

Estudo da atividade mutagênica das plantas, *Euphorbia milii* Des Moulins e *Ricinus communis* L através do teste de *Allium cepa*

Sueli A. da Silva,¹ Samuel G. Ribeiro,¹ Ana Elisa N. Bender,¹ Fabiana C. Timm,¹ Gilberto de Lima Garcias,^{1,2} Maria da Graça Martino-Roth^{*,1}

¹Centro da Ciência da Vida e da Saúde, Universidade Católica de Pelotas, Rua Félix da Cunha, 412, Centro, 96010-000 Pelotas-RS, Brasil,

²Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, s/nº, Caixa Postal 354, 96010-900, Pelotas-RS, Brasil

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a mutagenicidade e o grau de toxicidade de duas plantas tóxicas, a “mamona” (*Ricinus communis*) e a “coroa-de-cristo” (*Euphorbia milii*), utilizando infusões das sementes de mamona e o látex da coroa-de-cristo, em células meristemáticas de *Allium cepa*. Foram analisados: o índice mitótico (IM), as anomalias do ciclo mitótico (ACM), anomalias interfásicas, (AI) e o total de anomalias (TA). As soluções testes foram preparadas em três concentrações: MT1 - 0,5 g/l, MT2 - 1,0 g/l, MT3 - 2,0 g/l, e MT4 como controle. Da coroa-de-cristo extraiu-se o látex e dissolveu-se em água destilada nas concentrações CT1 - 0,5 ml/l, CT2 - 1,0 ml/l, CT3 - 2,0 ml/l, e CT4 controle. Os resultados constataram que somente a mamona aumentou a frequência de anomalias do ciclo mitótico, assim como, as anomalias interfásicas, demonstrando, dessa forma, uma ação tóxica para o material genético, através do teste de *Allium cepa*.

Unitermos: Teste de *Allium cepa*, mutagenicidade, plantas tóxicas, *Ricinus communis*, *Euphorbia milii*, Euphorbiaceae.

ABSTRACT: “Mutagenic activity study of the plants *Euphorbia milii* and *Ricinus communis* L. through the *Allium cepa* test”. The aim of this work was to evaluate the mutagenicity and the degree of toxicity of two toxic plants, “castor bean” (*Ricinus communis*) and the “crown-of-thorns” (*Euphorbia milii*), using infusions of the seeds of *Ricinus communis* and the latex of the *Euphorbia milii*, in meristematic cells of *Allium cepa*, which were analyzed: the mitotic index (IM), the interphasics anomalies (AI), the mitotic cycle anomalies (ACM), and the total of anomalies (TA). The solutions tests were prepared in three concentrations: MT1 - 0.5 g/l, MT2 - 1.0 g/l, MT3 - 2.0 g/l, and MT4 as control. From the *Euphorbia milii* the latex was extracted and was diluted in distilled water in concentrations: CT1 - 0.5 ml/l, CT2 - 1.0 ml/l, CT3 - 2.0 ml/l, and CT4 as control. The results evidenced that *Ricinus communis* increased the frequency of mitotic cycle anomalies, as well, the interphasics anomalies, demonstrating, a toxic action for the genetic material, through the test of *Allium cepa*.

Keywords: *Allium cepa* test, mutagenicity, toxic plants, *Ricinus communis*, *Euphorbia milii*, Euphorbiaceae.

INTRODUÇÃO

As plantas tóxicas, muitas das quais são ornamentais, podem ser encontradas em: jardins, parques, praças, e terrenos baldios, em forma silvestre ou cultivar. Os grupos das plantas medicinais e tóxicas ocasionalmente são tomados indistintamente, já que se tem o pressuposto de conterem princípios ativos, que dependendo da dose, podem ser benéficos ou tóxicos para o organismo. Na realidade, isto é correto, só que, o uso inadequado das plantas tem causado e segue causando sérios problemas de intoxicação ou envenenamento; muitas vezes de forma mortal, por se ingerir partes das plantas que são altamente tóxicas mesmo em baixas doses (Sanchez, 1998).

Capazes de alterar o conjunto funcional orgânico, as plantas tóxicas, mais precisamente a família das Euphorbiaceae, classificadas pelo botânico Carolus Linnaeus, sempre foram utilizadas em doses variadas, o que tem provocado reações químicas adversas como irritações, edemas, e distúrbios clínicos complexos e graves. O grau de toxicidade depende da dosagem e do indivíduo. Há substâncias altamente tóxicas que, em dosagens mínimas, entram na composição de vários remédios. E, há ainda, aquelas que só fazem efeito cumulativamente, mas a maioria entra em ação ao primeiro contato (Albuquerque, 2003).

A mamona (Figura 1) é uma planta exótica, cientificamente denominada *Ricinus communis* L., pertencente à família Euphorbiaceae, mais conhecida

como “mamoneira”, “ricínio”, “carrapateira” e “palma-Christi”, na Inglaterra e Estados Unidos, pelo nome de “castor beans” e “castor seed” (Albuquerque, 2003). Cresce espontaneamente em terrenos baldios e é responsável pela produção do óleo ecológico que está presente em mais de 500 produtos consumidos diariamente por todos nós. A mamoneira nativa é muito resistente, é encontrada em grande quantidade na Etiópia e na Índia (Machado, 2000).

Originária da Ilha de Madagascar, a coroa-de-cristo (Figura 1) é uma arbusto perene, de 0,50 m a 1,80 m de altura, muito ramificado, contém látex, com ramos angulosos, armados de numerosos espinhos de até 2,5 cm de comprimento. Das partes aéreas do vegetal foram isolados diterpenos denominados miliaminas, responsáveis pela ação irritante (Uemura & Hirata, 2001). Esse grupo de compostos foi bastante estudado em função da sua ação co-carcinogênica. Ocorrendo em várias outras espécies dessa família, principalmente no

gênero *Euphorbia* (Marston & Hecker, 2001).

Pouco se sabe a respeito da ação dessas plantas no material genético, e com base nisso o objetivo deste trabalho foi avaliar a mutagenicidade de duas plantas a mamona (*Ricinus communis*) e a coroa-de-cristo (*Euphorbia milii*), utilizando o teste de *Allium cepa*.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foi avaliado o possível efeito mutagênico de duas plantas consideradas tóxicas que são: a mamona (*Ricinus communis*) e a coroa-de-cristo (*Euphorbia milii*), através do teste de *Allium cepa*. Foram analisados: o índice mitótico (IM), as anomalias do ciclo mitótico (ACM), tais como, cromossomos perdidos e fragmentos cromossômicos em anáfase, pontes anafásicas e atrasos metafásicos. Avaliaram-se, também alterações interfásicas (AI), como células com micronúcleos (CMN), binucleadas (CBN), com núcleos

Tabela 1. Índice mitótico, alterações mitóticas, alterações interfásicas e total de alterações, encontradas em células meristemáticas de ponta de raiz de *Allium cepa*, tratadas com diferentes concentrações de mamona (*Ricinus communis*).

Tratamento	Células em Divisão	IM	Anomalias mitóticas	Anomalias interfásicas	Total de anomalias
MT1 (0,5g/L)					
(n=4.000 cél.)		41,15			
Total	1.646		67 ^a	80 ^{b,c}	147 ^{d,e}
Varição	296 - 545		6 - 37	16 - 22	26 - 53
Média	411,50		16,75	20,00	36,75
Desvio Padrão	124,68		13,89	2,83	11,59
MT2 (1,00g/L)					
(n=4.000 cél.)		21,32			
Total	853		41	41 ^{b,c}	82 ^{d,e}
Varição	19 - 324		1-27	3-17	4-33
Média	213,25		10,25	10,25	20,50
Desvio Padrão	138,93		11,81	6,80	12,23
MT3 (2,00g/L)					
(n=4.000 cél.)		35,2			
Total	1.408		102	55 ^b	157 ^d
Varição	172 - 674		5-49	5-21	12-68
Média	352,00		25,50	13,75	39,25
Desvio Padrão	223,38		22,77	7,54	29,85
MT4 (controle)					
(n=4.000 cél.)		33,27			
Total	1.331,00		10,0 ^a	1,0 ^b	11,0 ^d
Varição	277 - 425		0-9	0-1	0-11
Média	332,75		2,5	0,25	2,75
Desvio Padrão	70,59		4,36	0,50	4,85

MT₁ - 0,5g/l, MT₂ - 1,0g/l, MT₃ - 2,0g/l, sendo que MT₄ - controle. a, b, c, d, e - p < 0,05

Tabela 2. Índice mitótico, alterações mitóticas, alterações interfásicas e total de alterações, encontradas em células meristemáticas de ponta de raiz de *Allium cepa*, tratadas com diferentes concentrações de coroa-de-cristo (*Euphorbia millii*).

Tratamento	Células em Divisão	IM	Anomalias mitóticas	Anomalias interfásicas	Total de anomalias
CT1 (0,5g/L)					
(n=4.000 cél.)		18,68			
Total	747		2	27	29
Varição	97 – 260		0 - 2	1 - 21	1 - 23
Média	186,75		0,50	6,75	7,25
Desvio Padrão	75,09		1,00	9,53	10,53
CT2 (1,00g/L)					
(n=4.000 cél.)		27,25			
Total	1.090		3	11	14
Varição	166 – 376		0 - 3	0 - 9	0 - 9
Média	272,50		0,75	2,75	3,50
Desvio Padrão	86,30		1,50	4,27	4,35
CT3 (2,00g/L)					
(n=4.000 cél.)		10,60			
Total	424		9	36	45
Varição	16 – 264		0 - 8	1 - 25	2 - 33
Média	106		2,25	9,00	11,25
Desvio Padrão	109,03		3,86	10,83	14,56
CT4 (controle)					
(n=4.000 cél.)		14,35			
Total	574		0	19	19
Varição	57 – 235		0	0 - 14	0 - 14
Média	143,50		0	4,75	4,75
Desvio Padrão	88,14		0	6,60	6,60

CT₁ - 0,5ml/l, CT₂ - 1,0ml/l CT₃ - 2,0ml/l, e CT₄ - controle

ligados (CNL) e brotos nucleares (BN). Os resultados foram analisados através do teste de Mann - Whitney U (Tabela 1).

Infusões

A mamona (*Ricinus communis*) foi preparada sob a forma de infusão. As sementes frescas de mamona foram colocadas em um recipiente e imersas em água fervente, ficando cobertas por 15 min. A infusão foi então extraída e resfriada. As soluções testes das plantas foram preparadas em três concentrações: MT₁ - 0,5 g/l, MT₂ - 1,0 g/l, MT₃ - 2,0g/l, sendo que MT₄ foi o controle, com adição apenas de água potável.

A coroa-de-cristo (*Euphorbia milii*) foi preparada extraindo-se o látex e dissolvendo-o em H₂O

potável nas concentrações de CT₁ - 0,5 ml/l, CT₂ - 1,0 ml/l CT₃ - 2,0 ml/l, e CT₄ que foi o controle com H₂O.

Teste de ponta de raiz de *Allium cepa*

Os bulbos de cebola foram colocados em frascos com água aerada, a temperatura ambiente, para enraizar. Quando as raízes estavam com 0,5 cm foram colocadas nas soluções de tratamento por 48 horas, consistindo em três concentrações com quatro repetições cada. Após este período as pontas de raiz foram removidas e fixadas. Para a análise microscópica foram coradas comorceína acética a 2%.

As lâminas foram avaliadas em teste cego, usando microscópio óptico com mil vezes de aumento. Mil células foram analisadas por repetição, totalizando quatro mil células para o controle e para cada tratamento.



Figura 1. A: *Euphorbia milii* (coroa-de-cristo), B - *Ricinus communis* (mamona).

A: Fonte: Marono. Roberto, 2005, < aquabiotech@yahoo.com.br >. B: Fonte: Beltrão. Napoleão, 2005, < www.cnpa.embrapa.br >

RESULTADOS

Mamona

A utilização de sementes em infusão ocasionou deformidades no núcleo das células meristemáticas de *Allium cepa*, porém observou-se que as concentrações de mamona utilizadas não reduziram significativamente o número de células em divisão (índice mitótico) (Tabela 1).

Ao analisar os dados observados nas anomalias do ciclo mitótico, detectou-se que a menor dose (MT1 - 0,5 g/l) foi a única que diferiu do controle (MT4) ($p = 0,042$). No entanto, ao avaliar as anomalias interfásicas, observou-se que todos os tratamentos diferiram significativamente do controle e que o tratamento de

menor concentração diferiu (MT1 - 0,5 g/l) do (MT2 - 1,0 g/l). O mesmo fato ocorreu com relação ao total de anomalias. Dentre as ACM, as principais alterações foram cromossomos perdidos na metáfase, e das interfásicas, foram as células binucleadas.

Os resultados verificados neste estudo constatarem o surgimento de brotos nucleares e aumento do número de células binucleadas sugerindo um efeito mutagênico da infusão de sementes de mamona sobre as células de *Allium cepa*.

Coroa-de-Cristo

Foram utilizadas três concentrações do látex de coroa-de-cristo, nas quais foram submetidos os bulbos de *Allium cepa*, e analisadas as mesmas alterações

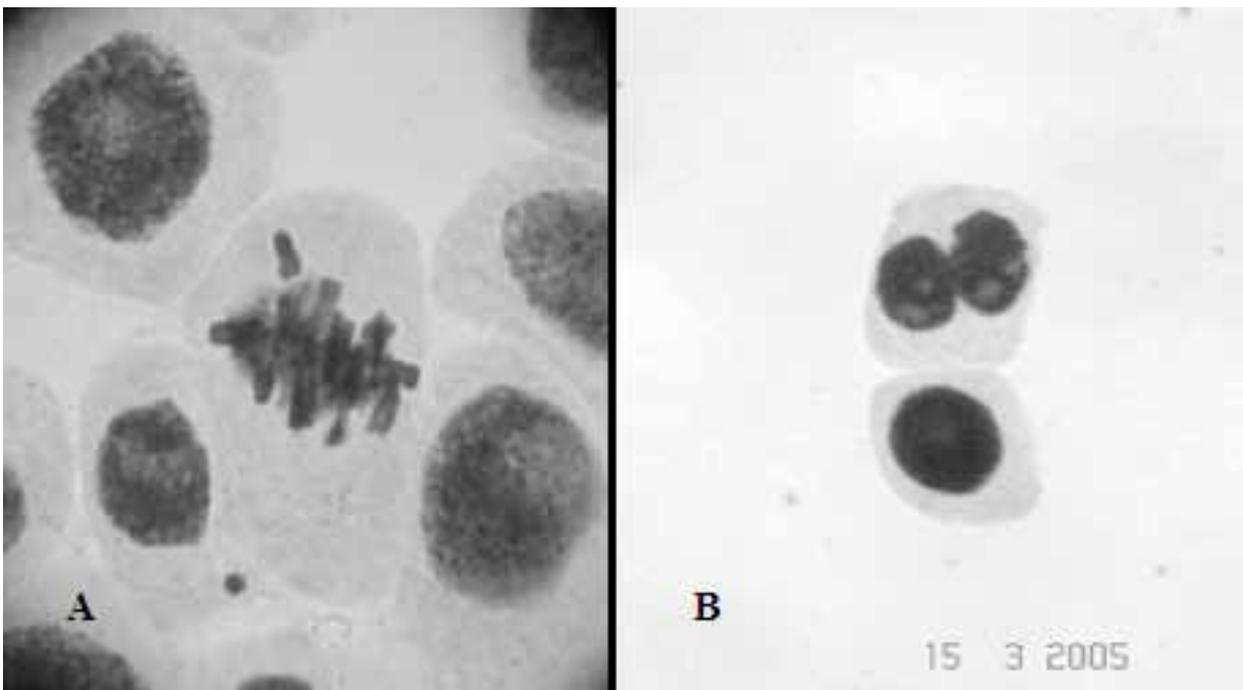


Figura 2. A: Atraso metafásico, B: Célula binucleada.

Fonte: Laboratório de Genética, Escola de Saúde, Universidade Católica de Pelotas.

avaliadas nos tratamentos de mamona.

Os dados obtidos (Tabela 2) demonstraram não haver efeito mutagênico das concentrações de látex de coroa-de-cristo sobre as células meristemáticas de *Allium cepa*, tendo em vista que não se encontrou diferença entre os três tratamentos e o controle, tanto quanto ao número de células em divisão, IM, ACM, AI e TA.

DISCUSSÃO

É de fundamental importância destacar as mortes infantis por envenenamento. O risco de morte por envenenamento é mais elevado em crianças. Durante seus primeiros seis meses de vida, as crianças dependem totalmente dos adultos para ingerir qualquer substância, mas depois dos dois anos de vida, a criança explora o meio e sua curiosidade excede sua habilidade para detectar riscos. O envenenamento em crianças pode ocorrer por ingestão acidental de drogas, medicamentos e produtos biológicos, por gases e vapores e por reações tóxicas causadas por animais venenosos e plantas tóxicas (Hijar, 1998).

No Rio Grande do Sul, estima-se que a mortalidade anual de bovinos é de 5%. Com uma população bovina de 13 milhões, essas perdas representam 650.000 bovinos mortos anualmente. Dados do Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas, de 1978 a 1998, mostraram que em média, 10,6% de todos os casos diagnosticados em bovinos foram devidas a intoxicações por plantas tóxicas. Nos ovinos essas perdas representam 7,2% (Riet-Correa & Medeiros, 2001).

A pesquisa sobre plantas tóxicas tem-se limitado, prioritariamente, à identificação das espécies e à determinação dos sinais clínicos da patologia e alguns aspectos da epidemiologia das intoxicações. Poucos esforços têm sido realizados para determinar os princípios ativos das plantas e seus mecanismos patogênicos (Riet-Correa & Medeiros, 2001).

Neste estudo, procurou-se avaliar o potencial mutagênico de duas plantas consideradas tóxicas, a mamona (*Ricinus communis*) e a coroa-de-cristo (*Euphorbia millii*). E detectou-se que a mamona aumentou a frequência de anomalias do ciclo mitótico, assim como, as anomalias interfásicas, demonstrando, dessa forma, uma ação tóxica para o material genético, através do teste de *Allium cepa*. Já a coroa-de-cristo não alterou a frequência de anomalias. E, embora seja considerada uma planta tóxica, neste trabalho, através do teste de *Allium cepa*, não se detectou nenhuma ação genotóxica.

A mamona, portanto, além de ser tóxica e poder estar envolvida em um número razoável de envenenamentos infantis e de mortes de animais, ainda pode ser considerada genotóxica, e, por conseguinte causar mutações naqueles indivíduos que a ingerirem e

sobreviverem. Contudo, salienta-se que são necessários mais testes em outros organismos para que se obtenham resultados mais conclusivos.

REFERÊNCIAS

- Albuquerque JM 2003 *Plantas suspeitas de serem tóxicas. No jardim e no campo*. Disponível em: < <http://infomidia.com.estudante> >. Acesso em: 10 jan. 2005.
- Hijar M 1998 A Mortalidad por envenenamiento en niños. *Salud Pública de México* 40: 347-353.
- Machado V 2000 Mamona petróleo verde. Uma alternativa para o Rio Grande. (Estado do Rio Grande do Sul). *Assembléia Legislativa comissão de educação, cultura, desporto, ciência e tecnologia*. Presidente Paulo Odone. Porto Alegre, 24 p.
- Marston A, Hecker E 2001. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. 3. ed. Porto Alegre. Editora Universidade. UFRGS. Ed da UFSC. p. 833.
- Riet-Correa F, Medeiros RMT 2001 Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. *Pesq Vet Bras* 21: 38-42.
- Sanchez P 2005 *Plantas Ornamentais Tóxicas. Remédios e Venenos da Toxidez a letalidade*. Site do grupo Plantamed. 1998. Disponível em: < <http://www.plantastoxicahpg.com.br> >. Acesso em: 10 jan. 2005.
- Uemura D, Hirata Y 2001. *Farmacognosia: da planta ao medicamento* 3.ed.. Porto Alegre. Editora Universidade .UFRGS.Ed. da UFSC. 1. p. 833.