Planta 3:** *Morus nigra* L. Nome popular: Amora.
- **Planta 4:** *Psidium acutangulum* DC. Nome popular: Araçá amarelo.
- **Planta 5:** *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg. Nome popular: Fruta-pão.
- **Planta 6:** *Musa x paradisiaca* L. Nome popular: Banana-da-terra.
- **Planta 7:** *Spondias purpurea* L. Nome popular: Seriguela, ciriguela.

- **Planta 8:** *Hylocereus lemairei* e *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose. Nome popular: Pitaia-roxa e pitaia-branca.
- **Planta 9:** *Arracacia xanthorrhiza* Bancr. Nome popular: Batata baroa.
- **Planta 10:** *Colocasia esculenta* (L.) Schott. Nome popular: Inhame.
- **Planta 11:** *Cucumis anguria* L. Nome popular: Maxixe.
- **Planta 12:** *Caryocar brasiliense* Cambess. Nome popular: Pequi.
- **Planta 13:** *Carica papaya* L. Nome popular: Mamoeiro.
- **Planta 14:** *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M.Perry. Nome popular: Jambó-vermelho.
- **Planta 15:** *Averrhoa bilimbi* L. Nome popular: Limão-caieno, biri-biri.
- **Planta 16:** *Luffa aegyptiaca* Mill. Nome popular: Bucha.
- **Planta 17:** *Cajanus cajan* (L.) Huth. Nome popular: Guandu.
- **Planta 18:** *Xanthosoma taioba* E.G.Gonç. Nome popular: Taioba.
- **Planta 19:** *Lactuca canadensis* L. Nome popular: Almeirão-roxo.
- **Planta 20:** *Stachys byzantina* K.Koch. Nome popular: Peixinho da horta.
- **Planta 21:** *Brassica juncea* (L.) Czern. Nome popular: Mostarda verde.
- **Planta 22:** *Ocimum campechianum* Mill. Nome popular: Alfavaca.
- **Planta 23:** *Mentha piperita* L. Nome popular: Hortelã.
- **Planta 24:** *Plantago major* L. Nome popular: Tansagem; tanchagem.
- **Planta 25:** *Oxalis latifolia* Kunth. Nome popular: Azedinha; Trevo.
- **Planta 26:** *Portulaca oleracea* L. Nome popular: Beldroega; onze horas.
- **Planta 27:** *Tropaeolum majus* L. Nome popular: Capuchinha.
- **Planta 28:** *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Nome popular: Capim cidreira; capim limão; capim santo; erva cidreira.
- **Planta 29:** *Schinus terebinthifolia* Raddi. Nome popular: Aroeira; pimenta rosa.

- **Planta 30:** *Pereskia aculeata* Mill. Nome popular: Ora-pro-nóbis; carne-de-pobre.
- **Planta 31:** *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos; *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith; *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo. Nomes populares: Ipê amarelo; Ipê branco; Ipê roxo.
- **Planta 32:** *Chenopodium ambrosioides* L. Nome popular: Erva-de-santa-maria; Mastruz; Mastruço.
- **Planta 33:** *Coronopus didymus* (L.) Sm. Nome popular: Mastruz; Menstruz

## 2.2 Tabulação e Análise de Dados

Os dados das entrevistas foram tabulados pelo programa Excel e convertidos em porcentagens. Na tabela 2 constam as informações acerca do conhecimento, ou não, das plantas investigadas, sendo classificadas em “Conhece” ou “Não conhece”. Os gráficos foram gerados a partir de dados dos entrevistados que alegaram conhecer as plantas. Para fins de classificação em PANC, adotou-se o seguinte critério: as plantas que eram conhecidas por menos de 40% da população amostral foram classificadas como possíveis PANC, e as plantas com mais de 40% de conhecimento dos entrevistados foram categorizadas como Plantas Convencionais. Em seguida, procurou-se identificar possíveis partes e/ou uso Alimentícios Não Convencionais das Plantas Convencionais. Além de listar as Plantas citadas em resposta da pergunta final: “Você tem o costume de consumir alguma outra planta que não foi citada aqui, e que não se encontra facilmente em feiras?”.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as informações descritas na tabela 2, todas as plantas apresentadas são mais conhecidas pelos adultos (< 49 ou > 49), em relação aos jovens e adolescentes, com exceção da Amora e dos Ipês. No caso da Amora, os adolescentes e jovens demonstraram conhecer a planta mais do que os adultos com < 49 anos, o que foi um resultado inesperado, pois essa é uma planta muito cultivada no Sudeste do Brasil (KINUPP; LORENZI, 2014). Em relação aos Ipês, os jovens demonstraram conhecer mais que os adultos com > 49, porém com margem pequena de diferença. A quantidade de adolescentes, jovens e adultos que não conhecem nenhum dos Ipês impressiona por ser uma árvore amplamente utilizada na arborização e paisagismo urbano na região Sudeste do país, incluindo a Grande Vitória.

<b>Plantas</b>	<b>Categorias</b>	<b>Adolescentes</b>	<b>Jovens</b>	<b>Adultos &lt; 49</b>	<b>Adultos &gt; 49</b>
1. Pitanga	Conhece	80%	70%	-	-
	Não Conhece	20%	30%	100%	100%
2. Jabuticaba	Conhece	90%	-	-	-
	Não Conhece	10%	100%	100%	100%
3. Amora	Conhece	80%	-	70%	100%
	Não Conhece	20%	100%	30%	
4. Araçá	Conhece	-	20%	70%	60%
	Não Conhece	100%	80%	30%	40%
5. Fruta Pão	Conhece	40%	30%	70%	-
	Não Conhece	60%	70%	30%	100%
6. Bananeira	Conhece	-	-	-	-
	Não Conhece	100%	100%	100%	100%
7. Seriguela	Conhece	30%	60%	80%	70%
	Não Conhece	70%	40%	20%	30%
8. Pitaia	Conhece	20%	50%	70%	70%
	Não Conhece	80%	50%	30%	30%
9. Batata Baroa	Conhece	10%	50%	90%	-
	Não Conhece	90%	50%	10%	100%
10. Inhame	Conhece	80%	90%	-	-
	Não Conhece	20%	10%	100%	100%
11. Maxixe	Conhece	30%	60%	90%	-
	Não Conhece	70%	40%	10%	100%
12. Pequi	Conhece	10%	-	40%	40%
	Não Conhece	90%	100%	60%	60%
13. Mamoeiro	Conhece	-	-	-	-
	Não Conhece	100%	100%	100%	100%
14. Jambo	Conhece	90%	80%	-	-
	Não Conhece	10%	20%	100%	100%
15. Biri-Biri	Conhece	60%	30%	70%	70%
	Não Conhece	40%	70%	30%	30%
16. Bucha	Conhece	80%	-	-	-
	Não Conhece	20%	100%	100%	100%
17. Guandu	Conhece	30%	40%	80%	90%
	Não Conhece	70%	60%	20%	10%
18. Taioba	Conhece	40%	50%	90%	90%
	Não Conhece	60%	50%	10%	10%

19. Almeirão	Conhece	20%	30%	70%	90%
	Não Conhece	80%	70%	30%	10%
20. Peixinho	Conhece	-	-	30%	30%
	Não Conhece	100%	100%	70%	70%
21. Mostarda	Conhece	10%	20%	40%	40%
	Não Conhece	90%	80%	60%	60%
22. Alfavaca	Conhece	-	-	30%	30%
	Não Conhece	100%	100%	70%	70%
23. Hortelã	Conhece	90%	80%	-	-
	Não Conhece	10%	20%	100%	100%
24. Tansagem	Conhece	-	-	50%	50%
	Não Conhece	100%	100%	50%	50%
25. Azedinha	Conhece	40%	30%	70%	60%
	Não Conhece	60%	70%	30%	40%
26. Beldroega	Conhece	-	10%	60%	30%
	Não Conhece	100%	90%	40%	70%
27. Capucinha	Conhece	-	10%	10%	20%
	Não Conhece	100%	90%	90%	80%
28. Cidreira	Conhece	20%	70%	90%	-
	Não Conhece	80%	30%	10%	100%
29. Aroeira	Conhece	-	10%	60%	60%
	Não Conhece	100%	90%	40%	40%
30. Ora-pro-nóbis	Conhece	-	-	20%	30%
	Não Conhece	100%	100%	80%	70%
31. Ipês	Conhece	20%	80%	80%	70%
	Não Conhece	80%	20%	20%	30%
32. Erva de Santa Maria/ Mastruço	Conhece	10%	-	20%	10%
	Não Conhece	90%	100%	80%	90%
33. Mastruz	Conhece	10%	-	10%	20%
	Não Conhece	90%	100%	90%	80%

Tabela 2 - Relação, em porcentagem, de pessoas que conhecem, ou não, as plantas alimentícias pré-selecionadas.

De acordo com os dados da tabela 2, as plantas mais conhecidas foram: bananeira, mamoeiro, jabuticaba, jambo, inhame, hortelã e bucha. A pitanga não entrou nesta lista pois 30% dos jovens responderam que não a conhecem, mesmo sendo encontradas em muitas praias da Grande Vitória.

Analisando a figura 1 (A), podemos verificar que a pitanga é bastante conhecida devido ao seu consumo alimentar, mas pouco conhecida quanto ao uso medicinal. A jabuticabeira (figura 1, B) foi uma das plantas mais conhecidas, com 90% dos adolescentes e 100% dos jovens e adultos. As folhas e cascas da jabuticaba "são consideradas ads-

tringentes e o seu decocto é empregado popularmente em diarreia e irritações de pele” (MEIRA *et al.*, 2016, p.52). Apesar das folhas possuírem um uso medicinal, apenas 20% dos adultos e 11% dos adolescentes conhecem essa utilização. Além dos frutos *in natura* da amora (figura 1, C), as folhas são popularmente usadas para fazer chás para reposição hormonal e evitar queda de cabelos, e as “folhas jovens e brotinhos tenros podem ser branqueados e usados como verdura cozida” (KINUPP; LORENZI, 2014, p.532). Apesar disso, o uso dos brotinhos não foi citado, nem das folhas como saladas, mas o uso das folhas para chá é conhecido por 50% dos adultos com mais de 49 anos, cerca de 43% dos adultos com menos de 49 anos, 10% dos jovens e 14% dos adolescentes.

O araçá (figura 1, D) é encontrado na região Sudeste (KINUPP; LORENZI, 2014), mas é pouco conhecido entre os adolescentes e os jovens entrevistados. Já entre os adultos é uma planta mais conhecida, apesar do número considerável de adultos com menos de 49 anos (30%) e os com mais de 49 anos (40%) não a conhecerem. A fruta-pão (figura 2, A) é uma árvore e seu fruto pode ser consumido cru ou cozido, “as inflorescências masculinas jovens são cozidas como verdura ou usadas para doces ou cristalizados” (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 520). É uma planta conhecida por todos os adultos com mais de 49 anos e pela maioria dos adultos com menos de 49 anos, mas é desconhecida para a maioria dos adolescentes e jovens. Os usos citados para essa planta foram o do fruto cozido ou frito, mas o seu consumo cru e da inflorescência não foram citados. 1 adulto com mais de 49 anos relatou o uso das folhas para chá com potencial diurético. A bananeira (figura 2, B) é conhecida por todas as pessoas, mas poucos adolescentes e jovens conhecem o seu uso além da fruta. Como, por exemplo, o uso do umbigo/coração, com uso medicinal para fazer xarope e uso alimentício. Kinupp e Lorenzi (2014) citam o consumo também das flores, no entanto, tal uso não foi citado por nenhum entrevistado.

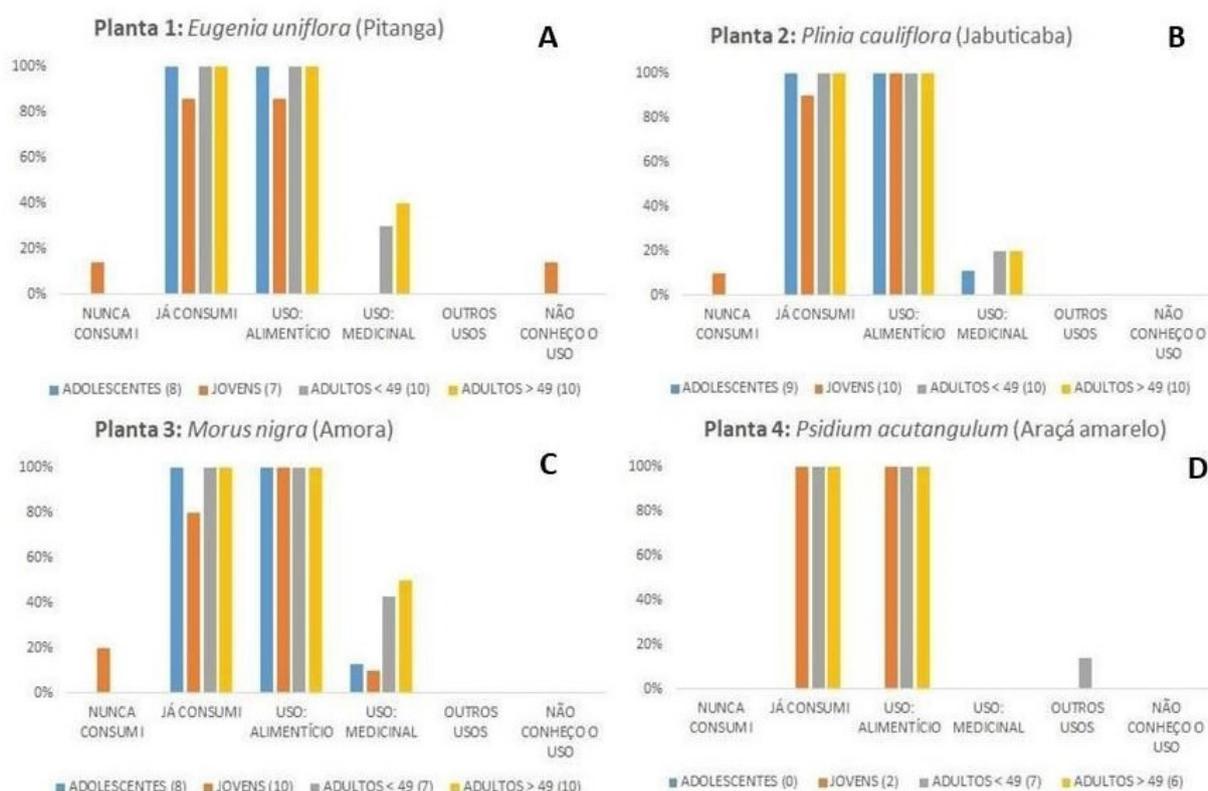


Figura 1 - Percentuais de indivíduos em relação ao conhecimento do uso e consumo das plantas 1, 2, 3 e 4. A: *Eugenia uniflora* (Pitanga); B: *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Jaboticaba); C: *Morus nigra* (Amora); D: *Psidium acutangulum* DC. (Araçá)

A seriguela (figura 2, C) é bem conhecida pelos jovens e adultos, mas pouco conhecida pelos adolescentes. 1 adolescente disse conhecer o uso medicinal da seriguela, mas não soube explicar para quê. O fruto, as flores e o caule (cladódios) de pitaia (figura 2, D) podem ser consumidos (KINUPP; LORENZI, 2014), mas apesar de bem conhecidas pelos jovens e adultos, a maioria só reconhece o uso do fruto. Apenas 10% dos adultos de ambas as categorias e 1 adolescente relataram conhecer o seu uso também como medicinal. De acordo com um adulto com mais de 49 anos, a raiz da pitaia tem potencial para “desentupir veias”.

A batata baroa (figura 3, A) possui as raízes, folhas e pecíolos comestíveis (KINUPP; LORENZI, 2014), é bastante conhecida pelos entrevistados, com exceção dos adolescentes (1%), os quais só conhecem o consumo da raiz. O inhame (figura 3, B) é conhecido pela maioria dos entrevistados, o que era esperado, já que, de acordo com Kinupp e Lorenzi (2014), o Espírito Santo é um dos principais produtores. O uso foi relatado como alimentício e medicinal. Apenas 1 adulto com mais de 49 anos relatou o uso da casca para xarope. O maxixe (figura 3, C) foi bastante identificado pelos adultos, pouco mais da metade dos jovens e a minoria dos adolescentes o conhecem. Destaca-se que não houve relatos de outras partes para consumo que não o fruto. Já o pequi (figura 3, D) é mais comum em Goiás e Minas Gerais (KINUPP; LORENZI, 2014), mas boa parte dos adultos, de ambas as categorias, conhecem o fruto e destes, boa parte já o consumiram. Porém, essa planta pode ser classificada como PANC, pois é conhecida por menos de 40% dos entrevistados.

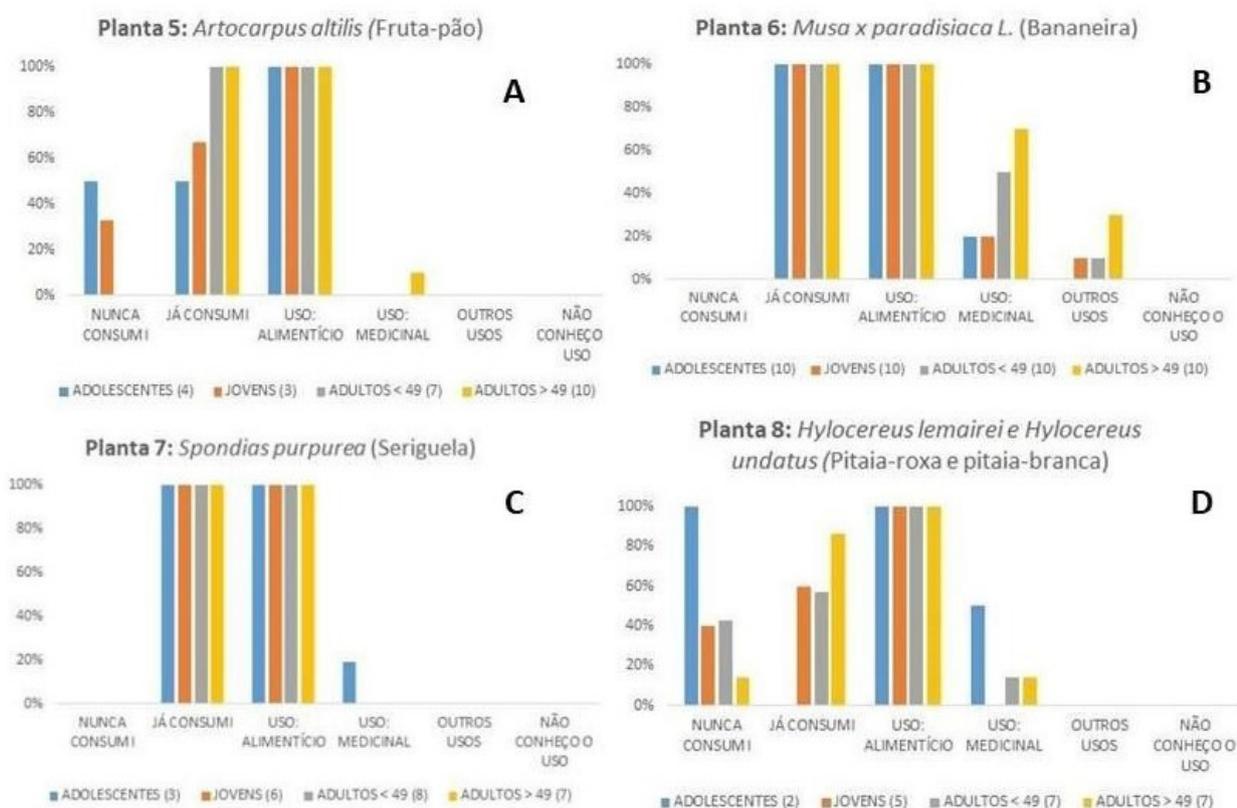


Figura 2 - Percentuais de indivíduos em relação ao conhecimento do uso e consumo de 5, 6, 7 e 8. A: *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg (Fruta-pão); B: *Musa x paradisiaca* L. (Bananeira); C: *Spondias purpurea* (Seriguela); D: *Hylocereus lemairei* e *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose (Pitaia-roxa e Pitaia branca).

O mamoeiro (figura 4, A) é conhecido por todos os entrevistados. Apesar de seus frutos verdes serem considerados não convencionais, aqui ele se apresenta como convencional, já que todos os adultos e 50% dos jovens já consumiram mamão verde. O uso relatado como medicinal seria do chá das flores, conhecido por 50% dos adultos com menos de 49 anos e por 30% dos adultos com mais de 49 anos. O jambo (figura 4, B) é uma das árvores mais conhecidas, Kinupp e Lorenzi (2014) trazem as flores também como comestíveis, mas não foram relatadas aqui como alimentícias e sim como medicinais, o uso só é relatado por apenas por 1 adolescente e 1 adulto com mais 49 anos. O limão-caieiro ou biri-biri (figura 4, C) é conhecido pela maioria dos adolescentes e adultos, mas pouco conhecido pelos jovens, principalmente pelo uso alimentar. Apenas 20% dos jovens e 10% dos adultos (ambas as categorias) o conhecem para uso medicinal. O fruto “é utilizado para tratamento de hiperlipidemia, hipertensão e diabete por diferentes comunidades, além do uso no local das picadas de criaturas venenosas” (PASCHOALIN *et al.*, 2014, p. 545).

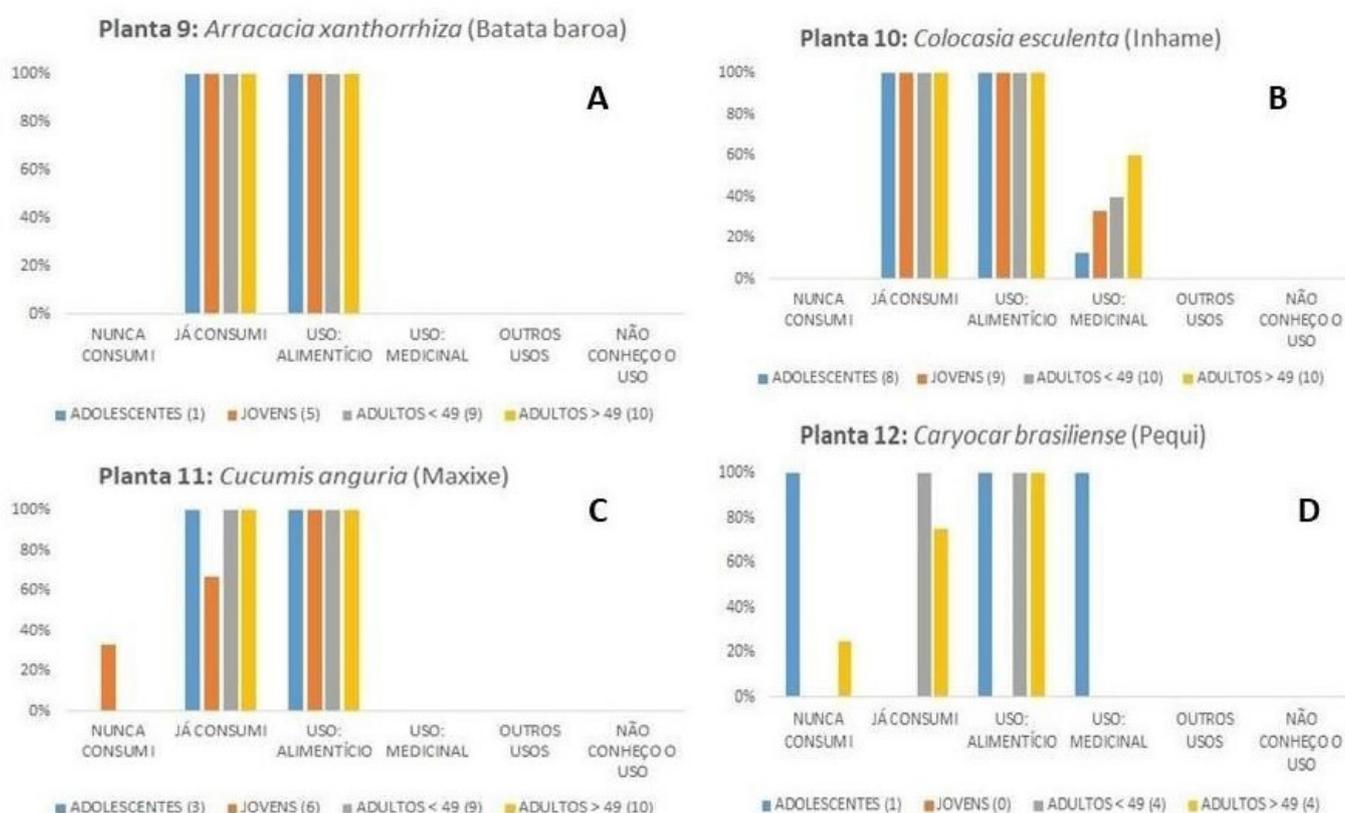


Figura 3 - Percentuais de indivíduos em relação ao conhecimento do uso e consumo das plantas 9, 10, 11 e 12. A: *Arracacia xanthorrhiza* Bancr. (Batata baroa); B: *Colocasia esculenta* (Inhame); C: *Cucumis anguria* (Maxixe); D: *Caryocar brasiliense* Cambess (Pequi)

A bucha vegetal (figura 4, D) é conhecida por quase todos os entrevistados, com uso mais voltado à higiene. Kinupp e Lorenzi (2014) relatam o uso do fruto verde, das folhas e das flores como comestíveis. Todavia, flores ou folhas não foram citadas. Cerca de 50% dos adultos com mais de 49 anos conhecem como alimentício. Apenas 10% dos adolescentes a conhecem e já a consumiram como legume. Nessa planta “as folhas possuem potencial antioxidante, antimicrobiano e anticancerígeno” (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 352). Importante destacar que 1 adolescentes relatou conhecer o uso medicinal, mas não soube como nem para quê.

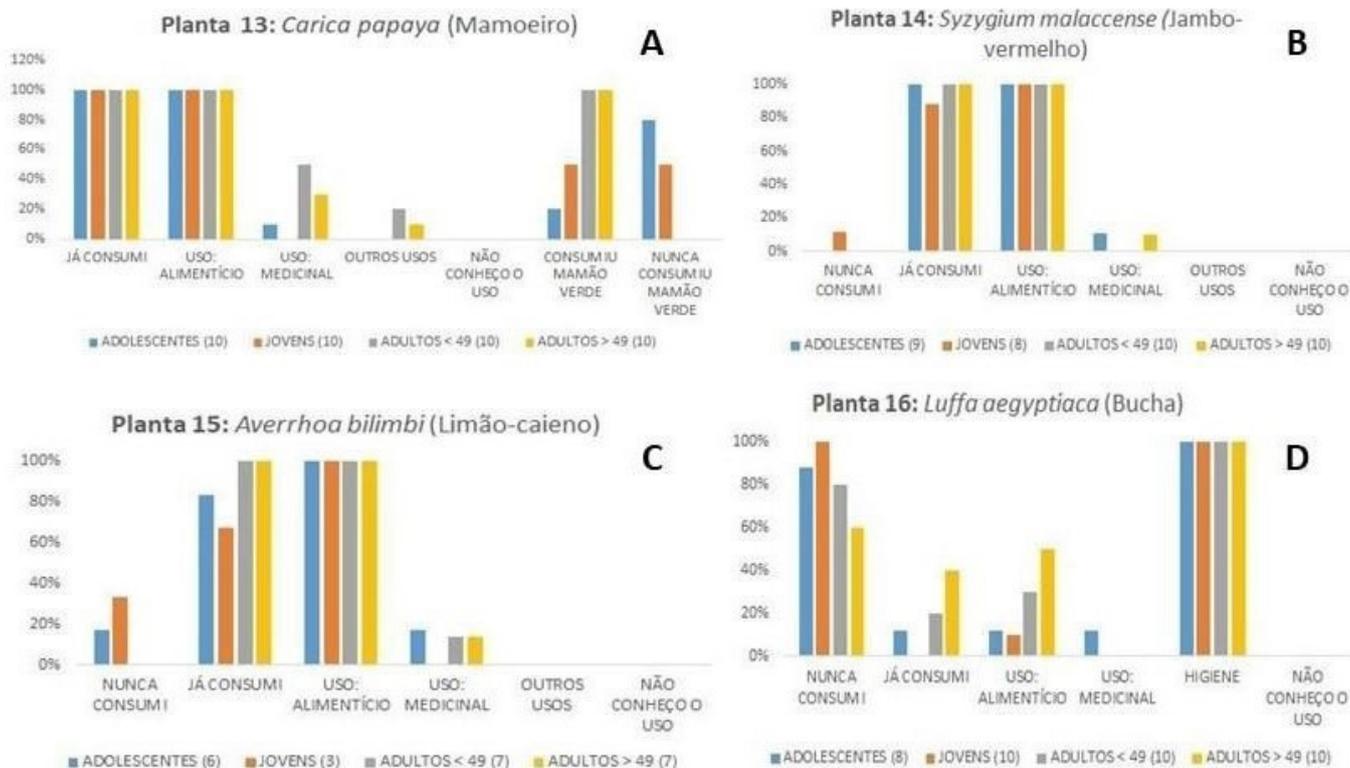


Figura 4 - Percentuais de indivíduos em relação ao conhecimento do uso e consumo das plantas 13, 14, 15 e 16. A: *Carica papaya* (Mamoeiro); B: *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M.Perry (Jambo); C: *Averrhoa bilimbi* (Limão-caiêno); D: *Luffa aegyptiaca* Mill. (Bucha).

O feijão guandu (figura 5, A) tem as sementes, “as folhas jovens e vagens imaturas bem jovens” como comestíveis, mas essas duas últimas “são um pouco duras nas variedades conhecidas no país” (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 402). Todos que conhecem esta planta a conhecem como uso alimentício das sementes. Cerca de 33% dos adolescentes e dos adultos com mais de 49 anos, e pouco mais de 50% dos adultos com menos de 49 anos também a conhecem como medicinal.

A maioria dos adultos (90% de cada categoria) conhecem a taioba (figura 5, B), mas boa parte dos adolescentes e jovens não a conhecem. Os entrevistados disseram que a parte comestível desta planta são as folhas. Cabe salientar que Kinupp e Lorenzi (2014) trazem o rizoma como possibilidade de consumo. Só 1 adolescente relatou conhecer o uso medicinal da taioba, talvez pelo conhecimento popular para bronquite e pneumonia (BORGES; MOREIRA, 2016). O almeirão-roxo (figura 5, C) é bem conhecido pelos adultos, apesar do elevado número de adultos com menos de 49 anos que não o conhecem. É uma planta muito encontrada em supermercados e feiras. Ainda, apenas 1 adolescente relatou conhecer o uso medicinal do almeirão. A planta peixinho da horta (figura 5, D) “é amplamente cultivada no Sul e Sudeste do Brasil”. É usada para fins ornamentais, como verdura e na medicina popular (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 454), porém, apenas 30% dos adultos conhecem o uso alimentar.

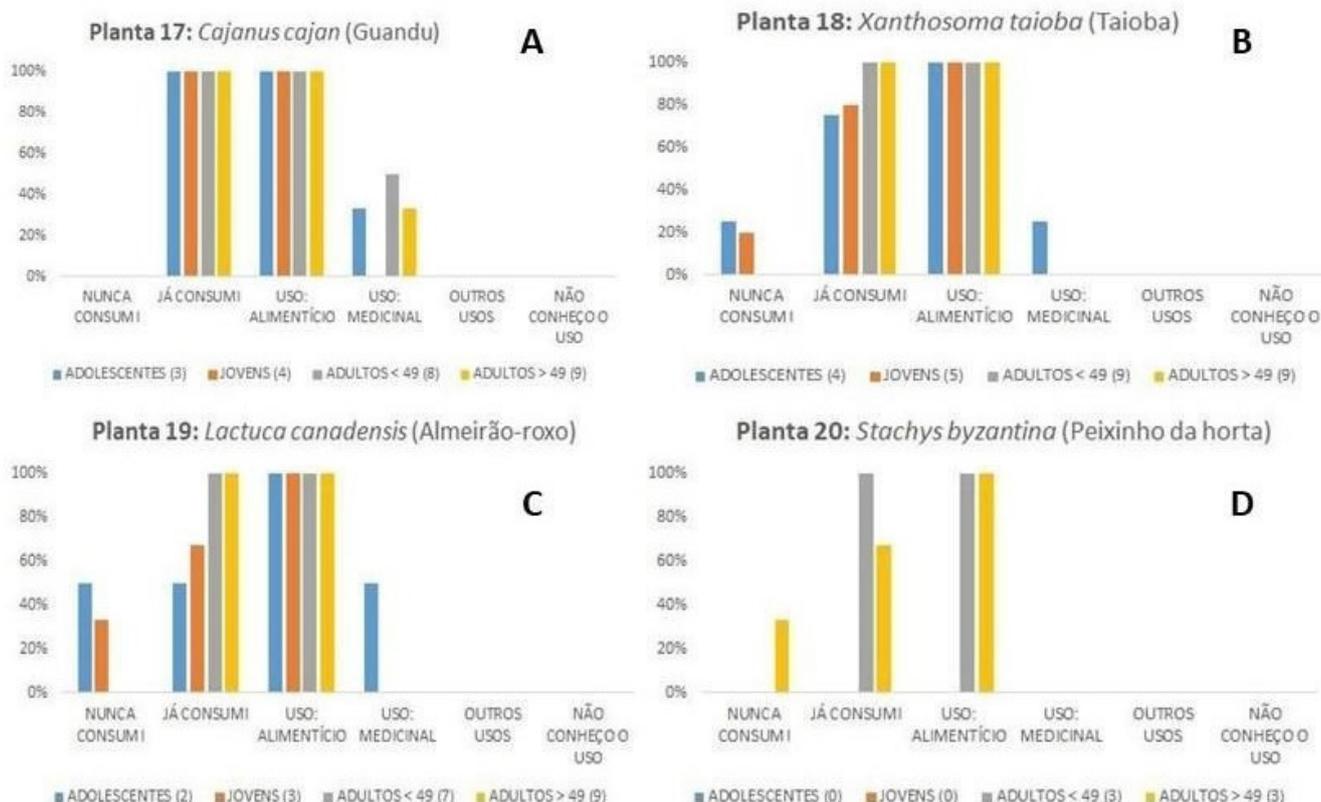


Figura 5 - Percentuais de indivíduos em relação ao conhecimento do uso e consumo das plantas 17, 18, 19 e 20. A: *Cajanus cajan* (L.) Huth (Guandu); B: *Xanthosoma taioba* E.G.Gonç. (Taioba); C: *Lactuca canadensis* (Almeirão-roxo); D: *Stachys byzantina* K.Koch. (Peixinho da horta).

A mostarda (figura 6, A) é conhecida por 10% dos adolescentes, 20% dos jovens e 40% dos adultos (ambas as categorias), porcentagens baixas, visto que esta planta está presente nos supermercados. Cerca de 25% dos adultos com > 49 anos conhecem o uso medicinal da planta e indicam o potencial anti-inflamatório da semente. Cabe destacar que as sementes e o óleo da mostarda “têm sido tradicionalmente empregados para aliviar a dor muscular, a dor artrítica e reumatismo. Possuem o potencial para reduzir o progresso dos cânceres no trato gastrointestinal” (MADALENA *et al.*, 2017, p. 28).

A alfavaca (figura 6, B) “cresce espontaneamente em áreas antrópicas em muitas regiões do país” (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 442). A espécie não é conhecida pelos adolescentes e jovens, e é pouco conhecida pelos adultos. O uso mais conhecido desta planta é a medicinal, para gripe. Ela é menos conhecida como alimentícia entre os adultos com < 49 anos. A hortelã (figura 6, C) é uma das plantas mais conhecidas da entrevista. Seu uso mais conhecido é o chá. Cerca de 50% de todas as categorias também a conhece para uso alimentício. Apenas 50% dos adultos (ambas as categorias) conhecem a tansagem (figura 6, D), que não é conhecida por adolescentes e jovens. A tansagem possui usos na medicina popular contra doenças de pele, depurativo, problemas menstruais e até câncer (KINUPP; LORENZI, 2014; LORENZI; MATOS, 2002). Seu uso medicinal (anti-inflamatório) é o mais conhecido pelos entrevistados e é pouco utilizado na alimentação.

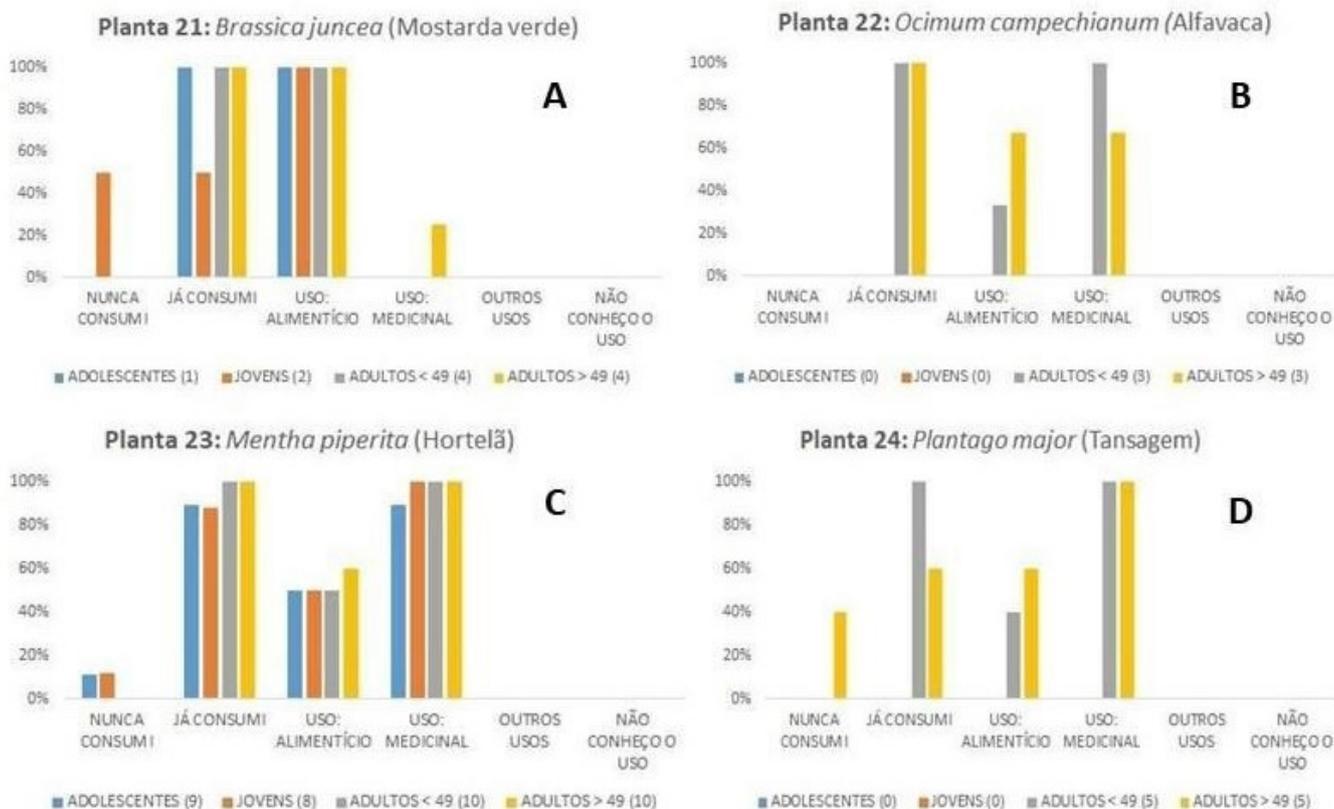


Figura 6 - Percentuais de indivíduos em relação ao conhecimento do uso e consumo das plantas 21, 22, 23 e 24. A: *Brassica juncea* (L.) Czern. (Mostarda verde); B: *Ocimum campechianum* Mill. (Alfavaca); C: *Mentha piperita* (Hortelã); D: *Plantago major* (Tansagem).

Boa parte dos adultos e a maioria dos adolescentes e jovens não conhecem a planta como azedinha (figura 7, A). Todavia, todos os adolescentes e jovens conhecem o trevo, além de 70% dos adultos com menos de 49 anos e 50% dos com mais de 49 anos. Dos que conhecem, apenas 30% dos adultos (ambas as categorias) sabem do uso alimentício. “Toda a parte aérea da planta pode ser consumida, tanto crua como após cozimento” (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 574).

A beldroega (figura 7, B) não é conhecida pelos adolescentes e apenas 1 jovem a conhece por “onze horas”. Dos adultos, 1 com < 49 anos e 2 com > 49 anos já consumiram a beldroega. Esta planta cresce espontaneamente e suas folhas, ramos jovens e sementes podem ser consumidos (KINUPP; LORENZI, 2014). De acordo com Lorenzi e Matos (2002) é muito usada na medicina tradicional para diversas indicações, como diurética, vermífuga, anti-inflamatório, contra disenterias e hemorroidas. As flores, folhas, frutos, sementes e ramos da capuchinha (figura 7, C) são comestíveis (KINUPP; LORENZI, 2014), além de possuírem uso medicinal “com potencial antioxidante, anti-inflamatório e hipotensiva” (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 688), mas é uma planta pouco conhecida pelos entrevistados.

O capim cidreira (figura 7, D) é conhecido pela maioria dos jovens e adultos, mas por apenas 20% que não reconhecem a planta. As folhas do capim cidreira são usadas para o preparo de chás e as porções basais das folhas podem ser consumidas (KINUPP; LORENZI, 2014). Todos que a conhecem indicam o uso medicinal. A aroeira (figura 8, A) é conhecida pela maioria dos adultos, mas por apenas 10% dos jovens e nenhum adolescente, apesar de ser uma árvore “amplamente cultivada na arborização de muitas cidades

do sul e sudeste” (KINUPP; LORENZI, 2014, P. 74). O seu uso medicinal, como anti-inflamatório e para problemas de pele, é conhecido por quase todos os que a conhecem, e seu uso alimentar é conhecido por 100% da população amostral de jovens e adultos com < 49 anos e 50% dos adultos com > 49 anos que relataram conhecê-la. “Seus frutos secos podem ser utilizados como condimento”, conhecido como pimenta-rosa (KINUPP; LORENZI, 2014, p. 74).

A ora-pro-nóbis (figura 8, B) não é conhecida pelos adolescentes e jovens. É conhecida pela minoria dos adultos, em que todos estes já a consumiram. Suas folhas, flores e frutos são comestíveis e foi citado o uso como suplemento alimentar por ser rica em proteína vegetal, além de possuir vários aminoácidos essenciais (KINUPP; LORENZI, 2014). Os ipês (figura 8, C) são muito usados na arborização urbana e suas flores podem ser comestíveis (KINUPP; LORENZI, 2014). No entanto, nenhum dos entrevistados relatou conhecer o seu potencial alimentício, e 60% dos adultos com > 49 anos conhecem o uso medicinal da casca do ipê roxo. Tanto a erva de Santa Maria (figura 8, D) ou mastruço, e o mastruz (figura 8, E), tiveram baixa porcentagem de pessoas que a conhecem, sendo relatado entre este grupo o uso medicinal, ambos como chá para verminoses. Cerca de 50% dos adultos com > 49 anos conhecem o mastruz como planta alimentícia.

Ao serem questionados se consumiam alguma outra planta que não foi citada e que não se encontra facilmente em feiras, apenas 1 jovem, 3 adultos com menos de 49 anos e 4 adultos com mais de 49 anos relataram possuir esse hábito.

Baseando-se nos critérios pré-estabelecidos, as plantas que podem ser classificadas como PANC são: pequi, peixinho da horta, mostarda, alfavaca, beldroega, capuchinha, ora-pro-nóbis, erva de santa maria e mastruz. A beldroega é conhecida por 60% dos adultos com menos de 49 anos, mas destes, menos de 20% conhecem seu potencial alimentício. Nas outras categorias menos de 30% conhecem esta planta, o que justifica a sua classificação como possível PANC.

Algumas plantas seriam classificadas como convencionais por serem bastante conhecidas, mas verificou-se que o seu uso como alimento quase não é de conhecimento desta população amostral. A bucha vegetal, por exemplo, é mais conhecida para higiene corporal, todavia 50% dos adultos com mais de 49 anos conhecem seu uso alimentício, menos de 40% já consumiram e aproximadamente 30% das outras categorias a conhecem com este uso. A azedinha apesar de ser conhecida por adolescentes e adultos, é pouco conhecida como alimento. Os ipês são conhecidos pela maioria dos jovens e adultos, mas nenhum os conhecem como alimentício e apenas os adultos com mais de 49 anos a conhecem como medicinal (60%). Podendo também serem classificadas como PANC.

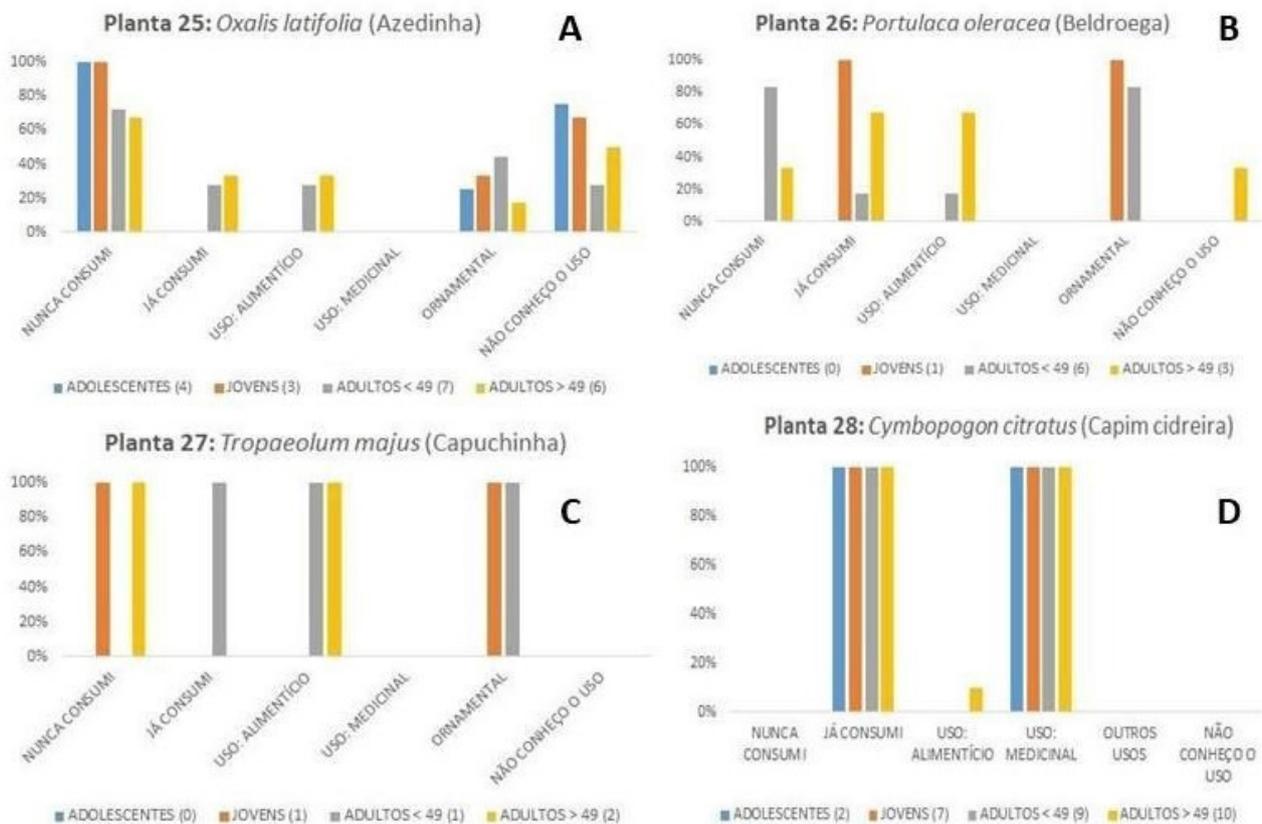


Figura 7 - Percentuais de indivíduos em relação ao conhecimento do uso e consumo das plantas 25, 26, 27 e 28. A: *Oxalis latifolia* Kunth. (Azedinha); B: *Portulaca oleracea* (Beldroega); C: *Tropaeolum majus* (Capuchinha); D: *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (Capim cidreira).

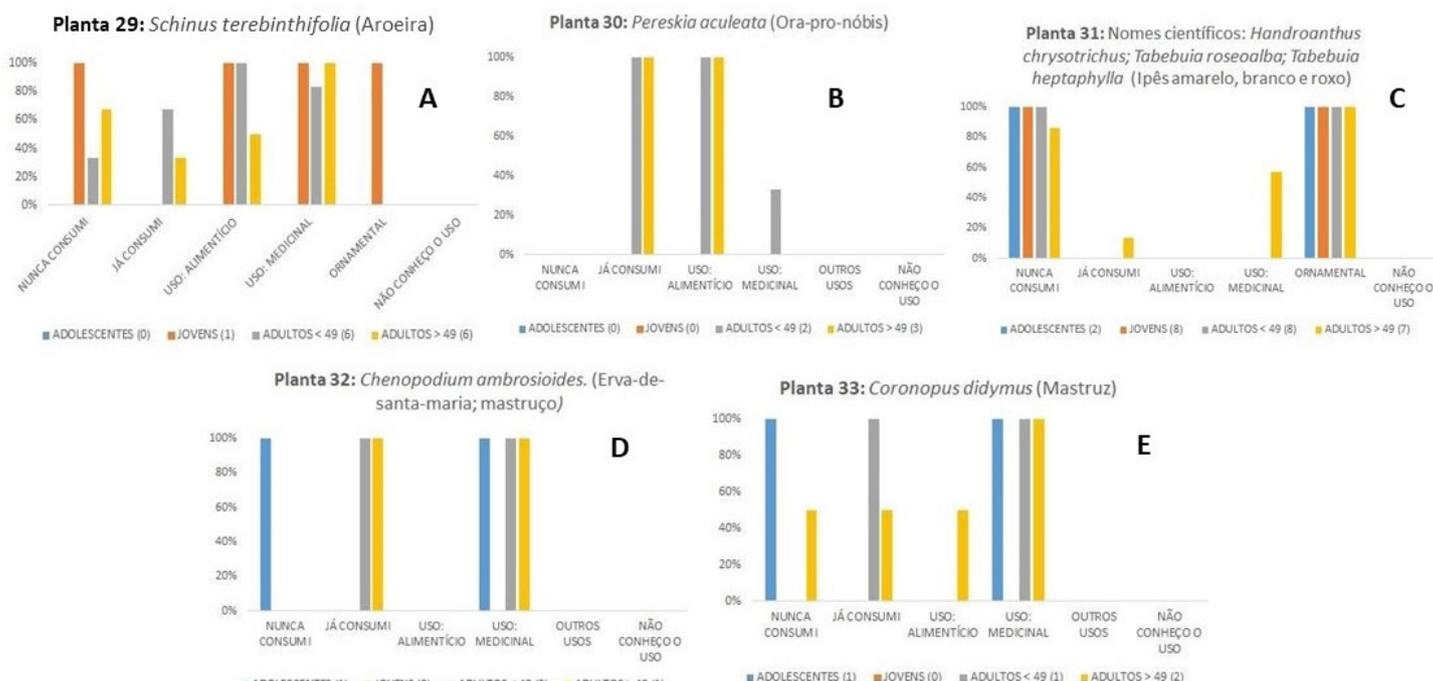


Figura 8 - Percentuais de indivíduos em relação ao conhecimento do uso e consumo das plantas 29, 30, 31, 32 e 33. A: *Schinus terebinthifolia* Raddi. (Aroeira); B: *Pereskia aculeata* Mill. (Ora-pro-nóbis); C: *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos, *Tabebuia rosealba* (Ridl.) Sandwith, *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo (Ipês amarelo, branco e roxo); D: *Chenopodium ambrosioides* (Erva-de-santa-maria; mastruço); E: *Coronopus didymus* Sm. (Mastruz).

## 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As plantas: pitanga, jabuticaba, amora, fruta-pão, banana, seriguela, batata baroa, inhame, maxixe, mamão, jambo, biri-biri, guandu, taioba, almeirão roxo, hortelã e capim cidreira, foram aqui consideradas como convencionais, por serem conhecida por mais de 40% de pelo menos 3 das categorias de entrevistados, sempre incluindo as categorias de adultos. Já as plantas: araçá, pitaia, tansagem e aroeira, apresentaram baixo conhecimento pelos adolescentes e jovens. O que pode representar uma diminuição do consumo desses alimentos e/ou a falta de ensinarem aos mais jovens o conhecimento sobre a utilidade dessas plantas, levando-as a se tornarem PANC.

Adolescente e jovens podem ter apresentado porcentagem menor que os adultos, pois na maioria das vezes, são os adultos os principais responsáveis pela compra e preparo dos alimentos. Como relata Machado e Boscolo (2018, p. 29), está ocorrendo a diminuição de quintais com o tempo. “O uso destes espaços sofre com ameaças nas cidades, como a disputa do solo urbano”, o que pode fazer com que esses grupos tenham menos contato com plantas. O fato de algumas plantas serem usadas como ornamentais não facilita o seu conhecimento por alguns indivíduos ou mesmo o seu uso alimentício. Para melhor caracterizar as plantas aqui citadas como possíveis PANC, é necessário, em trabalhos futuros, incluir outras variáveis, como a frequência que estas plantas são consumidas, e aumentar o número de pessoas entrevistadas.

## 5. AGRADECIMENTOS

À FAPES, UFES, CNPq e Capes pelo apoio às pesquisas do LGVT.

## Referências

- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Convenção sobre diversidade biológica: conhecimentos tradicionais**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2012.
- BORGES, R.M.; MOREIRA, R.P.D.M. Estudo etnobotânico de plantas medicinais no município de Confresa Mato Grosso, Brasil. **Biodiversidade**, v. 15, n. 3, 2016.
- CHAVES, M.S. **Plantas alimentícias não convencionais em comunidades ribeirinhas na Amazônia**. Viçosa, 2016.
- FERRÃO, B.H. et al. Importância do conhecimento tradicional no uso de plantas medicinais em Buritis, MG, Brasil. **Ciência e Natura**, p. 321-334, 2014.
- GIL, A.C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 6. ed. São Paulo: Editora Atlas SA, 2008.
- KINUPP, V.F.; LORENZI, H.J. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2014.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.
- MACHADO, C.D.C.; BOSCOLO, O.H. Plantas alimentícias não convencionais em quintais da comunidade da Fazendinha, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 16, n. 1, 2018.



MADALENA, L.C.D.S. et al. Uma revisão sobre a mostarda (*Brassica* ssp.) e seu possível uso com alternativa para produção de biodiesel. **Acta Iguazu**, p. 23-34, 2017.

MEIRA, N.D.A.N.; PEREIRA, N.D.P. Flavonoides e antocianinas em *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba) visando à aplicabilidade cosmética. **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, 2016.

PASCHOALIN, R.P. et al. Lesão renal aguda como complicação da ingestão excessiva de suco do fruto biri biri (*Averrhoa bilimbi*). **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 36, p. 545-548, 2014.

SANTILLI, J. Conhecimentos tradicionais associados à biodiversidade: elementos para a construção de um regime jurídico sui generis de proteção. In: PLATIAU, Ana Flávia Barros; VARELLA, Marcelo Dias. (Org.). **Diversidade biológica e conhecimentos tradicionais**. Belo Horizonte: Del Rey, P. 341-369, 2004.

# CAPÍTULO 8

## **PESQUISA-INTERVENÇÃO SOBRE PLANTAS MEDICINAIS E HORTA VERTICAL: PERCEPÇÃO DOS ALUNOS DO ENSINO MÉDIO EM UMA ESCOLA PÚBLICA DO MUNICÍPIO DE VITÓRIA/ES**

*INTERVENTION RESEARCH ON MEDICINAL PLANTS AND VERTICAL  
GARDEN: PERCEPTION OF HIGH SCHOOL STUDENTS IN A PUBLIC  
SCHOOL IN THE MUNICIPALITY OF VITÓRIA/ES*

**Ana Júlia Câmara Jevaux**

**Fernando Gomes Hoste**

**Lucas Evangelista dos Santos**

**Layza Rangel Pereira**

**Verbênia Andrade de Carvalho Santos**

**Felipe Miranda Crist**

**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**



## Resumo

**E**ste trabalho foi iniciado com a justificativa de realizar uma pesquisa-intervenção com atividades envolvendo alunos do ensino médio de uma escola estadual, localizada no município de Vitória, no Espírito Santo. O objetivo desse projeto foi, valorizar a cultura existente na família de cada um desses alunos a partir de seus conhecimentos prévios sobre plantas medicinais, e introduzir o conhecimento científico para integrar o conhecimento tradicional. Além disso, propomos uma intervenção na escola, trazendo atividades lúdicas para que cada aluno pudesse participar de forma ativa, como por exemplo, na implantação da própria horta de plantas medicinais dentro do espaço educacional. O projeto foi realizado a partir de alguns encontros, que consistiram em: dois questionários, uma palestra, jogos interativos, e por fim, a implantação de uma horta de plantas medicinais utilizando materiais recicláveis. Através dessas atividades, foi possível observar o quanto esse tipo de estudo contribuiu para práticas interdisciplinares e para o processo de aprendizagem sobre plantas medicinais no ensino de Biologia, uma vez que foi possível estabelecer uma conexão entre as informações adquiridas no âmbito familiar e escolar, promovendo uma visão sinérgica do conhecimento popular e científico.

**Palavras-chave:** Conhecimento científico, Conhecimento tradicional, Jogos didáticos, Horta vertical, Sustentabilidade.

## Abstract

**T**he present project was initiated with the justification of carrying out an Intervention Research with activities involving high school students from a state school, located in the municipality of Vitória, in Espírito Santo. The objective of this project was to value the culture existing in the family of each of these students based on their previous knowledge about the subject, also introducing the scientific knowledge to integrate it with traditional knowledge. In addition, we propose an intervention in the school, bringing playful activities so that each student could actively participate, such as in the implementation of their own medicinal plant garden within the educational space. The project was carried out from a few meetings that consisted of: two questionnaires, a lecture, interactive games and putting an end to the implementation of a medicinal plant garden using recyclable materials. Through these activities, it was possible to observe how much this type of study contributed to interdisciplinary practices and to the process of learning about medicinal plants in the teaching of Biology, since it was possible to establish a connection between the information acquired in the family and school environment and to promoting a synergistic view of popular and scientific knowledge.

**Keywords:** Scientific Knowledge, Traditional Knowledge, Interactive Games, Vertical Garden, Sustainability

## 1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, a utilização de recursos naturais por seres humanos tem sido uma alternativa viável na busca por sua sobrevivência e uma melhor qualidade de vida. A interação homem-planta é fortemente evidenciada, uma vez que a utilização de recursos de origem vegetal se dá das mais diversas e importantes maneiras, como é o caso da alimentação e uso medicinal, assim como na construção civil e na indústria têxtil, ações que envolvem os saberes populares que foram difundidos e perpetuados culturalmente (BALICK; COX, 2020).

Diante deste cenário, é possível afirmar que a utilização dos recursos naturais é uma forma de conhecimento tradicional, adquirido por meio da transmissão de informações entre gerações e baseado em dados empíricos, nos quais normalmente não há confirmações científicas. (MOREIRA et al., 2002).

Neste contexto se inserem as plantas medicinais, que são definidas segundo a Organização Mundial da Saúde (2003) como, “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos”. Estas plantas são amplamente utilizadas em comunidades tradicionais para fins terapêuticos, na produção de remédios caseiros e outros produtos (LEÃO; FERREIRA; JARDIM, 2007).

### 1.1 Plantas Medicinais como tema transversal

De acordo com os Parâmetros Nacionais Curriculares, os temas transversais em projetos de ensino são voltados para a compreensão da realidade social e dos direitos e responsabilidades em relação à vida pessoal, coletiva e a afirmação do princípio da participação política (BRASIL, 1998). Dessa forma, percebe-se que a orientação dos Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN) quanto à transversalidade, é de superar o aprendizado apenas pela necessidade informativa. Portanto, os temas transversais são importantes para a abordagem de temáticas em que o aluno possa absorver o conhecimento e expressá-lo, deixando de ser um sujeito passivo para se tornar um sujeito ativo, colaborando com a sua própria educação e a dos educadores. Assim, o ensino de Biologia deve fornecer ao aluno as competências para que ele não somente obtenha as informações trazidas em sala de aula, mas também possa compreendê-las ou contestá-las.

Face ao exposto, podemos incluir as plantas medicinais como um tema transversal, justamente por perpassar áreas como Meio Ambiente e a Educação Ambiental. De acordo com os PCN, as seguintes práticas podem incentivar a responsabilidade e solidariedade, que são características fundamentais para atingir os temas transversais:

“[...] formas de manutenção da limpeza do ambiente escolar (jogar lixo nos cestos, cuidar das plantas da escola, manter o banheiro limpo) ou formas de evitar o desperdício, até como elaborar e participar de uma campanha ou saber dispor dos serviços existentes relacionados com as questões ambien-



tais (por exemplo, os órgãos ligados à prefeitura ou as organizações não-governamentais que desenvolvem trabalhos, exposições, oferecem serviços à população, possuem material e informações de interesse da escola e dos alunos, etc.)” (BRASIL, 1997, p. 50).

Além disso, por ser um tema em que o aluno possa assimilar as informações abordadas, compreendê-las ou refutá-las devido ao conhecimento prévio sobre o assunto, é possível inferir que a temática possa fazer parte do cotidiano do indivíduo e contribuir com várias disciplinas, como no ensino de Educação Ambiental e Botânica.

## 1.2 Educação Ambiental e Sustentabilidade

De acordo com o Ministério do Meio Ambiente, a Educação Ambiental é composta por vários processos por meio dos quais o indivíduo e a coletividade constroem valores sociais, conhecimentos, habilidades, atitudes e competências voltadas para a conservação do meio ambiente, bem de uso comum do povo, essencial à sadia qualidade de vida e sua sustentabilidade (BRASIL, 1999).

Segundo a Política Nacional de Educação Ambiental e a Lei Nº 9.795/1999, a Educação Ambiental é um componente essencial e permanente da educação nacional, devendo estar presente de forma articulada, em todos os níveis e modalidades do processo educativo, em caráter formal e não formal (BRASIL, 1999). Para Trazzi e Fassarella (2006), deve-se também incluir a diversidade dentro das concepções de Educação Ambiental, com o objetivo de explicitar as relações entre os seres humanos, respeitando os limites e as particularidades existentes entre os seres vivos. Portanto, todos esses conceitos afirmam que o termo Educação Ambiental pode ter vários significados, justamente por ser uma área ampla e complexa.

Compreendendo a importância da Educação Ambiental com ênfase na sustentabilidade, é necessário inserir essa problemática nas salas de aula, permitindo a criação de um vínculo com o meio ambiente, e o surgimento/amadurecimento de ações que foquem na preservação ambiental. Desta forma, para ser efetiva, a Educação Ambiental necessita de uma abordagem interdisciplinar, uma vez que lida com a realidade, visando estabelecer um diálogo entre aspectos ambientais, sociais e culturais. Deve-se valorizar os hábitos e costumes desses alunos, colaborando para que eles enxerguem suas ações de outras maneiras, e assimilem a importância da mudança de suas posturas diante das suas práticas rotineiras (TAGLIAPIETRA; CARNIATTO, 2019).

Considerando a importância da abordagem destas perspectivas, procuramos realizar este projeto através da metodologia de pesquisa-intervenção, na qual os estudantes do ensino médio de uma escola estadual, tiveram a oportunidade de participar ativamente da pesquisa, sendo possível promover o aprendizado através da construção do conhecimento observado nas atividades, além do incentivo à preservação da cultura tradicional. De acordo com os Parâmetros Curriculares Nacionais, o ensino de Biologia não é baseado apenas em fornecer informações, mas também no desenvolvimento de competências que permitam ao aluno decodificar tais informações, compreendê-las, elaborá-las e refutá-las, quando for o caso (BRASIL, 1999b). Portanto, é necessário selecionar metodologias

coerentes com intenções educativas. Assim, neste trabalho buscamos contribuir com o desenvolvimento intelectual desses alunos, através de intervenções pedagógicas, como a utilização de atividades didáticas.

## 2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A pesquisa foi realizada com alunos do ensino médio em uma escola estadual de tempo integral, localizada no município de Vitória - Espírito Santo (ES). Dividimos a pesquisa em três etapas: diagnóstico, palestra e atividades didáticas. Cada uma com público alvo e número de alunos distintos. A primeira etapa foi baseada no diagnóstico por meio de questionários, sendo realizada com 86 alunos. O primeiro questionário foi direcionado aos alunos do 1º ao 3º ano do ensino médio, composto por 11 questões (discursivas/objetivas) com um adicional de 06 questões (objetivas) envolvendo curiosidades sobre plantas medicinais (Anexo 1). O segundo questionário foi aplicado com o objetivo de abordar os aspectos da sustentabilidade e verificar o que os alunos sabiam sobre os assuntos relacionados ao tema em questão (Anexo 2). A segunda etapa foi uma palestra direcionada para todas as turmas da escola, intitulada: "Utilização de plantas medicinais como ferramenta para a Educação Ambiental: Conhecimento tradicional X Conhecimento científico". A palestra foi realizada com intuito de integralizar o assunto, e para isso, utilizamos as questões respondidas no questionário como uma espécie de roteiro a ser seguido. Também realizamos a exposição do cenário global das respostas obtidas através de gráficos. Quanto à terceira etapa, esta foi baseada em dois jogos direcionados para um grupo focal de 10 alunos, um jogo de trilha, elaborada por nós, e um "quiz" - jogo de perguntas e respostas, valendo uma caixa de *bis* para o primeiro grupo que conseguisse acertar um total de 15 questões.

### 2.1 Pesquisa-intervenção

A pesquisa-intervenção é uma metodologia baseada nas pesquisas participativas, consistindo na investigação de coletividades (ROCHA; AGUIAR, 2003). Essa ferramenta se distingue dos demais quando se trata de pesquisa e investigação, pois amplia as bases teóricas e metodológicas das pesquisas participativas, propondo uma intervenção no meio em que se aplica. A metodologia em questão, é baseada em uma relação dinâmica entre o pesquisador e o objeto pesquisado. Com isso, a intervenção tem como objetivo relacionar a instituição de formação e aplicação de conhecimentos, tal como a teoria e a prática aplicadas para o ensino- aprendizagem.

#### 2.1.1 Proposta de intervenção: Horta Escolar

A motivação para a proposta de construir uma horta vertical foi a necessidade de incentivar a preservação ambiental, ideia que já vinha sendo discutida pela professora de biologia da escola, anteriormente ao projeto. A proposta incluiu atividades interdiscipli-



nares, e a possibilidade da reutilização de objetos que seriam descartados, sendo um dos caminhos para o que chamamos de sustentabilidade.

Desta forma, foi possível visualizar uma oportunidade de usar o tema das plantas medicinais para a construção de uma horta vertical, utilizando essa atividade para prosseguir com o projeto na escola. Assim, esse tema poderá se perpetuar nos diversos níveis de ensino, mesmo após a nossa intervenção.

A importância e a necessidade dessa proposta, foi a oportunidade de sensibilizar os alunos acerca da preservação do ambiente escolar. Além disso, há inúmeras possibilidades de atividades a serem trabalhadas no processo de desenvolvimento e implementação de uma horta escolar, dentre as quais, o histórico, os conceitos, e a utilização de plantas medicinais, assim como sua importância cultural e científica.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Primeiro questionário

Para o início da pesquisa, foi realizado um primeiro diagnóstico com 86 alunos de turmas distintas do ensino médio, dos quais aproximadamente 54% eram do sexo feminino, e com idades que variaram entre 15 e 19 anos, caracterizando um grupo homogêneo.

Primeiramente, foi necessário investigar o conhecimento prévio dos alunos sobre o tema a ser abordado, e para isso, questionamos se eles conheciam o termo Planta Medicinal. Aproximadamente 97% dos alunos disseram já ter ouvido falar desse termo, e apenas 3% disseram não conhecer. Contudo, quando analisamos outras perguntas do questionário, observamos que apesar da maioria dos alunos afirmarem já ter ouvido falar sobre plantas medicinais, poucos realmente sabiam o conceito e a importância desses vegetais.

Ao serem perguntados em que local ouviram falar sobre essas plantas, a maioria dos alunos (39%) citaram a família como fonte de informação, seguida da escola (35%) e amigos (19%). Esses dados refletem a importância dos familiares na transferência de saberes sobre diversas áreas, incluindo o tema "Plantas Medicinais". Além disso, esses resultados evidenciaram a importância do ambiente escolar na construção do conhecimento.

Oliveira et al (2016) discutiram resultados similares em seus estudos com alunos do Ceará, encontrando na família, o ponto focal da difusão de informações sobre as plantas medicinais. Tal condição é acentuada por Messias et al. (2015), ao afirmar que pessoas instruídas quanto à diversidade de espécies vegetais, são aquelas que receberam as informações no seio familiar, reforçando o aspecto cultural deste conhecimento. No entanto, Cruz et al. (2011) em um estudo envolvendo professores de São José dos Campos - SP, obtiveram resultados divergentes, onde relatam que a origem da informação está alicerçada nos cursos de graduação e nos livros. Todavia, os autores citados anteriormente concordam que tais conhecimentos botânicos são oriundos de famílias que fazem uso das plantas como recurso medicinal.

Cerca de 78% dos alunos assinalaram a alternativa “sim” na questão sobre o uso de plantas medicinais, condição muito próxima da encontrada por Souza et al. (2015) em seus estudos com uma população de Goiás (77%), e mais uma vez, os autores apontam a família como protagonista na transmissão de informações. Dentre os alunos que disseram não fazer uso de plantas medicinais, 37% argumentaram que o motivo está relacionado a poucos estudos científicos sobre esses organismos (Tabela 1). Entretanto, embora os alunos não tenham o hábito de utilizar plantas medicinais, esses não acreditam na ausência dos seus efeitos. Com isso, a relação entre o conhecimento popular e o científico pode ser uma medida importante para a adequação desta cultura envolvendo a fitoterapia, haja vista que muitas espécies de plantas com potencial farmacológico são amplamente estudadas, dando origem a novos medicamentos de relevância para o próprio Sistema Único de Saúde (SUS).

<b>Motivos</b>	<b>Nº de Alunos (%)</b>
Ausência de efeito;	0%
Receio de efeitos colaterais desconhecidos;	19%
Falta de oportunidade;	19%
Falta de confiança nas plantas medicinais;	25%
Poucos estudos científicos sobre plantas medicinais.	37%

Tabela 1- Motivos pelos quais os alunos dizem não realizar o uso de plantas medicinais.

Dentre os alunos que afirmaram utilizar as plantas medicinais, foi perguntado a frequência desta utilização. Embora a maior parte deles afirmam conhecer e utilizar as plantas medicinais, a frequência de utilização foi baixa, visto que 56% dos alunos disseram usar raramente, 35% casualmente e 9% com frequência. Esta situação pode ser explicitada devido ao fato da maioria dos alunos entrevistados serem adolescentes, reforçando a situação já comentada por Souza et al. onde dizem que:

As pessoas mais jovens se interessam muito pouco pelo tratamento com as plantas medicinais, e, por isso, as desconhecem. A utilização fica a cargo principalmente das pessoas mais velhas, pois os jovens possuem pouco conhecimento das plantas e preferem os medicamentos convencionais por oferecer um alívio mais rápido (SOUZA et al., 2015, p. 23).

Conforme os resultados apresentados na figura 1, nota-se que 37% dos alunos possuem acesso às plantas medicinais através da comercialização, provavelmente, devido ao baixo custo e facilidade na compra desses vegetais em mercados e feiras. Quanto ao cultivo próprio, 34% dos alunos responderam utilizar desse meio como forma de acesso, validando o interesse das famílias em cultivar determinadas espécies que podem ser usadas para tratar ou prevenir enfermidades.

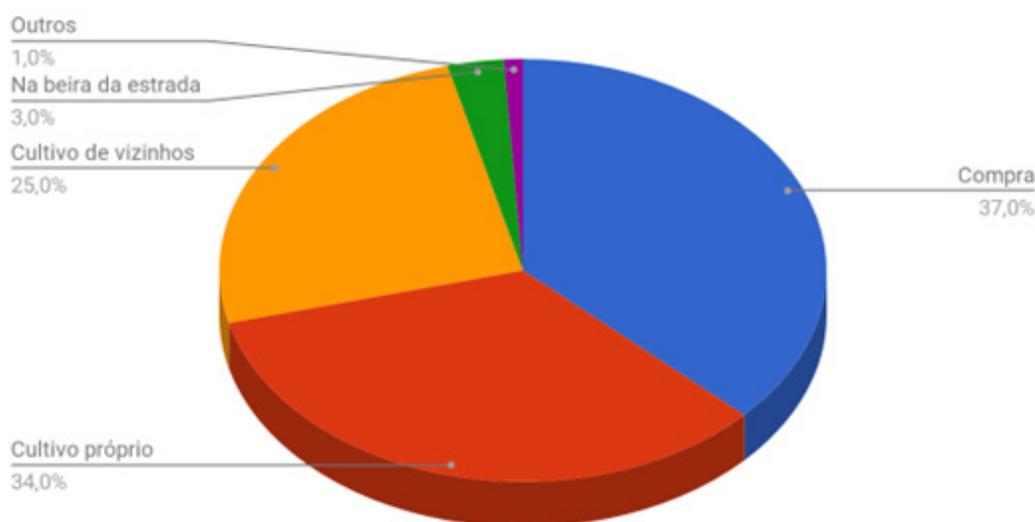


Figura 1 - Formas de acesso às plantas medicinais.

Fonte: Os autores

Posteriormente, foi perguntado aos alunos sobre a eficácia das plantas medicinais, e se sua utilização poderia substituir o uso de medicamentos convencionais. Apesar de 82% terem afirmado confiar na eficácia dessas plantas, o alto percentual não foi mantido quando perguntamos se elas poderiam substituir os medicamentos convencionais.

Nesse caso, 57% dos alunos mostraram-se favoráveis a esta substituição, pois, segundo as justificativas, as plantas são organismos naturais, e por esse motivo possuem poucos efeitos colaterais. Com isso, apesar da maior parcela dos alunos acreditarem na eficácia das plantas medicinais, poucos responderam com segurança se tal substituição seria uma alternativa viável. Dentre os que marcaram “não”, justificaram-se pautados na seguinte sentença: “os medicamentos passam por anos de estudos antes de serem lançados no mercado”. Estas informações reforçam aquilo que nós e diversos autores consideramos como essencial para uma relação harmoniosa, entre o uso tradicional e o saber científico, propiciando um uso assertivo por parte da população, e elucidando os benefícios e seus efeitos adversos, como é evidenciado por Vale (2002) em sua pesquisa: “Estudos sobre a medicina popular vêm merecendo atenção cada vez maior devido ao contingente de informações e esclarecimentos que vem sendo oferecido à Ciência.” Quanto a autome-dicação, autores como Capasso et al., (2000) e Veiga-Junior (2008) alertam sobre seus riscos à saúde, pois na maioria das vezes tem origem na ausência de informações sobre a toxicidade dos órgãos e dos extratos vegetais utilizados.

### 3.2 Palestra

Após a verificação das respostas dadas no primeiro questionário, o próximo passo foi dar um retorno aos alunos sobre o tema abordado. Apesar dos resultados provenientes dos questionários, no momento da palestra, os alunos ficaram motivados a perguntar sobre diversas situações envolvendo o uso de plantas medicinais. Inferimos que tal motivação pode ter sido um reflexo da rapidez do *feedback*, e pelo formato dinâmico da palestra, enquanto os questionários não tinham essa característica, já que eles não podiam fazer perguntas sobre as questões abordadas, apenas respondê-las.

O uso da palestra como um dos instrumentos na pesquisa-intervenção, foi também feito por Souza et al. (2015), que consideraram ter havido um ganho com a utilização deste recurso, tanto para o aprendizado dos alunos, quanto para a transferência do conhecimento junto à família e comunidade em geral. Por conseguinte, acreditamos que os esclarecimentos feitos durante a exposição dos assuntos tratados serão transmitidos, pois os alunos atuarão como multiplicadores dessas informações, favorecendo ao esclarecimento de dúvidas de outros indivíduos com os quais convivem.

### 3.3 Segundo questionário

Buscando realizar um diagnóstico acerca do conhecimento prévio dos alunos em relação às práticas sustentáveis, e propor a implantação de uma horta vertical na escola com materiais recicláveis, foi realizado um segundo questionário, no qual foram feitas perguntas que abordavam práticas relacionadas a reciclagem, e a separação do lixo orgânico e inorgânico, conforme a tabela abaixo.

Questões	Sim	Não	S/R.
1) Você tem prática de reaproveitar ou reciclar materiais em sua casa?	37%	62%	1%
2) Você sabe o que é lixo orgânico?	90%	9%	1%
3) Você sabe o que é lixo inorgânico?	88%	11%	1%
4) Você separa o lixo orgânico do inorgânico?	23%	73%	4%

\* S/R: Sem resposta

Tabela 2 - Relação dos alunos com práticas sustentáveis e conceitos referentes aos tipos de lixo

Conforme os dados apresentados, é possível observar que embora os alunos souberem o que é lixo orgânico e inorgânico, 73% não possui a prática de separá-los. Tal resultado foi reforçado quando questionados sobre a prática de reaproveitamento ou reciclagem, o qual 62% responderam não ter essa prática. Para os alunos que responderam positivamente à mesma pergunta, foi perguntado como era feito o reaproveitamento/reciclagem desses materiais ou produtos. Como respostas, foram citadas algumas práticas, tais como: reutilização de garrafas pet, caixas de papelão, embalagens plásticas/vidro como utensílios de cozinha e artesanato, óleo de cozinha na fabricação de sabão, entre outros exemplos. Com a experiência adquirida, notamos que os alunos conhecem a necessidade de reciclar/reaproveitar os materiais e sabem distingui-los, além de reforçar a ideia de que a Educação Ambiental é uma ferramenta poderosa para mitigar problemas ambientais e que deve ser usada sempre que possível, principalmente quando há uma proposta concreta de continuidade do trabalho, como é o caso desta escola e da horta vertical.

Quando indagados se sabiam ou não o que era uma horta vertical, o resultado ficou praticamente empatado, no entanto, 52% dos alunos responderam que sim. Em seguida, questionamos se eles saberiam os benefícios de se cultivar uma horta vertical, e como já era esperado, foi citado que este tipo de horta é uma alternativa prática, por ocupar pouco espaço. Alguns deles ainda ressaltaram que por este fato ela poderia ser implantada em qualquer local, sem depender de um quintal. Também foi mencionado a produção de alimentos orgânicos, a utilização como item decorativo, e ainda, como uma maneira de reduzir a poluição, utilizando materiais que normalmente seriam jogados no lixo.

Para selecionar as plantas presentes na horta, foram listadas 10 espécies, e os alunos deveriam enumerá-las de 1 a 10, de acordo com seu grau de prioridade. Nesta seleção, dentre as 10 plantas disponíveis, algumas tiveram mais destaque que outras, ocupando duas colocações na classificação final, como foi o caso do boldo que dividiu a primeira colocação com a hortelã, além de também ocupar a quarta colocação. A camomila ocupou simultaneamente a segunda e a quinta colocação, o alecrim ocupou a sexta e a sétima posição, e por fim, a carqueja ocupou a nona e a décima colocação. Como algumas espécies ocuparam mais de uma posição na lista de prioridade dos alunos, plantas como a babosa, capim-cidreira e o gengibre, apesar de serem popularmente conhecidas, não conseguiram ficar entre as mais indicadas.

### 3.4 Atividades didáticas

Através dos jogos propostos, percebemos que os alunos se interessaram ainda mais pela temática das plantas medicinais, discutindo e pensando com cautela antes de responder as questões abordadas no “quiz”. Além disso, em diversos momentos os alunos conseguiram resgatar conceitos discutidos anteriormente, salientando a importância da palestra e das atividades didáticas para sedimentar o conteúdo.

O jogo da trilha das plantas medicinais também foi de grande interesse pelos alunos, uma vez que eles não ficaram apenas jogando os dados, e sim lendo o glossário e se envolvendo no processo, como observado na figura 2. Dessa forma, o glossário serviu como suporte para a compreensão de alguns termos e seus significados, assim como abordados no “quiz”.

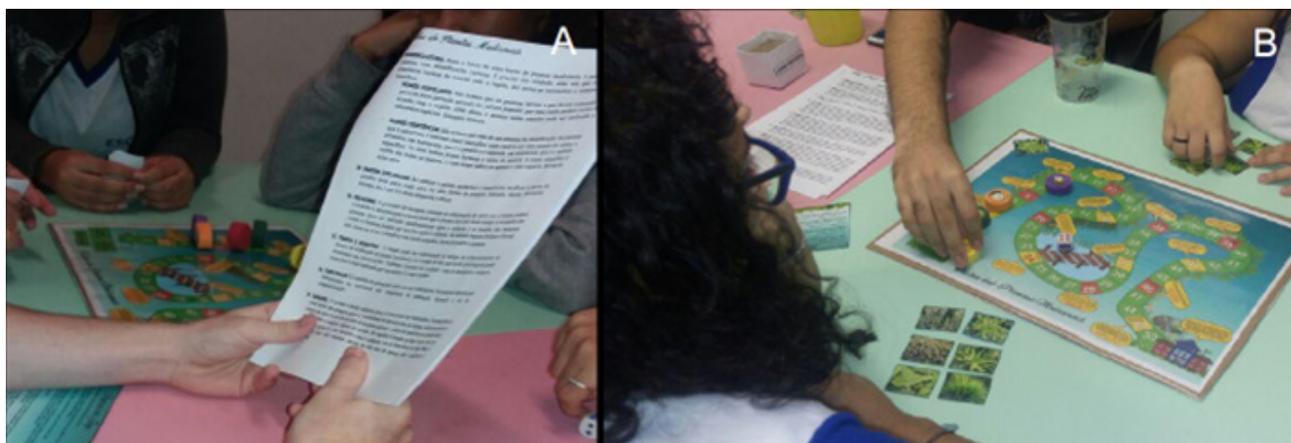


Figura 2 - Alunos revisando o conteúdo abordado através do jogo Trilha de Plantas Medicinais, criado para o presente projeto. A: Aluno utilizando o glossário que contém o conteúdo acerca de plantas medicinais; B: Alunos concentrados percorrendo a trilha do jogo

Fonte: Os autores

### 3.5 Implementação da Horta Escolar

Segundo Capra (2003), o espaço da horta pode ser caracterizado como um local capaz de conectar os alunos aos fundamentos relacionados à alimentação e também integrando as diversas atividades escolares. Com base nesse pensamento, colocamos em

prática a proposta inicial desse projeto com algumas modificações na estrutura da horta de Plantas Medicinais. Levando em consideração a viabilidade de execução do projeto, optamos pela montagem do canteiro em um terreno não utilizado pela escola, revitalizando o local e contribuindo com a melhoria do ambiente escolar, trazendo uma condição mais agradável e também refletindo no microclima local. Para Paulo e Neto (2021) os espaços pedagógicos atravessam os docentes e discentes por possuírem múltiplos significados, estimulando e trabalhando valores, que embora estejam ocultos, afetam a vida das pessoas. Sobre este currículo oculto, Libâneo (2015) salienta sua importância ao mencionar que este,

[...] representa tudo o que os alunos aprendem pela convivência espontânea, em meio às várias práticas, atitudes, comportamentos, gestos, percepções que vigoram no meio social e escolar. [...] ele segue uma sequência que começa quase sempre na esfera política e administrativa do sistema escolar, passa pelas crenças, significados, valores, comportamentos existentes na cultura, é retrabalhado pelos professores, até chegar aos alunos (LIBÂNEO, 2015, p. 143).

Após a seleção das plantas de interesse dos alunos, introduzimos espécies de Plantas Medicinais devidamente identificadas no ambiente da horta da escola. Durante a execução desta atividade, os alunos do Programa de Iniciação Científica Jr. (PICJr) tiveram a oportunidade de colocar em prática seus conhecimentos sobre o tema. A montagem e manutenção da horta envolveu os alunos do PICJr., alunos da escola, professores e monitores (Figura 3), com duração de quatro horas semanais, durante dezoito meses.

Durante a implementação da horta, percebemos a importância de uma estrutura física escolar de qualidade, sendo muito mais que apenas estruturas de alvenaria. Dito isso, vimos que a escola é um ambiente vivo, necessitando de adaptações às propostas pedagógicas.



Figura 3 - Alunos do Programa de Iniciação Científica Jr. envolvidos no desenvolvimento da horta de plantas medicinais.

Fonte: Os autores

## 4. CONCLUSÃO

Apesar do assunto abordado neste trabalho ser conhecido pela maioria dos alunos, nota-se que ainda é necessário destrinchar essa temática, valorizando a cultura popular e integrando-a com o conhecimento científico. Diante do diagnóstico, percebemos que muitos alunos já ouviram falar sobre plantas medicinais, contudo, nem sempre sabiam o seu conceito e importância. A maioria dos entrevistados destacaram a família como principal meio de acesso à informação, fomentando a importância do conhecimento popular. Porém, mesmo conhecendo os nomes populares e algumas características dessas plantas, fez-se necessário abranger o conhecimento científico. Foi notável o quanto esse projeto interessou os alunos, com ênfase nas etapas envolvendo a palestra, atividades didáticas e execução da horta de plantas medicinais. Ao refletir sobre nossas práticas, nos deparamos com a importância de abordar temáticas a partir de metodologias ativas que envolvam os alunos, despertando um interesse sobre o assunto e propiciando um pensamento reflexivo.

Ademais, concluímos que esse tipo de estudo contribuiu para o processo de ensino-aprendizagem relacionado a plantas medicinais no ensino de Biologia, além de ser uma ferramenta para práticas interdisciplinares, devido à possibilidade de trabalhar temas transversais, despertando o interesse dos alunos e contribuindo para uma visão sinérgica do conhecimento científico.

## 5. AGRADECIMENTOS

À FAPES, UFES, CNPq e Capes pelo apoio às pesquisas do LGVT.

## Referências

- BALICK, M. J.; COX, P. A. **Plants, people, and culture: the science of ethnobotany**. Garland Science, 2020.
- BRASIL, M. E. C. Parâmetros Curriculares Nacionais: Meio Ambiente e Saúde. Brasília: **Secretaria de Educação Fundamental**. 1997.
- . Parâmetros curriculares nacionais: terceiro e quarto ciclos do ensino fundamental: temas transversais. **A Secretaria**, 1998.
- . Lei n. 9795 - 27 de abril de 1999. Dispõe sobre a educação ambiental. **Política Nacional de Educação Ambiental**. Brasília, 1999.
- . Parâmetros curriculares nacionais Ensino Médio (PCN). Brasília: **Secretaria de Educação Média e Tecnológica**. p. 109, 1999b.
- CAPASSO, R. et al. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**, v. 71, p. S58-S65, 2000.
- CAPRA, F. Alfabetização ecológica: o desafio para a educação do século 21. **Meio ambiente no século**, v. 21, n. 21, p. 18-33, 2003.
- CRUZ, L. P.; FURLAN, M. R.; JOAQUIM, W. M. O estudo de plantas medicinais no ensino fundamental: uma possibilidade para o ensino da botânica. **VII Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciên-**

**cias-ENPEC.** Florianópolis: SC-ABRAPEC, v. 83, p. 3322.3222, 2009.

DE OLIVEIRA, I. P. et al. Conhecimento de plantas medicinais e relação com o ambiente por alunos de duas escolas de ensino fundamental do município de Viçosa do Ceará, Ceará. **Pesquisa em Educação Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 81-93, 2016.

LEÃO, R. B. A.; FERREIRA, M. R. C.; JARDIM, M. A. G. Levantamento de plantas de uso terapêutico no município de Santa Bárbara do Pará, Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 1, p. 21-25, 2007.

LIBÂNEO, J. C. Organização e gestão da escola: teoria e prática. São Paulo: **Heccus Editora**, 2015.

MESSIAS, M. C. T. B.; MENEGATTO, M. F.; PRADO, A. C. C.; SANTOS B. R.; GUIMARÃES, M. F. M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 76-104, 2015.

MOREIRA, Rita de Cássia Teixeira et al. Abordagem etnobotânica acerca do uso de plantas medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta farmacêutica bonaerense**, v. 21, n. 3, p. 205-211, 2002.

PAULO, Â. M.; DA HORA NETO, J. A. A importância do espaço escolar para o ensino-aprendizagem a luz de um estudo de caso. **Revista Galo**, n. 4, p. 217-230, 2021.

ROCHA, M. L.; AGUIAR, K. F. Pesquisa-intervenção e a produção de novas análises. **Psicologia: ciência e profissão**, v. 23, p. 64-73, 2003.

SOUZA, V. A.; LIMA, D. C. S.; VALE, C. R. Avaliação do conhecimento etnobotânico de plantas medicinais pelos alunos de ensino médio da cidade de Inhumas, Goiás. **Revista Uruguiaia**, v. 8, n. 8, p. 13-30, 2015.

TAGLIAPIETRA, O. M.; CARNIATTO, I. A interdisciplinaridade na Educação Ambiental como instrumento para a consolidação do Desenvolvimento Sustentável. **Revista Brasileira de Educação Ambiental (RevBEA)**, v. 14, n. 3, p. 75-90, 2019.

TRAZZI, P. S. S., FASSARELLA, R. C. Concepções teórico metodológicas da educação ambiental. II Encontro Estadual de Educação Ambiental. **Anais**. Vitória, 2006.

VALE, N. B. A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia? **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, p. 368-380, 2002.

JUNIOR, V. F. V. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, p. 308-313, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. **Organización Mundial de la Salud**, 2003.

## ANEXO 01

### Questionário 1 - Utilização de Plantas Medicinais como ferramenta para a educação ambiental

**Idade:**\_\_\_\_\_ **Sexo:**  F;  M.

**1) Você já ouviu falar no termo Planta Medicinal?**  Sim;  Não.

**2) Caso sim, em qual local você ouviu falar desse termo?**  Família;  Escola;  
 Amigos;  Outros: \_\_\_\_\_

**3) Para você, qual é a faixa etária mais comum das pessoas que utilizam as Plantas Medicinais com maior frequência?**  Crianças;  Jovens;  Adultos;  Idosos.

**4) Você já utilizou ou utiliza Plantas Medicinais?**  Sim;  Não.

**Se você marcou NÃO, na questão 4:**

**5) Qual é o motivo para não fazer uso das plantas medicinais?**

Ausência de efeito;  Receio de efeitos colaterais desconhecidos;  Falta de oportunidade;  Falta de confiança nas plantas medicinais;  Poucos estudos científicos sobre plantas medicinais;  
 Outro motivo (especifique): \_\_\_\_\_

**Se você marcou SIM, na questão 4:**

**5) Com que frequência você costuma utilizar plantas medicinais:**

Frequentemente;  Casualmente;  Raramente.

**5.1) Como você tem acesso a essas plantas medicinais?**

Cultivo próprio;  Cultivo de vizinhos;  Na beira da estrada;  Compra;  Outros: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**5.2) Para qual finalidade você utiliza as Plantas Medicinais:**

Para a prevenção de alguma enfermidade;  Para tratamento de alguma enfermidade;  Por ser um hábito adquirido;  Outros: \_\_\_\_\_

**6) Quantas plantas medicinais você conhece ou costuma utilizar no seu dia-a-dia?**

1 a 5;  6 a 10;  11 ou mais.

**7) Das plantas que você conhece ou costuma utilizar, você saberia citar algum nome vulgar? Se sim, cite os nomes.**  Sim;  Não. \_\_\_\_\_

**8) Você utilizou ou utiliza medicinalmente estas plantas de qual forma:**

Chás;  Xarope;  Garrafadas;  Compressas;  Cataplasmas;  Pomadas;  Outros: \_\_\_\_\_

**9) Qual a parte da planta mais utilizada?**

Raiz;  Caule;  Folha;  Fruto;  Flores;  Sementes;  Casca.

**10) Você confia na eficácia das plantas medicinais?**  Sim;  Não.

**11) Você acredita que o uso de plantas medicinais poderia substituir o uso de medicamentos convencionais?**  Sim;  Não. Justifique sua resposta: \_\_\_\_\_

**Assinale verdadeiro ou falso nas afirmativas a seguir, relacionadas às plantas medicinais, suas formas de utilização e preparo:**

Antes de utilizar uma planta medicinal é importante conversar com profissionais da saúde para se informar sobre os efeitos das mesmas.  Verdadeiro;  Falso.

**Antes de utilizar uma planta medicinal é preciso certificar-se do modo adequado de seu preparo.**  Verdadeiro;  Falso.

Toda planta medicinal é isenta de efeitos colaterais ou toxicidade.  Verdadeiro;  Falso.

Várias espécies de plantas medicinais podem ser conhecidas pelo mesmo nome vulgar de acordo com a região em que se encontram.  Verdadeiro;  Falso.

Os termos infusão e decocto indicam formas de preparo distintas.  Verdadeiro;  Falso.

**Compressa e cataplasma são sinônimos de uma das formas de preparo/utilização de plantas medicinais.**  Verdadeiro;  Falso.



## ANEXO 02

### Questionário 2 - Plantas medicinais e práticas sustentáveis

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo:  F;  M.

**1- Você tem prática de reaproveitar ou reciclar materiais em sua casa?**  Sim;  Não.

**1.1- Caso tenha respondido SIM para a questão anterior: Como você faz essa reciclagem/ reaproveitamento e quais os materiais ou produtos você utiliza para isso?** \_\_\_\_\_

**2- Você sabe o que é lixo orgânico?**  Sim;  Não.

**3- Você sabe o que é lixo inorgânico?**  Sim;  Não.

**4- Você separa o lixo do orgânico do inorgânico?**  Sim;  Não.

**5- Você costuma reutilizar algum tipo de material que vai para o lixo?**

Não, porque não sei fazer reaproveitamento de materiais;

Não, porque lixo é para ser jogado no lixo;

Sim, utilizo caixas de papelão e outras embalagens para guardar outros objetos;

Sim, uso as sacolas que antes iam para o lixo para fazer compras;

Sim. Outros: \_\_\_\_\_

**6- Você sabe o que é uma horta vertical?**  Sim;  Não.

**7- Quais são os benefícios de uma horta vertical?** \_\_\_\_\_

**8- Das plantas listadas abaixo, enumere de 1 a 10, por ordem de prioridade (sendo 1 a mais prioritária) quais você considera importantes para serem cultivadas numa horta vertical de plantas medicinais a ser implantada na sua escola?**

Alecrim;  Arruda;  Babosa;  Boldo;  Camomila;  Capim-cidreira;  Erva doce;  Gengibre;  Hortelã;  Carqueja.

**9- Você saberia dizer a indicação para a utilização de alguma das plantas citadas acima?**

Sim;  Não. Caso saiba cite: \_\_\_\_\_



# CAPÍTULO 9

## **PIGMENTOS VEGETAIS: UMA PROPOSTA DE ENSINO INTERDISCIPLINAR E DE SUSTENTABILIDADE**

*PLANTS PIGMENTS: A PROPOSAL FOR INTERDISCIPLINARY AND  
SUSTAINABILITY TEACHING*

**Paula Roberta Costalonga Pereira**

**Marlonni Maurastoni Araujo**

**Vitor Siqueira Macieira**

**Anna Carolina Araújo Panteleão**

**Maria do Carmo Pimentel Batitucci**



## Resumo

Os pigmentos naturais protagonizaram durante muito tempo os processos de tingimento na história da humanidade. A descoberta dos pigmentos sintéticos substituiu em grande parte o tingimento natural tornando-os hegemônicos no mercado. Entretanto, com a atual demanda de consumo, discute-se muito sobre os potenciais e os riscos de sua aplicação, principalmente na indústria têxtil, o que abre discussões sobre suas influências no meio ambiente e na sociedade. Apesar disso, pouco é abordado sobre os pigmentos nos currículos de biologia e nos seus temas transversais. Nos processos de ensino e aprendizagem é inegável o caráter interdisciplinar do tema e sua multitude de relações no cotidiano do aluno. Por isso, o objetivo deste trabalho foi a realização de uma oficina para extração de pigmentos vegetais para produção de tintas. A metodologia de ensino utilizada foi uma sequência didática com dois diferentes momentos: (i) aula expositiva dialogada, seguida de (ii) realização de uma oficina. A partir das observações feitas pelos educadores durante a execução da atividade e das intervenções realizadas pelos alunos, discutiu-se sobre a dualidade entre pigmentos naturais e sintéticos e seus impactos socioambientais, problematizou-se a serventia dos sintéticos para indústria têxtil e suas influências nos currículos escolares, e por fim, analisou-se a relação do aluno com a cultura e a biodiversidade. A oficina contribuiu para momentos de interações e trocas de saberes, sendo importante como alternativa nos processos de ensino e aprendizagem, além de contribuir para a interdisciplinaridade sobre o tema.

**Palavras-chave:** Ensino de Biologia, Ensino de Ciências, Extração de Pigmentos, Temas Transversais.

## Abstract

Natural pigments have played a leading role in the dyeing processes in human history for a long time. The discovery of synthetic pigments largely replaced natural dyeing, making them hegemonic in the market. However, with the current consumer demand, there is a lot of discussion about the potentials and risks of its application, especially in the textile industry, which opens discussions about its influences on the environment and society. Despite this, little is addressed about pigments in biology curricula and in its cross-cutting themes. In the teaching and learning processes, the interdisciplinary character of the topic and its multitude of relationships in the student's daily life are undeniable. Therefore, the objective of this work was to carry out a workshop for the extraction of vegetable pigments for the production of paints. The teaching methodology used was a didactic sequence with two different moments: (i) a dialogued lecture, followed by (ii) a workshop. From the observations made by the educators during the execution of the activity and the interventions carried out by the students, the duality between natural and synthetic pigments and their socio-environmental impacts was discussed, the usefulness of synthetics for the textile industry and their influences on curricula were discussed. school students, and finally, the student's relationship with culture and biodiversity was analyzed. The workshop contributed to moments of interactions and exchange of knowledge, being important as an alternative in the teaching and learning processes, in addition to contributing to interdisciplinarity on the subject.

**Keywords:** Biology Teaching, Science Teaching, Pigment Extraction, Transversal Themes.



## 1. INTRODUÇÃO

O uso de pigmentos naturais é uma prática humana milenar, sendo a pintura rupestre uma de suas formas primeiras. Acredita-se que os nossos antepassados usavam como pigmentos partículas inorgânicas minerais, como a hematita para a coloração vermelha, e pigmentos orgânicos, como o carvão vegetal (MELLO; SUAREZ, 2012). Pigmento é definido como uma partícula sólida, orgânico ou inorgânico, branco, preto, colorido ou fluorescente, que seja insolúvel no substrato no qual venha a ser incorporado e que não reaja quimicamente ou fisicamente com este (BONDIOLI; MANFREDINI; OLIVEIRA, 1998). Diferente dos corantes ou tintas, os quais são moléculas solúveis no substrato, causando a perda de suas características estruturais e cristalinas, o pigmento fornece a cor por meio da dispersão no meio a ser colorido. Tanto um como o outro são *colorantes*, aditivos usados para conferir cor aos materiais (SARON; FELISBERTI, 2006).

Nos processos de ensino e aprendizagem, o tema cor evoca uma necessidade de explicações que envolvem o campo da Biologia, Física, História, Geografia e Química, sendo inegável seu caráter interdisciplinar. Os pigmentos responsáveis pela cor podem ser abordados sob a ótica de temas transversais, como a Educação Ambiental (EA). A EA é um processo de educação que segue uma nova cultura comportamental e filosofia de vida, comprometida com os humanos e o meio ambiente, que percorre o presente e o futuro das gerações. Esse processo é contínuo, permanente e sua prática torna o processo educativo mais organizado para a formação da cidadania, pois deve se desenvolver num ensino interdisciplinar (KONDRAT; MACIEL, 2013). Ela se constitui como uma etapa primária na sensibilização em longo prazo, a fim de que os sujeitos possam intervir na realidade proporcionando melhorias para o meio ambiente.

Nesse contexto, é possível trabalhar o assunto 'pigmentos' para além das suas características físicas, químicas e biológicas, como também para discutir suas influências no meio ambiente e na sociedade. Assim, no presente trabalho, discute-se sobre a dualidade entre pigmentos naturais e sintéticos e seus impactos socioambientais. Problematisa-se a serventia dos sintéticos para indústria têxtil, seus impactos nos currículos escolares e por fim, propõe-se, por meio de uma proposta de ensino integrada e de investigação, apontar a possibilidade de uso dos pigmentos naturais para um processo de tingimento mais consciente e sustentável.

Programas de ensino que integrem os saberes na busca de ações interdisciplinares em suas várias nuances são essenciais. Para isso, é preciso realizar um ensino de ciências contextualizado e interdisciplinar a partir de metodologias diferenciadas, como as propostas pelo documento dos Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN e PCN+) (BRASIL, 2001, 2002). Um possível caminho a ser seguido é a adoção de oficinas e de experimentos, que são formas de metodologia que aproximam aluno, professor e conteúdo da realidade.

Para tanto, o objetivo do trabalho foi propor uma sequência didática que contribua para o entendimento por parte dos alunos sobre a ocorrência de diferentes pigmentos em cada matéria-prima utilizada e seus possíveis usos como produção de tintas. Dessa forma, a sequência foi elaborada como metodologia de ensino no ensino médio. Para esta elaboração foi feito um levantamento de dados bibliográficos acerca dos pigmentos naturais

e sintéticos e análise de textos que tratam a questão da interdisciplinaridade, além dos documentos oficiais do Ministério da Educação (Base Nacional Comum Curricular, Orientações Curriculares para o Ensino Médio, PCN e PCN+), contribuindo para as reflexões e discussões propostas neste trabalho (MEC/BRASIL, 2015). A validação se deu por meio de uma investigação acerca do conhecimento prévio dos alunos sobre o tema, seguida de aula expositiva dialogada e, por fim, realização de uma Oficina.

## 1.1 Pigmentos: do natural ao sintético

A presença de pigmentos, que podem ser encontrados em todos os órgãos da planta, confere a gama de cores observadas nas espécies vegetais. Nas moléculas dos pigmentos vegetais encontram-se diferentes grupos funcionais, estando esses agrupados pelo tipo de estrutura básica em: betalaínas, carotenoides, clorofilas, flavonoides, entre outros (SÉQUIN, 2012). As clorofilas são pigmentos típicos de organismos fotossintetizantes localizados nos cloroplastos. As clorofilas *a* e *b* são abundantes nas plantas verdes. Os carotenoides são pigmentos também encontrados em todos os organismos fotossintetizantes naturais. Constituintes integrais dos cloroplastos e as bandas de absorção na região dos 400 a 500 nanômetros dão aos carotenoides sua coloração alaranjada característica. Os flavonoides são um grupo de compostos fenólicos que incluem, por exemplo, as antocianinas, as quais são responsáveis pelas cores vermelha, azul e violeta; enquanto as antoxantinas apresentam cores claras, do branco-amarelado ao amarelo (TAIZ et al., 2017).

A sociedade utilizou e ainda utiliza os pigmentos naturais de origem vegetal, animal e mineral, principalmente, para o tingimento de tecidos e para colorir obras de arte. Como exemplo, cita-se a utilização da casca do pau-brasil durante o período Brasil-colônia para colorir de vermelho; a púrpura tíria, considerado um dos colorantes mais caros da história, extraído do molusco *Hexaplex trunculus* e usado para tingir as vestimentas de imperadores romanos; o carmim cochonilha, para tingir as vestimentas de exércitos, que é inclusive, usada até hoje na coloração de bebidas lácteas, e o amarelo indiano, obtido a partir de urina concentrada de vacas e vendido na forma de pedras conhecidas como *puree*, visto em quadros do pintor Van Gogh. Porém dentre todas as cores, o azul merece destaque, pois permaneceu como uma cor rara durante muito tempo. Era possível obter o azul somente a partir da pedra de lápis-lazúli e, por esse motivo, a cor era utilizada para colorir objetos relacionados ao divino (CABRAL, 2006).

Apesar de seu protagonismo por um longo período na história, os pigmentos naturais são bem limitados em diversos aspectos, além das fontes escassas de cores como o azul, têm uma abrangência de cores limitada. Somente cores entre a paleta do verde, amarelo, laranja, marrom e vermelho são facilmente encontrados na natureza, sua produção necessita de tempo e espaço e possuem um processo de extração laborioso. Em tecidos, os pigmentos naturais têm um baixo poder de fixação, sendo necessários agentes fixadores (principalmente metais), mas que mesmo assim desbotam facilmente ao longo do tempo (SANTOS-SILVA, 2007). Todas essas características colocam em dúvida a respeito das potencialidades e riscos dos corantes naturais.

Uma procura crescente por mais nuances de cores e maior quantidade de colorantes tornou a utilização de pigmentos naturais incapaz de atender o mercado têxtil, alimentício



e artístico. O incentivo à industrialização promoveu uma valorização de modelos mecanicistas em detrimento do artesanato, o qual não correspondia às exigências mercadológicas impostas pelo ritmo de produção. Nesse sentido, a descoberta dos pigmentos sintéticos permitiu solucionar essas demandas.

Em 1856, o primeiro corante orgânico foi produzido pelo inglês William Perkin. Foi uma descoberta acidental: Perkin, aluno do curso de química, no *Royal College*, de Londres, tentava sintetizar o quinino para tratamento da malária, quando obteve uma solução de cor púrpura forte, na qual era absorvida pelo tecido e provou ser resistente à luz e à lavagem. Ele descobriu que era possível produzir corantes a partir do alcatrão de hulha, um resíduo da coqueificação do carvão. Perkin chamou seu corante de Púrpura de Tiro (MENDA, 2012). Em seguida, o interesse das indústrias no desenvolvimento juntamente com a popularização permitiu que novos corantes sintéticos de diversas características comesçassem a ser produzidos e utilizados na fabricação de tecidos e na produção de alimentos.

Com o crescente emprego, aumentaram os estudos relacionados aos efeitos nocivos ao organismo pela ingestão de corantes artificiais. Eles são sintetizados, principalmente, por meio dos hidrocarbonetos aromáticos (benzeno, xileno, tolueno) e dos HAPs (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos), como o naftaleno. Esses compostos são obtidos do alcatrão de carvão e também do petróleo. Produtos como maquiagem, batom e sombras para pele apresentam esses aditivos. Os malefícios dos corantes sintéticos na saúde humana vão desde uma alergia ao aditivo, hiperatividade em crianças, até possível câncer no organismo (PRADO; GODOY, 2009).

Além das consequências diretas para a saúde humana, podem causar efeitos ao meio ambiente. Um exemplo disso pode ser observado por algumas práticas da indústria têxtil. De acordo com um relatório da Ellen MacArthur Foundation, essa indústria utiliza muitos recursos não-renováveis, incluindo petróleo bruto para produzir fibras sintéticas, fertilizantes e água no plantio do algodão, subprodutos dos corantes sintéticos e de acabamentos para fios e tecidos. Além disso, grande parte dos efluentes têxteis são lançados nos corpos d'água sem o tratamento adequado. Esses efluentes contêm colorantes sintéticos com alta toxicidade e resistência à degradação. Quando lançados no ambiente aquático, e não tratados, podem ocasionar o esgotamento do oxigênio dissolvido, tendo como consequência o desequilíbrio desse ecossistema, pois a presença de corantes nessas águas impede a penetração da luz solar no ambiente lacustre, alterando a atividade fotossintética do meio, diminuindo a solubilidade de oxigênio e resultando em efeitos tóxicos sobre a fauna e flora aquática (LALNUNHLIMI; KRISHNASWAMY, 2016).

Calcula-se que quase toda a carga orgânica de corantes no qual entra no meio ambiente é por meio dos efluentes industriais têxteis (REVANKAR; LELE, 2007). Apesar do alto desenvolvimento desse setor, é escasso o investimento feito para tratar esses resíduos. Com o objetivo de evitar multas, as empresas investem - ainda que pouco - no tratamento de seus resíduos. Outra problemática consiste na falta de fiscalização e monitoramento dos resíduos descartados por essas indústrias, podendo ocorrer farsas ou alterações nos supostos tratamentos dos efluentes (ABREU et al., 2008).

Nesse contexto, o uso entre colorantes naturais e artificiais é influenciada principalmente pelos padrões de consumo atuais que têm crescido dramaticamente. Nas últimas décadas, têm-se visto uma extraordinária expansão da economia global e uma correspon-

dente explosão de consumo. No mundo da moda, novas tendências são lançadas a todo o momento e, o que antes era destaque, já não o é dado a velocidade de novos produtos surgidos no mercado. Esse padrão torna inviável a utilização de corantes sintéticos devido a sua capacidade poluente e coloca em xeque o uso de corantes naturais, pois necessitam de mais terras para o plantio/extração e de uma quantidade maior de matérias-primas para atender a demanda de consumo.

## 1.2 Biologia e Ensino Médio: uma reflexão sobre os processos de ensino e aprendizagem

A Educação Básica brasileira, ao longo de seu processo de constituição, depara-se com distintos desafios. Seja pelas questões surgidas e inerentes ao próprio trajeto de constituição de um sistema educacional, seja pelas particularidades que envolvem a história de formação nacional: o quadro socioeconômico, a variedade cultural e a diversidade populacional do Brasil. Tal cenário corrobora ao fortalecimento de demandas educacionais em que a escola não se resume a um espaço de ensino formal, balizado pelas regras institucionais, e sim como um meio em que parte da população consiga por meio dela alcançar uma educação de libertação, de exercício crítico e de fortalecimento das potencialidades dos sujeitos, dos grupos sociais.

Neste sentido, é possível identificar a necessidade de promover uma atuação pedagógica atualizada academicamente, contextualizada com as demandas sociais, calcada no exercício ético da profissão e objetivando o fortalecimento do pensamento crítico. Não nos parece, portanto, adequado a insistência em antigos padrões de ensino e aprendizagem, em que, na maioria dos casos, observa-se uma prática docente centrada no conteudismo, na quase que inexistente compreensão da importância do estudo da Biologia para além das necessidades impostas pelos vestibulares e/ou currículos escolares.

Sobre isso, os documentos oficiais do Ministério da Educação, especialmente as Orientações Curriculares para o Ensino Médio (2006), área de Ciências Naturais, destacam:

[...] nas últimas décadas, o ensino de Biologia vem sendo marcado por uma dicotomia que constitui um desafio para os educadores. Seu conteúdo e sua metodologia no ensino médio voltados, quase que exclusivamente, para a preparação do aluno para os exames vestibulares (BRASIL, 2006, p. 15).

O que revelaria, nessa ótica, “[...] um ensino pautado pela memorização de denominações e pela reprodução de regras e processos” (BRASIL, 2006, p. 15), contribuindo para a descaracterização dessa disciplina enquanto uma ciência preocupada com diversos aspectos da vida no planeta. Tal quadro também pode ser fortalecido pela falta de orientações sobre os princípios norteadores da prática docente no campo da Biologia, o que, nos Parâmetros Curriculares Nacionais para o Ensino Médio (PCNEM), é refletido de forma pouco efetiva, posto que faltam sugestões e propostas ao professor de como atuar de modo a contemplar aquele que deveria ser o eixo norteador da prática docente no campo da Biologia: a preocupação com aspectos relativos à vida no planeta e com a “formação de uma visão do homem sobre si próprio e de seu papel no mundo” (BRASIL, 2006, p. 15).



Posto que “concebida como forma de socializar as pessoas de acordo com valores e padrões culturais e ético-morais da sociedade e como meio de difundir de forma sistemática os conhecimentos científicos construídos pela humanidade” (BRASIL, 2010, p. 150), a educação escolar deveria refletir um direito, representando, assim, um componente necessário para o exercício da cidadania e para as práticas sociais “associada às mobilizações pelo direito à educação, à exigência de participação e de democratização e comprometida com a superação das desigualdades e injustiças” (BRASIL, 2010, p. 151).

Superar a dicotomia existente em torno das expectativas e métodos relacionados ao ensino de Biologia significa “[...] possibilitar ao aluno a participação nos debates contemporâneos que exigem conhecimento biológico” (BRASIL, 2006, p. 17), reconhecendo, inclusive, como o fato de o Brasil ser, por exemplo, considerado um país rico em biodiversidade, representa uma possibilidade de atuação escolar em que estudar Biologia também seria a compreensão da influência de tal biodiversidade na qualidade de vida humana, na necessidade de fazer melhor uso dos produtos naturais. Logo, “o grande desafio do professor é possibilitar ao aluno desenvolver as habilidades necessárias para a compreensão do papel do ser humano na natureza” (p. 18).

Partindo dessa reflexão, acredita-se que o conhecimento escolar deveria ser estruturado de maneira “a viabilizar o domínio do conhecimento científico sistematizado na educação formal, reconhecendo sua relação com o cotidiano e as possibilidades do uso dos conhecimentos apreendidos em situações diferenciadas da vida” (BRASIL, 2006, p. 18). Tal processo resvalaria em alguns cuidados éticos inerentes à atuação docente, como, por exemplo: a capacitação teórica (formação continuada, grupos de pesquisa, diálogo entre escola básica e academia etc.), busca por novas alternativas educativas que estejam em sintonia com os desafios emergentes de novas demandas sociais, conhecimentos científicos, padrões comportamentais e contexto econômico, político e cultural de cada comunidade escolar.

Centrado no entendimento de que o espaço escolar deve, sobretudo, representar um fomento às potencialidades humanas de atuação no mundo, acredita-se na importância do aluno ser capaz de reconhecer “[...] a vida como manifestação de sistemas organizados e integrados” (BRASIL, 2006, p. 20), sendo ele capaz, inclusive, de atuar no processo evolutivo. A escola, assim, deve propiciar:

[...] condições para que o educando possa conhecer os fundamentos básicos da investigação científica; reconhecer a ciência como uma atividade humana em constante transformação, fruto da conjunção de fatores históricos, sociais, políticos, econômicos, culturais, religiosos e tecnológicos, e, portanto, não neutra; compreendemendar e interpretar os impactos do desenvolvimento científico e tecnológico na sociedade e no ambiente.

Trata-se, portanto, de capacitar o educando para interpretar fatos e fenômenos – naturais ou não – sob a óptica da ciência, mais especificamente da Biologia, para que, simultaneamente, adquira uma visão crítica que lhe permita tomar decisões usando sua instrução nessa área do conhecimento (BRASIL, 2006, p. 20).

Caberia, deste modo, buscar por estratégias para abordagem dos temas curriculares de Biologia que promovam a parceria entre professor e alunos, sendo o primeiro um mediador responsável por apresentar problemas ao segundo que os desafiem a buscar

soluções e, assim, sistematizar novos conhecimentos. Em concordância com a proposta de *Experimentação*, optou-se por realizar, na Escola Viva de São Pedro, uma oficina de extração de pigmentos naturais.

Esperava-se, com isso, apresentar ao educando uma estratégia alternativa aos modelos didáticos tradicionais, almejando contribuir no desenvolvimento de parte das competências esperadas para aquele grupo: uma educação formal instigadora da atuação reflexiva, baseada na sedimentação de conhecimentos prévios, formação de novos, atuação efetiva dos discentes nos processos de ensino e aprendizagem e o cuidado com a análise dos impactos dos conhecimentos científicos na sociedade.

### 1.3 Notas de uma atividade de ensino: a oficina de produção de tintas sustentáveis

Por demandas educacionais como um meio de se alcançar uma educação de libertação, de exercício crítico e de fortalecimento das potencialidades, propôs-se uma atividade que contou com uma sequência didática com dois diferentes momentos: (i) uma aula expositiva dialogada de 50 minutos, com questionamentos sendo levantados para instigar os alunos a pensar, utilizando textos e multimídia como ferramenta auxiliar, seguida de (ii) realização de uma Oficina, que teve a participação de 10 estudantes integrantes do Projeto de Iniciação Científica Júnior (PICJr) do Centro Estadual do Ensino Médio em Tempo Integral São Pedro, Escola Viva São Pedro, localizada no município de Vitória/ES. As atividades foram desenvolvidas no laboratório de ciências da escola no contraturno dos alunos.

Na primeira parte da aula (i), os organizadores trouxeram questões para indagar os alunos, como “Por que as roupas que vocês utilizam tem cor?” “Como essas roupas foram tingidas?” “Como eram feitos os tingimentos antes do desenvolvimento dos pigmentos sintéticos?” “Quais os prós e os contras dos tingimentos naturais e dos sintéticos?”.

Após esta conversa, um quadro foi aplicado para que os alunos pudessem completar argumentando quais as consequências para o meio ambiente e para a saúde quando comparados os tingimentos natural e sintético (tabela 1).

	Meio ambiente	Saúde
Tingimento Natural		
Tingimento Sintético		
Alternativas para propor soluções		

Tabela 1 – Completar a tabela argumentando as consequências para o meio ambiente e propor soluções para os possíveis problemas.

Após o preenchimento da tabela, foram apresentadas aos alunos as consequências conhecidas de ambos os processos de tingimento e logo depois, foi pedido para que eles propusessem alternativas para solucionar os problemas desses processos. Por fim, foram discutidas algumas alternativas recentes e propostas pela ciência para resolver essas questões.

Em seguida, deu-se início à oficina a fim de produzir tinta a partir dos pigmentos vegetais. Para a realização da oficina foram compradas e coletadas algumas espécies vegetais, incluindo: folhas, sementes, casca de troncos e raízes (tabela 2). Essas espécies utilizadas para o processo de extração de pigmentos foram escolhidas pelo fato de serem plantas de fácil acesso, uma vez que existe a necessidade de serem encontradas facilmente pelos alunos e estarem presentes na realidade destes.

<b>Cor</b>	<b>Nome popular da planta</b>
Amarelo	Cúrcuma
Azul	Jenipapo
Laranja	Urucum
Rosa	Cedro rosa
Verde	Espinafre
Vermelho terra	Barbatimão

Tabela 2 – Relação das cores e espécies para o desenvolvimento da oficina.

Foram explicados alguns termos e processos práticos relacionados ao tingimento, como: cocção, infusão, mordente/fixador, interação do pigmento com a fibra, entre outros. Em seguida, partes de três plantas diferentes foram apresentadas e solicitou-se o preenchimento de uma tabela (tabela 3).

<b>Planta</b>	<b>Cor esperada</b>	<b>Cor resultante</b>
<i>Cedrela fissilis</i>		
<i>Stryphnodendron</i> (Barbatimão)		
<i>Genipa americana</i> (Jenipapo)		

Tabela 3 – Cor esperada e cor resultante de três plantas.

Enquanto os alunos preenchiam, os professores foram colocando os vegetais em recipientes com água fervendo para a extração dos pigmentos. Passados alguns minutos, já se podia ver as cores resultantes.

Retalhos de tecidos (100% algodão) foram mergulhados nos recipientes previamente preparados pelos organizadores, junto com um mordente/fixador. Os tecidos foram tingidos e expostos em um varal para a secagem (figura 1).



Figura 1: Atividades com o tema pigmentos naturais. (A) Primeiro momento: aula expositiva dialogada com auxílio de multimídia. (B) Segundo momento: oficina de pigmentos naturais. (C) Alguns dos materiais utilizados na realização da oficina. (D) Varal com os tecidos tingidos na oficina expostos para secagem  
 Fonte: Os autores.

## 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cores e os pigmentos não são temas protagonistas no currículo de biologia nem tampouco abordados nos temas transversais. Entretanto, existe uma multitude de relações no cotidiano do aluno com as cores, por exemplo, quando os alunos são questionados sobre sua cor preferida, na escolha do vestuário, nos alimentos, na percepção de cores da natureza, na utilização de materiais para colorir, entre outros. Sua utilização tem consequências não só diretas (alergia a determinados corantes, utilização de uma cor de roupa para se inserir em um grupo ou tribo, efeito de algumas cores sobre o comportamento, etc.) como também indiretas (o descarte de pigmentos e produtos têxteis no meio ambiente, o efeito dos subprodutos da produção química de corantes, etc.).

Por isso o ensino de cores e pigmentos pode ser uma excelente ferramenta para introduzir conceitos importantes inseridos nos Parâmetros Curriculares Nacionais para o Ensino Médio (PCNEM e PCN+). Reconhecendo que os principais temas biológicos referem-se à compreensão da vida na Terra, das consequências dos avanços tecnológicos e da intervenção humana, os PCN+ estabelecem alguns temas estruturadores. Esses, devem ser utilizados para criar situações de aprendizagem que permitam o desenvolvimento de competências tais como saber comunicar-se, saber trabalhar em grupo, buscar e organizar informações, propor soluções, relacionar os fenômenos biológicos com fenômenos

de outras ciências, construindo, assim, um pensamento orgânico e interdisciplinar. Nos processos de ensino e aprendizagem, o tema cor evoca uma necessidade de explicações que articulam-se por meio das três áreas do conhecimentos propostas pela PCN+, sendo evidente seu caráter interdisciplinar (BRASIL, 2001, 2002).

Propõe-se que o Ensino de Biologia seja capaz de superar o senso comum pedagógico; de desenvolver um saber científico ao alcance de um público; de democratizar o conhecimento científico e que se constitua como cultura (LAPA; BEJARANO; PENIDO, 2011). Entretanto, no que tange a realidade brasileira, encontramos uma educação marcada por currículos fragilizados e desarticulados em que as diversas disciplinas são estudadas isoladamente. É motivada por essa falta de conexão que a educação vem apresentando consequências civilizatórias graves.

O conteúdo e metodologia no ensino de Biologia do ensino médio tem sido voltado, majoritariamente, para a preparação do aluno para os processos seletivos em faculdades e universidades, o que contradiz as determinações propostas pela Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional (Lei Nº 9394/96) e reforça o processo da educação bancária, proposta por Paulo Freire, pelos educadores.

Nesse tipo de educação, o professor realiza uma série de ações descontextualizadas, nas quais os conteúdos curriculares são apartados do mundo concreto dos alunos, o que gera um ensino vazio de significado. Outra característica da educação bancária é a ênfase na memorização, pois, nessa visão, o educador será melhor se encher os recipientes, vazios, com seus depósitos. Nas palavras de Freire: “quanto mais se deixem docilmente “encher”, tanto melhores educandos serão”. Aliada a essas características, Freire (2005) denuncia que a postura opressiva, que domina a educação bancária, para com os alunos gera a amputação traumática de sua curiosidade inerente. Nessa visão, os educandos “[...] ao receberem o mundo que neles entra, já são seres passivos, cabe à educação apassiva-los mais ainda e adaptá-los ao mundo” (FREIRE, 2005).

Nesse sentido, educação sem o devido exercício crítico pode corroborar a manutenção do *status quo*, em que estar em sociedade seria adequar-se aos padrões pré-estabelecidos de dominância cultural, econômica, social e política. Não seria, portanto, a falta de problematização sobre o protagonismo do uso dos corantes sintéticos na indústria têxtil e suas consequências para o homem e o meio ambiente, um reforço de uma condição civilizatória calcada na educação bancária? É possível que interesses ideológicos que servem à indústria têxtil e aos padrões atuais de consumo de vestuário sejam um exemplo de como as necessidades criadas pela lei do mercado também refletem em outras áreas sociais; cabe questionar como se dá a organização dos currículos escolares, além dos próprios métodos de ensino, os quais, quando apartados de demandas sociais e culturais, podem servir para apassar ainda mais o educando e o educador em formação.

No processo de ensino e de construção do cidadão crítico-reflexivo, os valores vão sendo assimilados pelo aluno na medida em que ele exercita o pensamento, o olhar crítico, e associa os conceitos transmitidos em sala de aula às suas experiências individuais e sociais, nos diversos meios por onde percorre (CAVALCANTE, 2011). Portanto, programas de ensino que integrem os saberes na busca de ações interdisciplinares, articulando os conhecimentos existentes para solucionar um problema ou entender um fato em toda sua abrangência e complexidade, superando a fragmentação disciplinar, são fundamentais (SILVA et al., 2016).

A multitude de relações com o tema cor permitiu o desenvolvimento de uma oficina em sala de aula, proporcionando que o ensino e aprendizagem de ciências aconteçam de forma interdisciplinar. O trabalho visou despertar, facilitar e desenvolver a construção do conhecimento sobre o papel dos pigmentos nos organismos vivos, o histórico dos pigmentos na humanidade, a extração dos colorantes naturais e o impacto dos corantes industrializados na natureza e na saúde humana partindo de uma linha comparativa entre pigmentos naturais e sintéticos.

A pergunta norteadora para início da discussão com os alunos foi: "Por que as nossas roupas têm cor?". A partir dessa questão iniciáramos a discussão sobre o comportamento físico dos pigmentos, como a questão da luz refletida, resultado de uma absorção seletiva num dado comprimento de onda. É interessante perceber que os alunos rapidamente responderam a essas questões da forma mais clara possível: "*é por que foi pintada assim*".

Como professores em formação, esse tipo de resposta nos ensina que nem sempre os alunos responderão às nossas intenções em sala de aula. Nesse momento precisou-se reinventar a pergunta e adaptar a realidade do aluno para continuar a linha de raciocínio. Cabendo ao professor a possibilidade de intervir, criar condições, facilitar a ação do aluno em aprender, suas mudanças na práxis contribuem para um melhor entendimento na educação (LIMA; PIMENTA, 2006). Com isso, seguimos questionando-os: "*mas foi pintada com o quê?*" "*com tinta*" "*o que tem na tinta que dá cor a ela?*" "*corante, pigmento*" "*mas o que tem no pigmento que faz ele dar cor?*". O último questionamento deixou os educandos intrigados e permitiu que os conceitos de luz e cor pudessem ser esclarecidos a partir da sua base física.

A participação dos alunos foi fundamental para que a aula pudesse seguir conforme o planejado. Embora o aluno tenha uma participação essencial nas aulas ativas, o principal responsável e protagonista nesse cenário é o professor, pois ele tem como função o papel de gestor no processo de aprendizagem. Aulas bem planejadas e geridas têm mais chances de sucesso, e isto inclui participação dos alunos e aprendizado eficiente (PEREIRA; LIMA, 2018).

No segundo momento foi perguntado aos alunos como era o processo de tingimento da roupa que eles utilizavam. Percebeu-se que apesar de não compreender de maneira técnica o processo, os educandos tinham conhecimentos bem consistentes sobre tingimento de roupas. Diante disso, pode-se questionar o papel da instituição como espaço de ensino e valorizar a educação advinda de ambientes informais.

[...] a educação assistemática e extraescolar, que a criança adquire na família, com os amigos ou em outras instâncias socializadoras de seu contexto mais imediato, é vital, profunda e real; enquanto a educação formal ou escolar é mais abstrata e menos influente na rotina e nas necessidades diárias das crianças, embora mais ampla e completa do que a primeira em diversas instâncias (DEWEY, 1995).

No terceiro momento da aula expositiva, após introduzir o histórico e aplicação dos corantes sintéticos com enfoque na utilização para tingimento de roupa, foi questionado aos discentes se este processo sempre ocorreu desse modo. Com clareza, eles responderam que não e foram indagados a pensar como poderia ocorrer o tingimento antes dos corantes sintéticos. As respostas foram variadas, mas todos tinham conhecimento de que

se tratava de procedimentos manuais e laboriosos. Quando questionados quanto a origem dos pigmentos, os educandos de maneira geral responderam que eram retirados da natureza, de plantas, árvores etc. Um aluno inclusive comentou: *"tem o pau-brasil que eles utilizavam pra tingir os tecidos de vermelho"*.

Com a fala desse aluno, nota-se que a abordagem interdisciplinar é fundamental para compreensão e reflexão acerca do conteúdo trabalhado. A interdisciplinaridade é a conexão que possibilita o estabelecimento de inúmeras relações das disciplinas com a realidade, num processo recíproco de aprendizagens múltiplas e intermináveis (AZEVEDO; ANDRADE, 2007). Os alunos já apresentavam informações consolidadas do campo da disciplina de História e foram capazes de entrelaçar o que sabiam para solucionar os problemas propostos. É esse aspecto variável a respeito do que se pensa sobre o tema que o faz dirigir-se para a articulação entre produção e sedimentação de conhecimentos (DO NASCIMENTO; DE FREITAS; DO BOMFIM, 2017).

Em seguida, pediu-se aos alunos, uma avaliação dos impactos das tecnologias envolvidas no processo de tingimento natural e sintético e ações para o aperfeiçoamento destes, minimizando impactos socioambientais e melhorando as condições de vida. Aos estudantes foi proposto um aprofundamento e uma ampliação a respeito dos meios de produção de tecnologias, do papel dessas tecnologias na sociedade e as perspectivas de desenvolvimento destas. Nesse sentido, a área de Ciências da Natureza deve garantir aos alunos o desenvolvimento de competências específicas para o enfrentamento dos desafios da contemporaneidade, na direção da educação integral e da formação cidadã. Dentre elas, destaca-se a competência específica 1, sugerida pela Base Nacional Comum Curricular (BNCC):

#### *COMPETÊNCIA ESPECÍFICA 1*

*Analisar fenômenos naturais e processos tecnológicos, com base nas relações entre matéria e energia, para propor ações individuais e coletivas que aperfeiçoem processos produtivos, minimizem impactos socioambientais e melhorem as condições de vida em âmbito local, regional e/ou global (MEC/BRASIL, 2015).*

Nesta competência específica, as relações entre matéria e energia são utilizadas para explicar e analisar os fenômenos naturais e os processos tecnológicos possibilitando, por exemplo, a avaliação das vantagens e os perigos do uso de diferentes materiais e/ou tecnologias para tomar decisões responsáveis e consistentes diante dos diversos desafios contemporâneos.

Analisando as respostas dos educandos pode-se observar que, para o meio ambiente, o tingimento natural apresenta riscos à biodiversidade e tem como principal consequência o desmatamento. Todos relataram também, que não havendo um descarte adequado dos efluentes oriundos do tingimento sintético, esses podem causar poluição ao meio ambiente. Para a saúde, o principal potencial apontado foi sobre os menores riscos de alergia do tingimento natural quando comparado ao tingimento sintético, que de acordo com os alunos, pode causar doenças a curto e longo prazo, entre elas o câncer.

Seguindo, os organizadores entrevistaram problematizando os impactos que não foram propostos pelos alunos, como o consumo de água pelas atividades da indústria têxtil.

Quando questionados sobre esse tema, os educandos não souberam dimensionar o gasto de água, mas argumentaram que a agricultura, atividade necessária pela indústria têxtil, desperdiça muita água. Os educadores empregaram como exemplo o ocorrido no Mar de Aral, na Ásia Central, onde a irrigação de plantações de algodão, utilizado como matéria-prima para as atividades têxteis, secou o mar que ali se encontrava. Notou-se também que muitos desconheciam sobre as consequências dos efluentes depositados no meio ambiente. Essa situação permitiu que os organizadores abordassem temas recorrentes nos PCN+, como o processo de eutrofização.

Na tentativa de propor soluções para aprimorar a saúde e as condições de vida, os educandos apontaram que é preciso divulgar a composição dos componentes químicos presentes nas roupas, fiscalizar as atividades têxteis, evitar o uso e substituir os produtos tóxicos por produtos que não afetem a saúde. As ações propostas pelos discentes na tentativa de sanar os problemas ambientais mostraram-se diversificadas. Dentre elas, a produção e consumo consciente do vestuário, retirada e plantio na mesma intensidade, repouso do solo e criação de uma estação de tratamento de efluentes associados à indústria têxtil. É importante ressaltar que predominou entre as respostas dos alunos o desenvolvimento de novas tecnologias. Entretanto, os discentes não souberam discorrer sobre quais tecnologias seriam prósperas e como poderiam ser aplicadas. Uma segunda intervenção foi realizada pelos organizadores na investida de elucidar as novas tecnologias que têm sido desenvolvidas e utilizadas para minimizar os impactos da indústria têxtil. Dentre elas, o uso de bactérias produtoras de metabólitos secundários com alto poder de pigmentação. Trata-se de um tingimento com gasto mínimo de água, com alto poder de fixação e a possibilidade de produzir uma roupa com texturas únicas.

No momento inicial da oficina, ao mostrar as espécies vegetais, os estudantes indagaram os nomes populares das plantas em questão. Apesar de 4 dos 6 materiais serem oriundos de plantas nativas do Brasil, os estudantes foram capazes de identificar somente o urucum, açafreão e espinafre, presentes no cotidiano dos educandos. As plantas encontradas facilmente no estado não foram reconhecidas pelos estudantes. Percebe-se que há um distanciamento do aluno com a natureza, com o meio em que vive e com a cultura local, uma vez que essas plantas são utilizadas pelos índios nativos do País, inclusive para o tingimento.

Por meio de uma proposta investigativa, pediu-se que os alunos observassem atentamente os materiais utilizados e preenchessem a tabela 3 (cor esperada e cor resultante). Os estudantes completaram como vermelho/rosa para o cedro-rosa (*Cedrela fissilis*) e tons avermelhados/amarronzados para o barbatimão (*Stryphnodendron*). É importante ressaltar que as indagações, observações e conclusões feitas pelos alunos foram as mesmas que os antepassados faziam quando de modo empírico desejavam obter pigmentos a partir de vegetais. O homem é e sempre foi dependente do uso de recursos vegetais para a sua sobrevivência. Esses recursos e os conhecimentos sobre eles são fatores intrínsecos, sendo necessário considerar o contexto sócio-histórico, ecológico, as tradições em que se baseiam, bem como a cultura local para produção desse conhecimento (SILVA, et al., 2015), evidenciando a multidisciplinaridade do tema abordado.

Após a observação da extração, os educandos puderam confirmar suas hipóteses como verdadeiras. Curiosamente, todos esperavam que o jenipapo (*Genipa americana*) resultasse na cor verde. Entretanto, o azul da cor resultante provocou surpresa nos alunos e indagações: “mas como isso acontece?”



Nesse momento os educadores entrevistaram para contextualizar o jenipapo no cotidiano dos alunos. É interessante observar que os educandos demonstraram conhecer o fruto para a produção de doces, entretanto não conheciam o potencial tintório do jenipapo. Dessa discussão, pode-se refletir como a inserção do indivíduo em uma cultura pode influenciar a utilização do meio ao seu redor e muitas vezes restringir-se a demais possibilidades de utilização e manipulação do ambiente. A valorização e a vivência das culturas locais pode favorecer o uso adequado da biodiversidade, contribuindo para sua conservação e utilização (FONSECA-KRUEL; PEIXOTO, 2004). Porém, a imposição dos moldes capitalistas conduz as populações locais a perderem seu referencial cultural e, como consequência, antigas práticas de manejo vão se perdendo ou sendo esquecidas (AMOROZO, 2002). Em resposta ao processo de coloração do jenipapo, os educadores explicaram a reação biológica que existe no fruto e questionaram aos alunos como isso poderia ser utilizado para além do tingimento de roupas.

As atividades práticas/experimentais, como a oficina realizada, são uma modalidade pedagógica de vital importância, onde os educandos põem em prática hipóteses e ideias aprendidas em sala de aula sobre fenômenos naturais ou tecnológicos, permitindo um olhar crítico. As atividades experimentais devem partir de um problema, de uma questão a ser respondida onde seja possível construir hipóteses que instiguem a investigação, testar as hipóteses, organizar os resultados obtidos e refletir sobre os resultados esperados e não esperados. Espera-se que os educandos participem, questionem, interajam com a prática e, sobretudo, usem as conclusões para a construção do conceito pretendido tornando-se sujeitos de suas descobertas.

Ao fim da oficina, os educandos discutiram entre si sobre a possibilidade de customizar a camisa de formatura utilizando as técnicas e os pigmentos vegetais aprendidos.

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio da prática realizada, percebeu-se a importância e a necessidade de ações que insiram temas de caráter interdisciplinar e que se insiram na ótica da educação ambiental em sala de aula. Observou-se que essas atividades se constituem como alternativas importantes nos processos de ensino e aprendizagem, pois relacionam-se com o cotidiano do estudante, desenvolvendo a reflexão sobre o compromisso e responsabilidade do indivíduo com o meio ambiente, de maneira articulada com outras áreas para além da biologia.

A oficina permite ao aluno momentos de interações e trocas de saberes, fugindo da insistência em antigos padrões de ensino e aprendizagem. É uma atividade de construção do conhecimento coletivo, relacionando a teoria com a prática, na qual a figura do educador não é tida como única detentora dos conhecimentos. O aluno exerce e desenvolve cada vez mais a autonomia, o que lhe permite a prática de um olhar crítico.

O trabalho realizado possibilitou contextualizar conteúdos relacionados ao tema da oficina em uma abordagem interdisciplinar no processo de ensino e aprendizagem.

## 4. AGRADECIMENTOS

À FAPES, UFES, CNPq e Capes pelo apoio às pesquisas do LGVT.

## Referências

- ABREU, Mônica Cavalcanti Sá de et al. Perfis estratégicos de conduta social e ambiental: estudos na indústria têxtil nordestina. **Gestão & Produção**, v. 15, p. 159-172, 2008.
- AMOROZO, MC de M. A perspectiva etnobotânica na conservação de biodiversidade. In: **Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, XIV, Rio Claro: UNESP**. 2002. p. 2.
- AZEVEDO, Maria Antonia Ramos de; ANDRADE, Maria de Fátima Ramos de. O conhecimento em sala de aula: a organização do ensino numa perspectiva interdisciplinar. **Educar em revista**, p. 235-250, 2007.
- BONDIOLI, F.; MANFREDINI, T.; OLIVEIRA, APN de. Pigmentos inorgânicos: projeto, produção e aplicação industrial. **Cerâmica Industrial**, v. 3, n. 4-6, p. 13-17, 1998.
- BRASIL. Diretrizes Curriculares Nacionais Gerais para a Educação Básica. **D.O.U. de 9/7/2010, Seção 1**, 2010.
- BRASIL. **Orientações Curriculares Nacionais: Ensino Médio - Ciências da Natureza, Matemática e suas Tecnologias**. [S.l: s.n.], 2006.
- BRASIL. Parâmetros curriculares nacionais PCNs. **Ministério da Educação. Secretaria da Educação Fundamental**, 2001.
- BRASIL. PCN + Ensino Médio: Orientações Educacionais Complementares aos Parâmetros Curriculares Nacionais. **Ministério da Educação e Cultura**, 2002.
- CABRAL, João M. Peixoto. História Breve dos Pigmentos: das Artes da Idade Média (1a parte). **Química**, v. 103, p. 33-44, 2006.
- CAVALCANTE, Ludmila Lemos Mendanha. Construção de um olhar crítico: uma proposta de ensino em artes visuais no ensino fundamental. 2011.
- DEWEY, John. **Democracia y educación: una introducción a la filosofía de la educación**. Ediciones Morata, 1995.
- DO NASCIMENTO, P. M. P.; DE FREITAS, A. C. C.; DO BOMFIM, A. M. POR UMA INTERDISCIPLINARIDADE CRÍTICA: Uma reflexão sobre a Educação Matemática e a Educação Ambiental. 2017.
- FONSECA-KRUEL, Viviane Stern da; PEIXOTO, Ariane Luna. Etnobotânica na reserva extrativista marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 177-190, 2004.
- FREIRE, Paulo. **Pedagogía del oprimido**. Siglo xxi, 2005.
- KONDRAT, Hebert; MACIEL, Maria Delourdes. Educação ambiental para a escola básica: contribuições para o desenvolvimento da cidadania e da sustentabilidade. **Revista Brasileira de Educação**, v. 18, p. 825-846, 2013.
- LALNUNHLIMI, Sylvine; KRISHNASWAMY, Veenagayathri. Decolorization of azo dyes (Direct Blue 151 and Direct Red 31) by moderately alkaliphilic bacterial consortium. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, p. 39-46, 2016.
- LAPA, Jancarlos Menezes; BEJARANO, Nelson Rui; PENIDO, Maria Cristina Martins. Interdisciplinaridade e o ensino de ciências: uma análise da produção recente. **ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS**, v. 8, 2011.
- LIMA, Maria Socorro Lucena; PIMENTA, Selma Garrido. Estágio e docência: diferentes concepções. **Poiesis pedagógica**, v. 3, n. 3 e 4, p. 5-24, 2006.



MEC/BRASIL. **Base Nacional Comum Curricular, 2015.**

MELLO, Vinicius M.; SUAREZ, Paulo AZ. As formulações de tintas expressivas através da história. **Revista virtual de química**, v. 4, n. 1, p. 2-12, 2012.

MENDA, M. Corantes e Pigmentos. **CRQ-IV - Química Viva**, 2012.

PEREIRA, Welbert Oliveira; LIMA, Fernanda Teresa. Challenge, Discussion and Conclusion: an active teaching strategy to turn traditional lectures into collaborative classes. **Einstein (São Paulo)**, v. 16, 2018.

PRADO, Marcelo Alexandre; GODOY, Helena Teixeira. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 14, n. 2, 2009.

REVANKAR, Madhavi S.; LELE, S. S. Synthetic dye decolorization by white rot fungus, Ganoderma sp. WR-1. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 4, p. 775-780, 2007.

SANTOS-SILVA, Celeste. Pigmentos e corantes naturais: entre as artes e as ciências. 2007.

SARON, Clodoaldo; FELISBERTI, Maria Isabel. Ação de colorantes na degradação e estabilização de polímeros. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 124-128, 2006.

SÉQUIN, Margareta. The chemistry of plants: perfumes, pigments, and poisons. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2012.

SILVA, Paulo Henrique et al. A etnobotânica e as plantas medicinais sob a perspectiva da valorização do conhecimento tradicional e da conservação ambiental. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 2, p. 67-86, 2015.

SILVA, R. M. I. e et al. Abordagem interdisciplinar em práticas de ciências: uma disciplina no ensino médio integral. **XVIII Encontro Nacional de Ensino de Química (XVIII ENEQ)**, 2016.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

# AUTORES

## Alessandro Coutinho Ramos

Possui graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), mestrado e doutorado em Produção Vegetal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), com período de doutorado sanduíche, como bolsista Capes, e pós-doutorado em Portugal no Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC), com bolsa da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT). Durante o pós-doutorado, atuou como professor substituto na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e permanece como External Collaborator no "Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes". Foi coordenador e responsável pela criação e implementação do curso de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas da UVV e elaborou a proposta aprovada na CAPES dos cursos de mestrado e doutorado em Biotecnologia Vegetal na modalidade de associação em rede entre a UENF e a UVV, em parceria público-privada. Foi assessor de Pesquisa e Pós-graduação da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PROPPG) da UENF. Atuou como membro titular de Câmaras de Assessoramento da FAPES (Fundação de Apoio à Ciência e Tecnologia do Espírito Santo). Foi reconhecido como "Pesquisador Capixaba" pela FAPES em 2013 e 2022, como "Jovem Cientista do Nosso Estado" pela FAPERJ em 2014. Participa de projetos nacionais e internacionais e atua como parecerista de revistas científicas internacionais. Atualmente é Review Editor das revistas "Frontiers in Plant Physiology" e "Frontiers in Soil Biology, Ecosystems and Biodiversity". Tem experiência na área de Agronomia, Biologia e inovação acadêmica, com ênfase em microbiologia e bioquímica do solo, ecofisiologia e bioenergética da interação planta-microrganismos e em processos de inovação acadêmica incluindo pré-incubação e aceleração. Atua nas seguintes linhas de pesquisa: 1. Bioenergética e ionoma de simbioses; 2. Biotecnologia de micorrizas; 3. Ecofisiologia da interação entre plantas e microrganismos simbiontes, 4. Biorremediação e respostas globais na fisiologia de plantas à metais no solo; 5. Bidesign de microrganismos promotores do crescimento vegetal. 6. Geração de startups e spin-offs acadêmicas com foco em pesquisas de programas de pós-graduação e graduação. É fundador e presidente de honra do Instituto Capixaba de Ciências e Administração - ICCA, membro do Movimento Capixaba pela Inovação (MCI), Representante institucional da maior iniciativa nacional de Empreendedorismo inovador que é o Programa Centelha do Governo Federal, e Presidente do Comitê de Educação da Câmara Portuguesa de Negócios no Espírito Santo (CPN-ES). Atualmente na Universidade Vila Velha (UVV), é Professor Titular, Diretor de Pesquisa e Pós-Graduação, Head do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia, e credenciado como docente permanente no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal (PPGBV). Na graduação, atua como professor da disciplina de "empreendedorismo" no Curso de Medicina e ?Microbiologia Geral? nos cursos de Ciências Biológicas e Medicina Veterinária.

## Alex Santos Coswosk

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo tendo desenvolvido atividades e seu Trabalho de Conclusão de Curso no Laboratório de Genética de Plantas e Toxicológica desta Instituição sob a orientação da Profa. Dra. Maria do Carmo Pimentel Batitucci, sobre o tema Alelopatia (relação ecofisiológica que pode ser utilizada para fins agrônômicos).

## **Amanda Azevedo Bertolazi**

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Vila Velha - UVV (2010). Mestre em Produção Vegetal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF (2013). Doutora em Produção Vegetal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF (2016). Foi aluna de iniciação científica, no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LMAB) da UVV, onde realizou pesquisas com ectomicorizas e biorremediação de solos contaminados com metais pesados visando a recuperação de áreas degradadas. Foi aluna de mestrado e doutorado, no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT) da UENF, desenvolvendo pesquisas com fungos ectomicorrízicos e sua sinalização na simbiose com plantas, através de pigmentos fúngicos como a melanina. Realizou um pós-doutorado no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos (LFBM) da UENF, na área de microrganismos promotores do crescimento vegetal (MPCV) associados a plantas transgênicas. Atualmente atua no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LMAB) da UVV, onde realiza pesquisas sobre o uso de MPCV como biofertilizantes, visando o aumento da produtividade de culturas de interesse econômico de forma sustentável. Adquiriu experiências na área de Biologia, com ênfase em Microbiologia, Fisiologia Vegetal, Bioquímica e Ecofisiologia da interação planta-microrganismo. Também possui experiência na área de inovação acadêmica através da aprovação nas 3 Fases do Programa Centelha ES (2020), participação no 7º ciclo do AIT (Academia-Industry Training) e prêmio de Terceiro Melhor Pitch, aprovação na Primeira Fase do Programa Catalisa ICT (2021), participação no Ciclo de Aceleração 2021.2 do Programa InovAtiva Brasil (Fase 1 e 2) e aprovação na primeira fase Programa Centelha ES (2022). É professora do Professora das disciplinas de Projeto Prático Avançado 1, 2 e 3, no MBA de Gestão Empresarial e Negócios da Universidade Vila Velha.

## **Ana Carolini Cavallieri Zatta**

Graduanda em Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Univesidade Federal do Espírito Santo. Foi estagiária bolsista no Programa Insitucional de Bolsa de Iniciação à Docência (PIBID) e Residência Pedagógica (RP) pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) na Escola Edna de Mattos Siqueira Gaudio no período de 2018-2020 e CEEMTI Professor Fernando Duarte Rabelo 2020-2022 respectivamente. Atualmente é professora particular da disciplina e atua como estagiária voluntária do Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica da UFES.

## **Ana Júlia Câmara Jevaux Machado**

Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo, UFES.

## **Anna Carolina Araújo Panteleão**

Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo. Colaboradora no Laboratório de Genética Vegetal e Toxicologia.



## **Beatriz Ribeiro Cordeiro Lyrio**

Licenciada e Bacharela em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Especialista em Educação e Divulgação em Ciências pelo Instituto Federal do Espírito Santo. Atualmente professora de Ciências do município da Serra, ES.

## **Felipe Miranda Crist**

Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). cursou Pós-graduação Lato sensu em Ensino e Divulgação de Ciências (EDIV) pelo Instituto Federal do Espírito Santo (IFES). Tem experiência na área de Divulgação Científica, Mutagênese, Genética. atuando principalmente nos seguintes temas: toxicity, genomic damage, median lethal dose, secondary metabolites e micronuclei.

## **Fernando Gomes Hoste**

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (2018 - licenciatura); (2019 - bacharelado). Tem experiência na área de Botânica, com ênfase em cultivo e aplicações biotecnológicas de biomassa microalgal.

## **Hildegardo Seibert França**

Possui graduação em Farmácia Industrial pela Universidade Federal Fluminense (2003), mestrado em Química de Produtos Naturais pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (2005) e doutorado em Química de Produtos Naturais pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (2010). Atualmente é professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (IFES). Tem experiência na área de Farmácia, com ênfase em Farmacognosia, Química de Produtos Naturais e Farmacobotânica atuando principalmente nos seguintes temas: Controle de Qualidade de Medicamentos Fitoterápicos e Drogas Vegetais, Isolamento e elucidação estrutural de substâncias de Plantas Superiores, Ensaios Biológicos.

## **Iago Meneses Canuto**

Graduação em andamento em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Brasil.

## **Irany Rodrigues Pretti**

Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (2008). Mestre em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (2012). Doutora em Biologia Vegetal pela UFES e bolsista FAPES (2018).

## **Isadora Maria Coelho Vieira**

Graduanda em Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo. Foi estagiária bolsista no Programa Institucional de Bolsa de Inicia-

ção à Docência (PIBID) e Residência Pedagógica pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Atualmente é estagiária na instituição privada Serviço Social da Indústria (SESI) e voluntária no Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica.

### **Jean Carlos Vencioneck Dutra**

Graduação em Ciências Biológicas (licenciatura e bacharelado) pela Universidade Federal do Espírito Santo (2013), mestrado em Biotecnologia pela Universidade Federal do Espírito Santo (2015) e doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (2019). Atualmente é Professor B - Biologia/Ciências - Secretaria de Estado da Educação do Espírito Santo. Principais temas de pesquisa: plantas medicinais, metabólitos secundários, mutagênese e toxicidade.

### **Judá Ben-Hur de Oliveira**

Mestrando do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo - Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica. Bacharel pela Universidade Federal do Espírito Santo (2018). Atua na área de investigação de atividades biológicas de extratos vegetais com potencial uso terapêutico.

### **Lana Bonfim da Silva**

Graduação em andamento em Ciências Biológicas. Afiliada ao laboratório de Genética Vegetal e Toxicologia na Universidade Federal do Espírito Santo, em trabalho com análises de potencial antioxidante e mutagênico de plantas medicinais, especialmente com as espécies *Aristolochia melastoma* e *Cereus jamacaru* DC. Atua como Instrutora educacional na instituição Homero Massena no ensino de biologia.

### **Larissa de Freitas Almeida**

Bacharela em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Brasil.

### **Layza Rangel Pereira**

Graduação em andamento em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Brasil.

### **Lucas Evangelista dos Santos**

Graduado em Ciências Biológicas na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) - Bacharel e Licenciatura. Mestrado em andamento em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Brasil. Estagiário e aluno de iniciação científica no Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica da mesma universidade desde maio/2019. Atualmente participa como organizador do Grupo de Estudos Naturais (GEN) na Universidade Federal do Espírito Santo.



## **Mainã Mantovanelli da Mota**

Doutora em Biologia Vegetal pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e mestre em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Possui Graduação em Ciências Biológicas pela UFES - Bacharelado (2013) e Licenciatura Plena (2015). Tem experiência nas áreas de Biologia Molecular, Bioquímica e Microbiologia, Plantas medicinais, Produtos Naturais. Atualmente é Professora - Biologia/Ciências na Secretaria de Estado da Educação do Espírito Santo.

## **Maria do Carmo Pimentel Batitucci**

Professora Titular na Universidade Federal do Espírito Santo. Atua na área de Genética, com trabalhos em Avaliação de Mutagenicidade e Antimutagenicidade de Plantas Medicinais, Mutagênese Ocupacional e Biologia Molecular de Plantas. Doutorado em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (2003), Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade Federal de Viçosa (1989), com o trabalho "Indução de aberrações cromossômicas por radiação gama em milho". Bacharel (ênfase em Genética) e Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Minas Gerais. Professor permanente do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal (UFES) e do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (UFES).

## **Maria Gabriela Pissinati Trindade**

Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal do Espírito Santo, atualmente é aluna do programa de mestrado em Biologia Vegetal pela UFES. Integrante do laboratório de Genética vegetal e toxicológica, que apresenta ênfase também em mutagênese. Participou do Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica (PIVIC) no período de julho de 2018 a julho de 2019. Ainda, participou do Programa institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), pela CNPq, de agosto de 2019 a setembro de 2020.

## **Marlonni Maurastoni Araujo**

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e Mestre em Biologia Vegetal também pela UFES. Atualmente trabalha na área de Biotecnologia aplicada ao agronegócio com ênfase no melhoramento genético. Tem interesse especial em entender como a interação entre vírus, fungos e plantas pode ser utilizada para resolver problemas ligados a produção agrícola.

## **Miriéli Bernardes Xavier**

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (2015). Mestre em Biologia Vegetal pela mesma Universidade.

## **Monique Ellen Farias Barcelos**

Possui graduação em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário de Vila Velha (2008). Especialista em Engenharia Ambiental pela Faculdades Doctum de Ensino(2011). Tem

experiência na área de Ecologia, com ênfase em Ecologia de Ecossistemas. Mestre em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo, atuando na área de Fisiologia Vegetal (Substâncias Húmicas ; Solo; Milho- *Zea Mays* L). Doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo, atuando em caracterização de fluxo de prótons via microsonda vibrátil seletiva, ação mutagênica e alelopática de extrato fitoterápico em organismos teste. Atualmente atua na área ambiental como Coordenadora de Projetos na BIOENV Monitoramento Ambiental.

### **Paula Roberta Costalonga Pereira**

Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo - Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica. Mestrado em Biologia Vegetal (2021) e bacharela e licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (2017). Atua na área de investigação de atividades biológicas de extratos vegetais com potencial uso terapêutico.

### **Sávio Bastos de Souza**

Doutor (2020) e Mestre (2016) em Produção Vegetal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Vila Velha - UVV (2013). Foi orientado pelo professor Dr. Arnaldo Rocha Façanha, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, adquirindo experiência nas áreas de Biologia, com ênfase em Bioenergética da interação planta-micro-organismo, Microbiologia, Fisiologia Vegetal, Bioquímica e Ecofisiologia da interação planta-micro-organismo. Atualmente é Pós-doutorando no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LMAB) da Universidade Vila Velha (UVV) sob supervisão do Prof. Dr. Alessandro Coutinho Ramos.

### **Sávio Cabral Lopes de Lima**

Mestrando em Ciências Biológicas, na UFES, com experiência na área de Biologia Geral, ênfase em Alelopatia, antioxidantes e mutagênese. Foi bolsista do PIBID/Capes por dois anos e meio na graduação e bolsista Capes por 2 anos no mestrado. Licenciado pela R2 Formação Pedagógica.

### **Schirley Aparecida Costalonga Moreira**

Professora voluntária do curso de Ciências biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, onde é Pós-doutoranda em Biologia Vegetal; possui doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (2017), onde avaliou a mutagenicidade, alelopatia e fitoquímica de espécies invasoras. Possui graduação em Ciências Biológicas-Bacharelado pela Universidade Federal do Espírito Santo (2006) e graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura pela Universidade Federal do Espírito Santo (2005). Mestrado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo (2009), onde desenvolveu pesquisa em Genética e Produtos Naturais, avaliando a alelopatia e mutagenicidade exercida por diferentes formas extrativas de *P. edulis*. Atualmente é Analista de Meio Ambiente e Recursos Hídricos no Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Espírito Santo. É revisora de periódicos indexados da área e possui experiência em ecofisiologia e genética vegetal, mutagenicidade, alelopatia, restauração ambiental e espécies invasoras.



## **Suiany Vitorino Gervásio**

Doutoranda em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo, Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal. Mestre em Biologia Vegetal, Programa de Pós Graduação da Universidade Federal do Espírito Santo. Graduada em Ciências Biológicas na Universidade Federal do Espírito Santo. Realizou Iniciação Científica (PIBIC/UFES) e estágio voluntário no Laboratório de Genética de Plantas e Toxicológica. Atuou como membro da equipe coordenadora de uma das salas da Mostra de Física e Astronomia da UFES.

## **Vanessa Silva dos Santos**

Bacharela e licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo. Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo - Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica. Atua na área de investigação de atividades biológicas de extratos de vegetais com potencial uso terapêutico: atividade antioxidante, atividade antiproliferativa, mutagênese e antimutagênese de metabólitos secundários de plantas.

## **Verbênia Andrade de Carvalho Santos**

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (2006) e Pós-Graduação em Gestão Educacional Integrada pela CESAP (2013). Atualmente é professora de ciências e biologia - Secretaria de Estado da Educação - Espírito Santo. Além disso, atua como Técnica Pedagógica na Superintendência Regional de Educação de Vila Velha no Setor de Gestão Escolar (Equipe de Planejamento e Avaliação) e como Professora Coordenadora na Rede Municipal de Vila Velha/ES. Tem experiência na área de Educação, com ênfase em Educação Ambiental, atuando principalmente nos seguintes temas: efluente hospitalar, antibióticos, resistência, escherichia coli e efluente doméstico.

## **Victor Nogueira da Gama Kohls**

Graduação em Ciências Biológicas - Bacharelado pela Universidade Federal do Espírito Santo (2017). Tem experiência na área de Genética, com ênfase em Mutagênese. Experiência de estágio no Laboratório de Genética, Mutagênese e Toxicologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo - UFES. Foi monitor do Programa de Iniciação Científica Júnior (Pesquisador do Futuro) - PIICJr, pela Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), no projeto Plantas Medicinais na Escola - Métodos de avaliação, estudo e utilização. Possui título de Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal do Espírito Santo - UFES (2020).

## **Vitor Siqueira Macieira**

Graduado em Letras Português - Francês pela Universidade Federal do Espírito Santo (2018); Especialista em Psicopedagogia Institucional pela Faculdade Multivix (2020). Tem experiência acadêmica na área de Letras e Psicologia, atuando principalmente nas interfaces de estudo do texto literário. No âmbito escolar, possui experiência docente, atuando principalmente na rede de ensino básica: Ensino Fundamental II (6º ao 9º) e Ensino Médio (1ª ao 3ª), tanto em escolas particulares quanto em públicas.

## **Wagner Vitor de Mattos Oliveira**

Licenciado pela Universidade Federal do Espírito Santo, na qual atuou como bolsista no Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência (Pibid) (2018 a 2020) e, posteriormente, no Programa de Residência Pedagógica (2020 a 2022). Atualmente, está se graduando em bacharelado, sob orientação da Profa. Dra. Maria do Carmo Pimentel Baticucci, na mesma instituição de ensino superior com estudo na área de Produtos Naturais.



**E**ste livro reúne as pesquisas recentes feitas pela equipe do Laboratório de Genética Vegetal e Toxicológica da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) na área de plantas medicinais, abordando suas atividades biológicas sobre sistemas vivos (alelopatia, mutagenicidade, citotoxicidade e antioxidante), bem como a importância do conhecimento tradicional associado como ferramenta educacional no estudo da sustentabilidade. Os capítulos exibem resultados de pesquisas científicas e educacionais sobre plantas utilizadas pela população do Espírito Santo e de outros estados do Brasil, todas com o objetivo de ampliar o conhecimento científico, o uso efetivo e a segurança sobre esses vegetais e seus compostos fitoquímicos.

ISBN: 978-65-80751-30-3

