



EFEITO CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DE *Crescentia cujete* L. (BIGNOCIACEAE) ATRAVÉS DO BIOTESTE *Allium cepa*

Weslaine de Almeida Macedo¹, Vanessa dos Santos de Mello², Bruna Natália Veloso dos Santos³, Lindisai Fernandes⁴, Isane Vera Karsburg²

¹Bióloga, Mestranda pelo Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta, MT – Brasil

²Docente do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Mato Grosso. Alta Floresta, MT – Brasil

³Bióloga, Mestranda pelo Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa, Estado de Minas Gerais, Campus de Viçosa, MG – Brasil

⁴Bacharel em Agronomia, Mestranda pelo Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta, MT – Brasil

¹weslaine.af@hotmail.com

Recebido em: 19/11/2018 – Aprovado em: 14/12/2018 – Publicado em: 25/12/2018
DOI: 10.18677/Agrarian_Academy_2018B7

RESUMO

Crescentia cujete L. (Bignoniaceae), conhecida popularmente como coité, é uma árvore que pode chegar até 10 metros de altura, bastante utilizada na medicina popular para tratar diarreia, dores de estômago, bronquite, tosse, asma, uretrite, dores de cabeça, hipertensão e diurética. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito citotóxico e genotóxico desta espécie sob o bioteste *Allium cepa* sob diferentes concentrações de infusão. Foi utilizada 0,45; 0,90 e 1,35 gramas/L de folhas de *Crescentia cujete* L. para a preparação dos chás, os mesmos ficaram em repouso sob infusão por 10 minutos e resfriado a temperatura ambiente. Além destes tratamentos ainda foi utilizado o controle (água destilada). Após 24, 48 e 72 horas de exposição dos meristemas radiculares de *Allium cepa* nas soluções de infusão, foram coletadas e fixadas em solução fixadora (3:1, metanol:ácido acético) e, posteriormente, acondicionadas em refrigeração a 5 °C. Foram realizadas 10 lâminas de cada tratamento e avaliadas 300 células por lâmina. A análise das células realizada em microscópio óptico sob magnitude de 400x, sob a técnica de varredura. O tratamento que obteve maior índice mitótico foi a concentração de 0,5 g no tempo de 24 horas, conforme aumentaram as concentrações e tempo de exposição foi reduzindo o índice mitótico. Conclui-se então que o chá sob infusão de *C. cujete* quando utilizado de forma inadequada pode trazer danos à saúde.

PALAVRAS-CHAVE: Coité, Efeito antiproliferativo, Índice mitótico.

CITOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECT OF *Crescentia cujete* L. (BIGNOCIACEAE) THROUGH THE BIOTESTE *Allium cepa*

ABSTRACT

Crescentia cujete L. (Bignoniaceae), commonly known as coité, is a tree that can reach up to 10 meters high, widely used in folk medicine to treat diarrhea, stomach cramps, bronchitis, cough, asthma, urethritis, headaches, hypertension and diuretics. The objective of this study was to evaluate the cytotoxic and genotoxic effect of this species under the biotype *Allium cepa* under different infusion concentrations. 0.45 was used; 0.90 and 1.35 grams / L of *Crescentia cujete* L. leaves were prepared for tea preparation, resting under infusion for ten minutes and cooled to room temperature. In addition to these treatments the control (distilled water) was still used. After 24, 48 and 72 hours of exposure of the *Allium cepa* root meristems in the infusion solutions, they were collected and fixed in fixative solution (3: 1, methanol: acetic acid) and then conditioned in refrigeration at 5 °C. Ten slides of each treatment were performed and 300 cells per slide were evaluated. The analysis of the cells performed under an optical microscope under magnitude of 400x, under the scanning technique. The treatment that obtained the highest mitotic index was the concentration of 0.5 g in the time of 24 hours, conformed to increase the concentrations and time of exposure was reducing the mitotic index. It is concluded that tea under *C. cujete* infusion when used improperly can cause health damage.

KEYWORDS: Coité, Antiproliferative effect, Mitotic index.

INTRODUÇÃO

A espécie *Crescentia cujete* L., é uma planta que pertence à família Bignoniaceae, é popularmente conhecida como cajúba, coité, cuieira e cabaça. Ela é nativa da América Central, no Brasil é cultivada a partir da Amazônia para as regiões Sudeste. A árvore pode atingir de 6 a 10 metros de altura, possui copa larga e ramos longos, sendo cobertos com aglomerados de folhas e frutos do tipo cabaça. Seus frutos são redondos, com aproximadamente 25 cm de diâmetro de cor verde, possui epicarpo gelatinoso e duro, e endocarpo lenhoso é utilizado para produzir tigelas utilizadas na culinária tradicional, e a polpa do fruto, quando verde é corrosiva e quando madura é utilizada no tratamento de doenças respiratórias, enquanto que a polpa madura é tóxica, utilizada para induzir o aborto (AGUIRRE-DUGUA et al., 2017).

De acordo com a medicina popular, a polpa da fruta é utilizada para combater problemas respiratórios como asma e também é usada como laxante, a decocção é usada para tratar diarreia, dores de estômago, bronquite, tosse, asma e uretrite. A casca do fruto é indicada no tratamento de diarreias e também a decocção da casca é usada para limpar feridas. O chá (infusão de folhas) é indicado no tratamento de dores de cabeça, hipertensão e também usado como diurético e para tratar hematomas e tumores (DAS et al., 2014).

As folhas possuem diversos compostos secundários, os principais são as naftoquinonas, glicosídeos iridóides, aucubina, plumierida, e asperuloside. Contem ácido tartárico, cianídrico, ácido cítrico, ácido crescêntico, taninos, beta-sitosterol, estigmasterol, alfa e beta amirina, ácido esteárico, triacontanol, ácido palmítico, flavonoidesquercetina, apigenina, 3-hidroxiocetanol glicosídeos e phyroxybenzoiloxi glicose (KANEKO et al., 1998).

Para conhecer o nível de toxidez de determinada solução, pode se utilizar os bioindicadores vegetais, um destes é a cebola (*Allium cepa*), que segundo Fiskejé (1993), o teste de toxicidade usando *Allium cepa* como bioteste foi introduzido por Levan em 1938. Devido a alta sensibilidade quando comparado com outros organismos testes, a *A. cepa* tem se destacado como bioindicador, sendo esta favorecida por diversas características, tais como o crescimento rápido da raiz, baixo custo do bioteste, possui alta tolerância à diferentes condições de cultivo, elevado número de células em divisão, cinética de proliferação notáveis, baixo número de cromossomos, sendo estes considerados grandes, de modo que possibilita a análise ao estudar danos ou perturbações na divisão celular incluindo a avaliação dos riscos aneuplóides (BELCAVELLO et al. 2012). Sendo assim *A. cepa* se destacou entre os testes recomendados por lei para avaliar agentes genotóxicos (BECARO et al., 2017).

Sabendo-se da toxidade da polpa do fruto e dos compostos secundários presentes nas folhas de *Crescentia cujete* L., levando em consideração o uso na medicina popular, este estudo teve como objetivo conhecer o comportamento da divisão celular de *Allium cepa* exposta a diferentes concentrações obtidas de folhas frescas e tempos de exposição por meio do método indireto de modo que possa servir como informação para usuários da planta, seja para uso de chás ou até mesmo produção de fitofármacos.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta, no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais, localizado em Alta Floresta-MT.

O experimento montado utilizou a concentração de 0,45; 0,90 e 1,35 gramas/L de folhas frescas de *Crescentia cujete* L., as quais foram adquiridas no perímetro urbano de Alta Floresta-MT sob ponto de GPS S 09°51'38.9" W056°0406.5" . Após a preparação dos chás, os mesmos ficaram em repouso em infusão por 10 minutos e resfriado a temperatura ambiente. Posteriormente, foram alocados em copos descartáveis com bulbos de cebolas apresentando raízes em um tamanho ideal para o teste (cerca de 2 cm). Para a avaliação do chá e também do controle (água destilada), foram utilizadas quatro cebolas para cada tratamento.

Após o período de 24, 48 e 72 horas as raízes foram coletadas e fixadas em solução fixadora (3:1, metanol:ácido acético) e, posteriormente, acondicionadas em refrigeração para posterior análise. Para a confecção das lâminas, as raízes foram lavadas em três águas destiladas antes e depois de serem hidrolisadas em solução de HCl 1N, sendo cada lavagem com duração de 10 minutos, o mesmo tempo permanecendo no HCL 1N.

Para a análise citogenética foi empregada a técnica de esmagamento. As radículas ficaram dispostas sobre a lâmina e com o auxílio de um bisturi foi dissociada a coifa da raiz, e em seguida, sendo estas maceradas com um bastão de vidro e corada comorceína acética 2%, após este procedimento o material presente sobre a lâmina foi coberto com uma lamínula. Utilizou-se seringa plástica para retirar as bolhas que se formaram na lâmina, batendo-a de forma cuidadosa sobre o material. O excesso de corante foi retirado com papel filtro (GUERRA; SOUZA, 2002).

A observação das lâminas foi realizada em microscópio óptico em magnitude de 400x, usando a técnica de varredura, contando 300 células por lâmina, fazendo-

se 10 lâminas para cada tratamento. Para a análise de variância, os dados foram submetidos ao teste de Scoot knott a nível de 5% de significância de probabilidade, utilizando o programa estatístico computacional R (FERREIRA et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a tabela 1, pode-se observar que conforme o aumento da concentração, menor foi o índice mitótico, isso foi observado para os tempos de 24 e 48 horas, com exceção do tempo de 72 horas, tendo em vista que o tratamento de 0,45 gramas/L no tempo de 24 horas apresentou maior índice mitótico, chegando mais próximo do controle quando comparado com os demais. Isso indica que todo medicamento deve ser utilizado em dosagens e períodos adequados, caso contrário pode causar danos à saúde. Foi observado também o número de células em divisão anormal, ou seja células com presença de anomalias, notou-se que tanto no tempo de 24 e 48 horas ocorreu maior número de células anormais, já no tempo de 72 horas observou-se que foi menor tanto o número de anomalias quanto o índice mitótico, neste caso houve então uma redução de células em divisão.

TABELA 1. Número de células em interfase e mitose nas raízes emitidas a partir de bulbos de Cebola tratadas com diferentes concentrações de *Crescentia cujete*, mantidos em três diferentes tempos.

Tratamentos (g)	Tempos (Horas)	Total de células	NCI	NCDN	NCDA	IM (%)
Controle		3000	1937	1060	3	35,33a
0,45	24	3000	2536	420	44	14,00b
0,90		3000	2926	47	27	1,56d
1,35		3000	2940	59	1	1,96d
0,45		3000	2731	173	96	5,76c
0,90	48	3000	2746	189	65	6,30c
1,35		3000	2924	61	15	2,03d
0,45		3000	2766	139	95	4,63c
0,90	72	3000	3000	0	0	0,00d
1,35		3000	2795	129	76	4,30c
CV (%)						

(NCI) Números de células em interfase; (NCDN) Número de células em divisão normal e (NCDA) Número de células em divisão anormal. Médias seguidas pela mesma letra minúsculas nas colunas não diferem pelo teste de scoot knott a nível de 5% de significância.

Muitas espécies da família Bignoniaceae têm sido utilizadas na medicina popular no tratamento e cura de doenças. Esta família contém muitos componentes químicos diferentes, tais como os flavonóides, terpenóides, quinonas, mas principalmente nafthoquinonas e compostos aromáticos (WARASHIMA et al., 2006; GÓMEZ; LUIZ, 2018). Sendo que o gênero *Crescentia* está entre os membros mais importantes devido às suas propriedades medicinais.

A espécie *Crescentia alata* pertence à mesma família e mesmo gênero de *Crescentia cujete*, a qual é bastante utilizada na alimentação de ovinos e ruminantes, sendo uma prática viável em unidades de produção para fornecer fibra, energia e proteína na dieta (ROJAS, 2013). Esta espécie de frutífera tropical pode conter taninos em concentrações substanciais que pode reduzir a digestibilidade e a

ingestão voluntária e, portanto, afetar a produtividade animal. As intoxicações por plantas que são ditas medicinais são importantes causas de perdas econômicas nas diferentes regiões do Brasil, experimentos iniciais realizados, oferecendo polpa da fruta de *C. kujete* a caprinos por vários dias consecutivos relataram que esta espécie é altamente abortiva e que é uma causa esporádica de abortos em ruminantes (ASSIS et al., 2009).

Notou-se a presença de algumas anormalidades encontradas nos meristemas apicais de *Allium cepa*, ao testar a toxidez das infusões de *C. kujete*, dentre estas pode-se destacar a presença de micronúcleo na interfase (figura 1 – b), interfase com fragmento de cromatina isolada (figura 1 – c), interfase trinucleada (figura 1 – d), prófase com formação de dois blocos de cromossomos (figura 1 – e), metáfase com dois blocos de cromossomos no plano equatorial (figura 1 – f), anáfase com cromátides retardatárias e fragmento de cromatina (figura 1 – g), telófase com retardo de cromátide e presença de ponte (figura 1 – h).

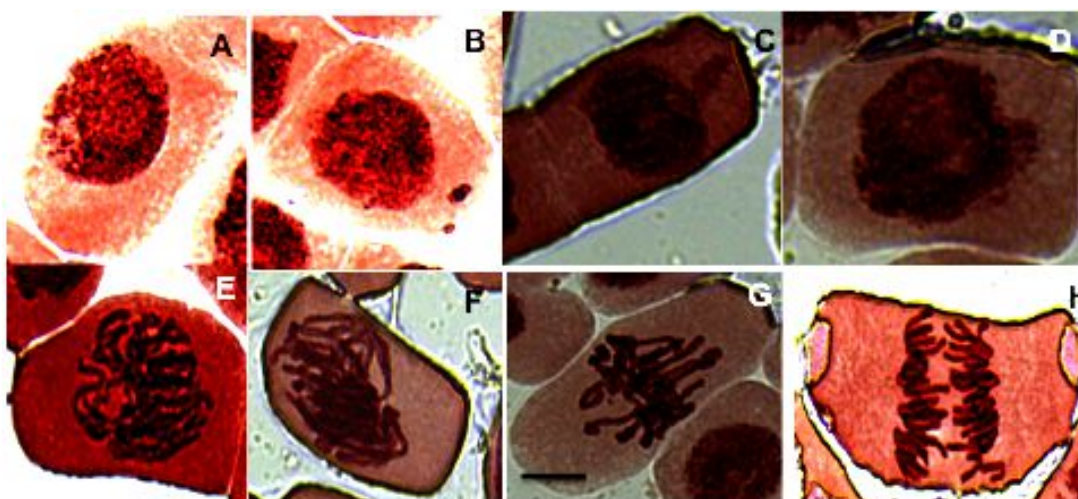


FIGURA 1- Células mitóticas de *Allium cepa* obtidas após exposição as infusões de *Crescentia kujete*. A) interfase normal b) interfase com micronúcleo c) interfase com fragmento de cromatina isolada d) interfase trinucleada e) prófase com formação de dois blocos de cromossomos f) metáfase com dois blocos de cromossomos no plano equatorial g) anáfase com cromátides retardatárias e fragmento de cromatina h) telófase com cromátide retardatária e presença de ponte. Barra = 10 μ m.

As anormalidades causadas nos tratamentos analisados podem ser explicadas por Heald e Gibeaux (2018), a proteína TPX2, uma das responsáveis pela montagem do fuso mitótico, quando não consegue realizar a montagem devido ao efeito genotóxico causado pelas infusões de *C. kujete*, fazendo com que ocorra uma diminuição do fuso, a proteína Kif2a tenta reparar o dano, caso não seja possível reverter a situação surgem então as anomalias, e a célula bloqueia o processo de divisão na anáfase, causando principalmente atrasos e quebras cromossômicas.

Já os micronúcleos, foram identificados no final do século XIX com percursores de glóbulos vermelhos. A indução de micronúcleos foi proposta como metodologia confiável para medir danos cromossômicos causados por agentes citotóxicos "in vivo". Estes são formados através de quebras cromossômicas e da disfunção do aparato mitótico, podendo ser formados a partir dos cromossomos acêntricos ou fragmentos cromatídicos e cromossomos inteiros ou cromátides que se atrasam na anáfase e que acabam expulsos do núcleo-filho na telófase (KIRALY et al., 2017).

CONCLUSÕES

Conclui-se que a espécie *Crescentia cujete* L. pode ser tóxica ao organismo humano e animal, caso consumida de maneira inadequada por dias consecutivos, pois houve presença de anomalias e baixo índice mitótico ocasionando baixa divisão celular em alguns horários de coleta e concentrações mais altas.

AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior-Brasil (CAPES) – Cod de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

AGUIRRE-DUGUA, X.; LLANDERAL-MENDOZA, J.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A.; EGUIARTE, L. E.; CASAS, A. Anthropogenic dispersion of selected germplasm creates a geographic mosaic of contrasting maternal lineages in *Crescentia cujete* from Mesoamerica. **Tree Genetics & Genomes**, v. 14, n. 2, p. 18, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11295-018-1230-8> DOI 10.1007/S11295.018-1230-p

ASSIS, T. S.; MEDEIROS, R. M.; DE ARAÚJO, J. A. S.; DANTAS, A. F.; RIET-CORREA, F. Intoxicações por plantas em ruminantes e equídeos no Sertão Paraibano Plant poisonings in ruminants and equidae in the Sertão of Paraíba, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 11, p. 919-924, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v29n11/a10v2911.pdf> DOI 10.1590/S0100-736X2009001100010

BECARO, A. A.; SIQUEIRA, M. C.; PUTI, F. C.; DE MOURA, M. R.; CORREA, D. S.; MARCONCINI, J. M.; FERREIRA, M. D. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticle/carboxymethyl cellulose on *Allium cepa*. **Environmental monitoring and assessment**, v. 189, n. 7, p. 352, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10661-017-6062-8.pdf> DOI 10.1007/s10661-017-6062-8

BELCAVELLO, L.; CUNHA, M. R. H.; ANDRADE, M. A.; BATITUCCI, M. D. C. P. Citotoxicidade e danos ao DNA induzidos pelo extrato de *Zornia diphylla*, uma planta medicinal. **Natureza on line**, v. 10, n. 3, p. 140-145, 2012. Disponível em: http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/08_BelcavelloLetalDOI140145.pdf

DAS, N.; ISLAM, M. E.; JAHAN, N.; ISLAM, M. S.; KHAN, A.; ISLAM, M. R. PARVIN, M. S. Antioxidant activities of ethanol extracts and fractions of *Crescentia cujete*

leaves and stem bark and the involvement of phenolic compounds. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 45, 2014. Disponível em: <https://bmccomplementalternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-14-45> DOI 10.1590/S0102-311X2010000100002

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. (2013). ExpDes: experimental designs package. *R package version, 1(2)*. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/ExpDes.pt/ExpDes.pt.pdf>

FISKESJÓ, G. Allium test I: a 2–3 day plant test for toxicity assessment by measuring the mean root growth of onions (*allium cepa* L.). **Environmental Toxicology and Water Quality**, v. 8, n. 4, p. 461-470, 1993. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/tox.2530080410> DOI 10.1002/tox.2530080410

GÓMEZ, O. C.; LUIZ, J. H. H. Endophytic fungi isolated from medicinal plants: future prospects of bioactive natural products from *Tabebuia/Handroanthus* endophytes. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 5, p. 1-15, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00253-018-9344-3.pdf> DOI 10.1007/s00253-018-9344-3

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. **Ribeirão Preto: FUNPEC**, p. 201, 2002.
HEALD, R.; GIBEAUX, R. Subcellular scaling: does size matter for cell division?. **Current opinion in cell biology**, v. 52, n. 52, p. 88-95, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955067417300558> DOI 10.1016/j.ceb.2018.02.009

KANEKO, T.; OHTANI, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; NGUYEN, M. D. n-Alkyl glycosides and p-hydroxybenzoxyloxy glucose from fruits of *Crescentia cujete*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 2, p. 259-263, 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942297004093> DOI 10.1016/S0031-9422(97)00409-3

KIRALY, G.; SIMONYI, A. S.; TURANI, M.; JUHASZ, I.; NAGY, G.; BANFALVI, G. Micronucleus formation during chromatin condensation and under apoptotic conditions. **Apoptosis**, v. 22, n. 2, p. 207-219, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10495-016-1316-4.pdf> DOI 10.1007/s10495-016-1316-4

ROJAS, R. **Neural networks: a systematic introduction**. Springer Science & Business Media, 2013.

WARASHINA, T.; NAGATANI, Y.; NORO, T. Constituents from the bark of *Tabebuia impetiginosa*. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 54, n. 1, p. 14-20, 2006. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb/54/1/54_1_14/_article/-char/ja DOI 10.1248/cpb.54.14

