

ESTUDO ALELOPÁTICO DO EXTRATO HEXÂNICO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Alternanthera tenella* Colla

KLEINOWSKI, Alírcia Moraes¹; SERPA, Daniel Passos¹; EINHARDT, Andersom Milech¹; CAVADA, Giovanna da Silva²; RIBEIRO, Gladis Aver², BRAGA, Eugenia Jacira Bolacel¹

¹Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas UFPel, Instituto de Biologia, Depto. Botânica.
Email: amk.bio@gmail.com

²Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da UFPel.

1. INTRODUÇÃO

Alternanthera tenella Colla, pertence à família Amaranthaceae, é conhecida popularmente como apaga-fogo, sendo sua parte aérea utilizada contra infecções bacterianas, febres, também como diurético e antiinflamatório (SALVADOR et al., 2006). Os mesmo autores identificaram na espécie flavonóides como vitexina, quercetina e canferol.

Para validação do conhecimento popular é muito importante o estudo de atividades farmacológicas com utilização de testes biológicos simples, rápidos, reprodutíveis e de baixo custo (CECHINEL; YUNES, 1998). É com este intuito, que se utilizam os testes de germinação de sementes avaliando o efeito alelopático, interação entre dois organismos, (planta medicinal-semente) onde um componente é afetado e o outro permanece estável. Esta interação pode ser fonte de descobertas para novos compostos fitotóxicos naturais com baixa toxicidade aos organismos não alvos de controle (DIAS et al., 2008).

Outro modelo experimental usualmente recomendado para verificar a potencialidade de biomoléculas vegetais com diversas aplicações inclusive como antimicrobianas é a técnica de difusão em disco, que além de ser rápida e de fácil execução, tem a vantagem de fornecer dados qualitativos de atividade antibacteriana, que servirão de caminho para a busca de um novo antibiótico funcional (NASCIMENTO et al., 2007).

Neste contexto o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos alelopáticos do extrato hexano de *A. tenella* e verificar a capacidade antibacteriana de diferentes extratos orgânicos desta planta.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Botânica/IB - UFPel e no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia/IB da UFPel.

Plantas de *A. tenella* cultivadas *in vitro* foram aclimatizadas em casa de vegetação por 90 dias, com umidade relativa em torno de 80% e temperatura controlada (18 à 23°C).

Para obtenção dos extratos, folhas e caules de apaga-fogo foram secos, pulverizados e submetidos separadamente à extração por maceração com extrato hidroalcoólico (70%) na proporção de 1:1 (m/v) durante sete dias.

Posteriormente foi realizada partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila butanol).

As frações dos extratos foram concentradas em rotaevaporador, sob pressão reduzida, até sua secura total.

O Ensaio da Alelopatia foi realizado a partir do extrato seco de hexano de folhas e caules de *A. tenella* que foram redissolvidos em água obtendo-se soluções nas concentrações de 1,0, 2,0 e 3,0 mg mL⁻¹ e água destilada como testemunho.

Os testes foram realizados em placas de petri de 9,0 cm de diâmetro, revestidas com duas folhas de papel filtro. Em cada placa foram adicionados 4,0 mL de cada extrato e semeadas 30 sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) por placa. Em seguida, estas placas foram levadas para câmaras climatizadas.

A taxa de germinação foi verificada a cada 24 horas durante sete dias possibilitando a verificação das variáveis, Primeira Contagem (PC), Germinação (G) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG), segundo Brasil (2008). Todos os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizados com quatro repetições sendo os resultados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%) e regressão polinomial com auxílio do software WINSTAT (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002).

Para avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *A. tenella* foi utilizada técnica de difusão de discos onde foi avaliada a sensibilidade de cinco cepas de referência, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

Os extratos orgânicos foram ressolubilizados em DMSO na concentração de 100 mg mL⁻¹. Os inóculos bacterianos, padronizados a concentração de 1,5.10⁸ UFC mL⁻¹ foram semeados por espalho na superfície da placa de petri contendo Ágar Mueller-Hinton. Após, discos de papel filtro estéreis de 6 mm de diâmetro embebidos dos extratos, DMSO e cloranfenicol como controle positivo foram dispostos sobre as placas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste trabalho foi observado efeito alelopático do extrato hexano de apaga-fogo sobre sementes de alface. Na primeira contagem o extrato hexano obtido do caule na concentração 3 mg mL⁻¹ teve significativa influência inibitória sobre a germinabilidade. França et al. (2008), avaliando efeito alelopático de nin (*Azadirachta indica*) em sementes de alface, também verificaram ação do extrato hexano na primeira contagem. Estes autores justificam o fracionamento do extrato, com solventes apolares, como uma alternativa na procura de moléculas que possuam efeito fitotóxico.

Na variável germinação, observou-se uma drástica diminuição do número total de sementes germinadas na concentração de 2 mg mL⁻¹ do extrato obtido do caule.

Muitas vezes o que se observa são efeitos significativos dos extratos sobre o tempo médio e a velocidade de germinação (FERREIRA; AQUILA, 2000). Neste trabalho não houve interação entre os fatores analisados, para a variável índice de velocidade de germinação, no entanto, nas duas maiores concentrações a velocidade da germinação diminuiu, afetando o vigor da semente.

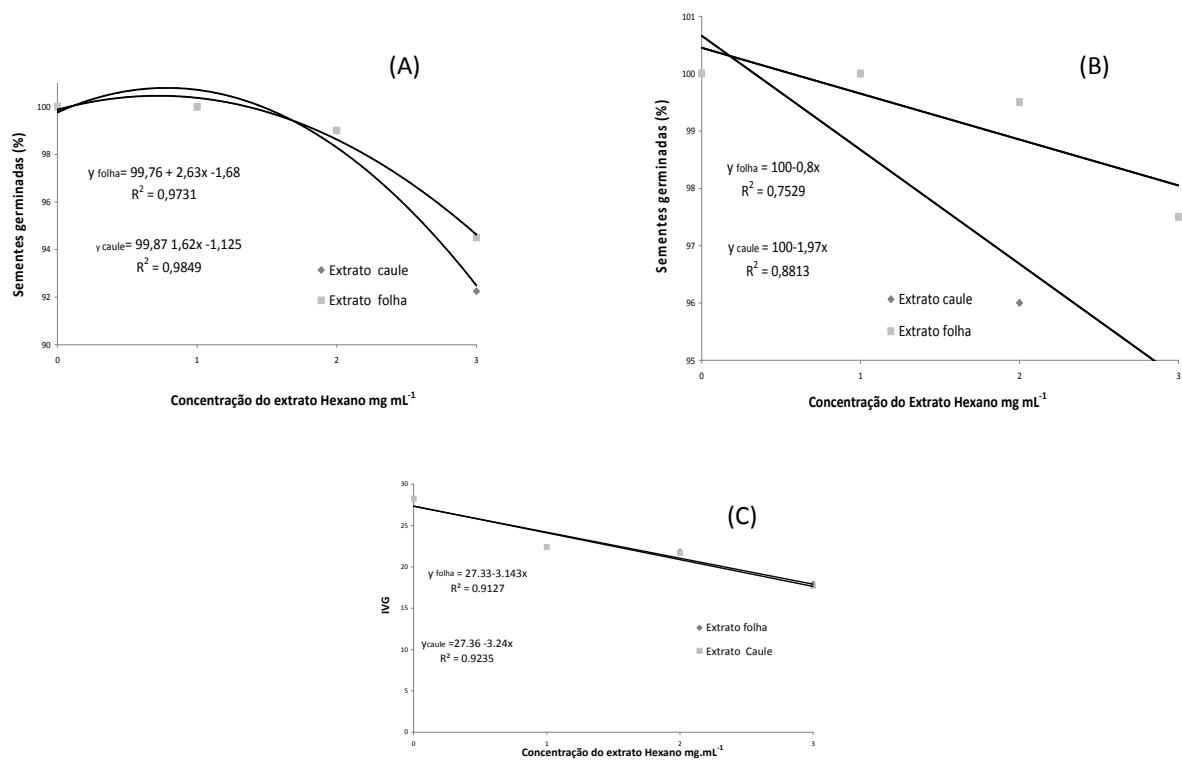


Figura 1- Primeira contagem de germinação (A), percentagem de germinação (B), índice de velocidade de germinação (C) em sementes de alfaca semeada em extrato hexano de *A. tenella*.

Atividade antibacteriana

Os resultados indicaram que o extrato hexano, tanto da folha quanto do caule, foi capaz de inibir o crescimento de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*, com formação de halo, além disso, essa última também teve seu crescimento diminuído pelo extrato diclorometano da folha. As outras frações dos extratos não tiveram ação sobre nenhuma cepa bacteriana testada (Tabela 1). Os efeitos proporcionados pelas frações mais apolares dos extratos somente nas bactérias Gram-positivas podem ser justificados pela resistência natural aos antimicrobianos dos microrganismos Gram-negativos proporcionada pela complexidade de sua parede celular.

Tabela 1- Atividade antibacteriana dos extratos orgânicos de *A. tenella* nas cepas de referência.

Extrato	Hexano		Diclorometano		Acetato de Etila		Butanólico	
	Caule	Folha	Caule	Folha	Caule	Folha	Caule	Folha
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	-	+	-	-	-	-

(+) Halo de inibição presente superior a 1 cm. (-) Halo de inibição ausente ou inferior a 1 cm.

4 CONCLUSÕES

O extrato hexano de *A. tenella* afeta o vigor e a germinabilidade das sementes de alface evidenciando o efeito alelopático desta fração, além disso, a caracterização da atividade antibacteriana desta planta sugere maiores estudos, a partir desta fonte natural.

5 REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Regras para análise de sementes** / Brasília: Mapa/ACS, 2008, 399 p.

CECHINEL, F. V.; YUNES, R. A. (1998). **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais**. Química. Nova v.21, p.99-105.

DIAS, G., ZUCOLOTO, M., CALDAS, Z. M. **Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos**. Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín, jan./jun. 2008, vol.61, n.1, p.4237-4247.

FRANÇA, A. C. et al. **Atividades alelopáticas de nim sobre o crescimento de sorgo, alface e picão-preto**. Ciênc. agrotec. 2008, v.32, n.5, p. 1374-1379.

FERREIRA, A. G. AQUILA, M. E. A. **Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia**. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.12, p.175-204, 2000.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, P. O.; JUNIOR, A. M. B.; TRINDADE, R. C. **Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos** Rev. Bras. Farmacognosia **2007**, 17, 108.

SALVADOR, M.J.; FERREIRA, E.O.; MERTENS-TALCOTT, S.U.; CASTRO, W.V.; UTTERWECK, V.; DERENDORF, H.; DIAS, D.A. **Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from Alternanthera tenella Colla**. Zeitsch. Für Naturforsch. v.61, p. 19-25, 2006.

MACHADO, A.; CONCEIÇÃO, A.R. **Programa Estatístico Winstat – Sistema de Análise Estatístico para Windows**. Versão 2.0. Pelotas: UFPEL, 2002.