

## **Avaliação citológica, genotóxica e mutagênica do infuso da espécie quebra-pedra (*Phyllanthus amarus* – Euphorbiaceae) em diferentes concentrações através do sistema *Allium cepa***

**Álef da Silva Amorim<sup>i</sup>**

**Rafael Gonzalez Frota<sup>ii</sup>**

**José Klauber Roger Carneiro<sup>iii</sup>**

**Maria Auxiliadora Silva Oliveira<sup>iv</sup>**

**Registro DOI: <http://dx.doi.org/10.22280/revintervol11ed3.394>**

### **Resumo**

*Phyllanthus amarus* é uma espécie muito usada popularmente para finalidades do tratamento do trato urinário. Objetivou-se avaliar a simulação do uso de forma inadequada do infuso (chá) da espécie a partir dos seus efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos. O modelo experimental escolhido foi o sistema *Allium cepa* por se tratar de método eficiente, sensível, rápido e de baixo custo. As concentrações testadas foram 7g (T1), 10,5g (T2), 14g (T3) e 17,5g (T4) das folhas frescas da planta em 250mL de água fervente. Como controle negativo usou-se água mineral e como positivo utilizou-se paracetamol (80mg/L). Os resultados apontam toxicidade dos extratos pela redução do crescimento radicular de *A. cepa*. Em relação aos efeitos citotóxicos observou-se um menor índice mitótico no tratamento T4 assim como uma redução de células em ciclo celular, equivalente ao controle positivo. Para os efeitos mutagênicos, foram encontradas células com aberrações diversas com o aumento da concentração do chá. Os achados reforçam a afirmação de que as plantas medicinais não estão livres de efeitos indesejáveis. Por isso devem ser consumidas com cautela.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais. Citotoxicidade. Bioindicador.

**Cytotoxic, genotoxic and mutagenic evaluation of infusion of the stone-breaker species (*Phyllanthus amarus* – Euphorbiaceae) in different concentrations through the *Allium cepa* system**

### **Abstract**

*Phyllanthus amarus* is a species popularly used for urinary tract treatment purposes. The objective of this study was to evaluate the simulation of the inappropriate use of the infusion (tea) of the species from its cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects. The experimental model chosen was the *Allium cepa* system because it was efficient, sensitive, fast and inexpensive. The concentrations tested were 7g (T1), 10.5g (T2), 14g (T3) and 17.5g (T4) of aerial parts of the plant in 250mL of boiling water. As a negative control, mineral water was used and paracetamol (80mg/L) was used as a positive control. The results indicate toxicity of extracts by reduction of root growth of *A. cepa*. In relation to the cytotoxic effects a lower

mitotic index was observed in the T4 treatment as well as a reduction of cells in the cell cycle, equivalent to the positive control. For the mutagenic effects, cells with different aberrations were found with increasing tea concentration. The findings reinforce the claim that medicinal plants are not free of undesirable effects. Therefore they should be consumed with caution.

**Keywords:** Medicinal plants. Cytotoxicity. Bioindicator.

**Recebido em 15/06/2018 Aceito em 02/10/2018**

## **1 INTRODUÇÃO**

A humanidade, há milhões de anos, vem utilizando vegetais na cura e tratamento de enfermidades. As propriedades curativas das plantas se tornaram parte da cultura popular através de anos de observação e experimentação pelos povos com diferentes culturas e etnias (SILVA; RIBEIRO; GRIPP, 2015). O documento médico mais antigo reconhecido é sumeriano e data de 4.000 anos atrás. Este documento menciona remédios à base de plantas utilizadas no tratamento de diversas doenças (MORAIS; BRAZ-FILHO, 2007).

Por outro lado, as plantas produzem substâncias químicas que, podem atuar benéficamente ou agirem de forma tóxica. São inúmeras as plantas utilizadas com finalidade terapêutica; no entanto, a maioria das espécies não foi totalmente estudada, principalmente no que diz respeito aos seus compostos com efeitos citotóxicos, mutagênicos ou genotóxicos, os quais podem gerar danos à saúde humana. Portanto, para que o homem possa fazer uso medicinal de uma espécie, com segurança, é necessário que a mesma seja estudada sob ponto de vista químico, farmacológico e toxicológico (RITTER et al., 2002).

Silva, Ribeiro, Gripp (2015) relataram que alguns chás e infusões de plantas medicinais podem conter substâncias tóxicas com efeitos mutagênicos. A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2004) define toxicidade como uma propriedade inerente à substância que causa efeitos nocivos aos organismos expostos, durante algum tempo, a uma concentração específica. Esses efeitos podem ser imobilidade, mortalidade, inibição da reprodução e redução do crescimento dos organismos teste.

De acordo com o Sistema Nacional de Informação Toxicológica (SINITOX), no ano de 2010, no Brasil, foram registrados 1.132 casos de intoxicação humana por uso de plantas sendo

que desses, 5 foram a óbito (SINITOX, 2010). Diante disso, a realização de estudos que investiguem a atividade citotóxica e genotóxicas de compostos naturais mostra-se importante a fim de se garantir uma maior segurança do uso desses produtos pela população.

Pelo fato de causarem lesões no material genético, essas substâncias são conhecidas como genotóxicas (COSTA, 2002). A exposição, por longos períodos, a substâncias com ação mutagênica pode desencadear processos como o de carcinogênese humana. Assim, testes que detectem esses compostos genotóxicos permitem identificar substâncias que ofereçam risco à saúde humana (RIBEIRO, 2003).

Para garantir a segurança dos fitoterápicos como medicamentos populares, podem ser utilizados biomarcadores que demonstrem o acometimento de danos durante o ciclo celular, devido à presença de substâncias nocivas. O sistema teste vegetal de *Allium cepa* apresenta-se como um bioindicador ideal para uma primeira avaliação da genotoxicidade de infusões de plantas medicinais, devido ao seu baixo custo e confiabilidade, auxiliando os estudos de prevenção relacionados aos danos causados à saúde humana (BAGATIN, 2007). É um teste eficaz, devido a sua elevada sensibilidade, rapidez, baixo custo, facilidade de manipulação e boa correlação com células de mamíferos (CUCHIARA; BORGES; DOBROWS, 2012).

O teste de *Allium cepa* desenvolvido, foi avaliado como um instrumento útil para a pesquisa do potencial citotóxico e genotóxico de águas contaminadas, produtos químicos, dejetos industriais e substâncias complexas como extratos de plantas (CUCHIARA; BORGES; DOBROWS, 2012). O Teste do *A. cepa* vem sendo utilizado por muitos pesquisadores, uma vez que esse ensaio utiliza um modelo que é suficientemente sensível para detectar inúmeras substâncias que causam alterações cromossômicas, além de apresentar baixo custo para a execução. Este é um adequado e eficiente modelo *in vivo*, no qual as raízes crescem em contato direto com a substância de interesse, permitindo que os possíveis danos ao DNA das células possam ser previstos (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012).

Uma planta muito utilizada pela população como medicamento natural é a quebra-pedra (*Phyllanthus amarus*). Essa é uma espécie que ocorre amplamente nas regiões tropicais, desenvolve-se em qualquer tipo de solo e pode ser encontrada em todo o território brasileiro (NASCIMENTO et al., 2005). O gênero *Phyllanthus* compreende mais de 550 espécies, das quais grande número cresce no Brasil. São conhecidas popularmente por quebra-pedra ou erva-pombinha (GARCIA et al., 2004). Ocorre semelhança entre as espécies de *Phyllanthus*, entre elas, *P. niruri* L. e *P. tenellus*, característica que dificulta a identificação. A semelhança explica

em parte o uso de ambas espécies supracitadas na medicina popular para os mesmos fins (GARCIA et al., 2004).

Quebra-pedra é utilizada frequentemente para problemas renais e de bexiga (AITA, 2009). Internamente as folhas são usadas como diuréticas, litolíticas, eupépticas, em afecções do fígado, icterícia, cólicas renais, moléstias da bexiga, retenção urinária e como auxiliar na eliminação de ácido úrico. As raízes também são utilizadas em afecções hepáticas, e os frutos, as sementes e folhas para o controle do diabetes (AITA, 2009).

Dentro desse contexto, objetivou-se no presente artigo realizar estudo da atividade citotóxica, genotóxica e mutagênica do infuso (chá) da quebra-pedra (*P. amarus*) em condições de simulação de uso em concentrações diferentes e período de utilização prolongada pelo método do sistema *Allium cepa*.

## 2 MATERIAL E MÉTODO

As plantas de quebra-pedra (*Phyllanthus amarus*) foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais no Centro de Saúde da Família do Sumaré (Sobral/CE). Os bulbos de *Allium cepa* foram obtidos em redes de supermercados da cidade, todos de mesma procedência, de aparência saudável e não germinadas. O extrato aquoso de *P. amarus* foi preparado como infusão, a partir das folhas frescas.

As bases dos bulbos (prato) das cebolas (*Allium cepa*) foram colocadas em contato direto com a infusão em recipientes a temperatura ambiente para enraizar. As capas mais externas e as raízes envelhecidas ou secas do bulbo foram retiradas para evitar o apodrecimento.

O primeiro tratamento (T1) da infusão de quebra-pedra foi baseada em uma dose usual, obtida na literatura que é de 7g das folhas em 250 mL de água fervente (13); o segundo (T2) 10,5g da planta em 250 mL de água fervente; o terceiro (T3) com 14g da planta em 250 mL de água fervente e o quarto tratamento (T4) utilizou-se 17,5g em 250 mL de água fervente. O controle negativo (CN) constou de água mineral e para o controle positivo (CP) foi utilizado o paracetamol a 80 mg/L.

Após o período de crescimento das raízes, foram retiradas para se fazer a medição do comprimento com auxílio de uma régua. Imediatamente após a coleta as raízes foram fixadas em solução fixadora de Carnoy (etanol 95% + ácido acético glacial na proporção de 3:1 v/v) por período de 24 horas a temperatura ambiente (GUERRA; SOUZA, 2002). As raízes foram

lavadas 3 vezes com água destilada por 5 minutos. Após isso, com auxílio de pinça e bisturi, foram retiradas os ápices radiculares com cerca de 1 mm, de cada raiz em cada tratamento (já fixadas) e foram fragmentados o máximo possível com bisturi.

Os fragmentos obtidos foram colocados em lâmina para coloração. Foi adicionado aos fragmentos nas lâminas duas gotas de hematoxilina de Harris a 1%, colocado a lamínula por cima, envolvidas em papel toalha para retirar o excesso do corante e esmagadas com polegar. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico, em objetiva de 40X (PIRES et al., 2001). Para cada tratamento foram utilizados 03 bulbos. Para cada bulbo foi confeccionada 01 lâmina. Em cada lâmina foram colocadas de 06 a 08 ápices radiculares. Foram feitas 08 focagens de 50 células, totalizando 400 células por lâmina, com 03 lâminas para cada tratamento, totalizando 1.200 células analisadas por tratamento.

Para a análise dos efeitos tóxicos foram medidas os comprimentos das raízes, somadas e feitas as médias simples. Para os efeitos citotóxicos, foram verificados os índices mitóticos (IM) de cada tratamento, aonde foram somadas as células em qualquer fase de divisão (prófase, metáfase, anáfase e telófase), dividindo-se pelo total de células contadas e multiplicando-se por 100 (STURBELLE et al., 2010).

Para a análise dos efeitos genotóxicos foram observados todos os tipos de aberrações cromossômicas encontradas. Já para a avaliação dos efeitos mutagênicos foram registradas a ocorrência de micronúcleos.

As variáveis analisadas foram: comprimento radicular (cm), o índice mitótico (IM), as anomalias do ciclo mitótico (ACM), como cromossomos perdidos e pontes anafásicas, aberrações cromossômicas (AC's) e as anomalias interfásicas (AI), como células com micronúcleos, células binucleadas, células com núcleos ligados e brotos nucleares (LUCIO NETO, 2011).

Para a análise de AC's foram considerados: cromossomos soltos e fragmentos cromossômicos em todas as fases do ciclo (prófase, metáfase, anáfase e telófase), além de pontes e atrasos anafásicos, sendo todos os registros reunidos em uma só categoria para possibilitar a avaliação das AC's (LUCIO NETO, 2011).

As médias obtidas dos diferentes tratamentos, para as variáveis analisadas, foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram feitas através de análise de variância de uma via (ANOVA).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do ensaio estão expostos nas tabelas que se seguem. Percebe-se na Tabela 1, avaliando o comprimento radicular, houve uma redução do crescimento, significativo, quando comparado com o controle negativo e semelhante ao comprometimento do crescimento quando comparado com o controle positivo.

**Tabela 1**– Valores das médias do crescimento radicular de *A. cepa* submetidas à diferentes infusões de *Phyllanthus amarus*.

Comprimento radicular (cm)	TRATAMENTOS					
	CN	T1	T2	T3	T4	CP
	4,23 a	1,69 b	1,25 b	0,51 b	0,41 b	0,31 b

CN: controle negativo (água mineral); T1: tratamento 1 (7g de folhas); T2: tratamento 2 (10,5g de folhas); T3: tratamento 3 (14g de folhas); T4: tratamento 4 (17,5g de folhas); CP: controle positivo (paracetamol 80mg/L. Médias seguidas de letras iguais indicam que, no nível de 5% significância, não há diferença entre as médias.

Bezerra, Dinelly, Oliveira (2016) em estudo com infuso de *Plectranthus barbatus* utilizando o teste *A. cepa*, verificaram também um comprometimento no crescimento radicular nas concentrações diferentes das usuais. Embora comparando com espécie diferente, esses achados corroboram com os resultados encontrados nesse experimento (Tabela 1), sugerindo a toxicidade de uma planta natural quando feito consumo em doses e formas diferentes daquelas recomendadas.

O índice mitótico (IM), apresentado na Tabela 2, corresponde à relação do número de células em divisão e total de células observadas, em percentagem. Para os resultados de citotoxicidade, foi observado que houve uma diminuição dos índices mitóticos para todos os tratamentos, em relação ao índice do controle negativo, cujos valores foram, de maneira geral, diferentes estatisticamente do teste controle.

**Tabela 2** – Valor do índice mitótico em meristemas de raízes de *A. cepa* tratadas com o infuso de *Phyllanthus amarus*.

Índice mitótico (%)	TRATAMENTOS					
	CN	T1	T2	T3	T4	CP
	22 a	13 b	10 bc	07 bc	06 c	02 d

CN: controle negativo (água mineral); T1: tratamento 1 (7g de folhas); T2: tratamento 2 (10,5g de folhas); T3: tratamento 3 (14g de folhas); T4: tratamento 4 (17,5g de folhas); CP: controle

positivo (paracetamol 90mg/L. Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância, não há diferença entre as médias.

Segundo Lúcio Neto (2011) essa redução no índice mitótico é resultado de ações químicas que podem inibir a síntese de DNA, reduzindo o processo de mitose. Na composição química de *P. amarus* há lignina, glicosídeos, flavonóides e propanol de fenila que são encontrados nas folhas, caule e raízes da planta. Os constituintes químicos presentes na espécie já estão bem estabelecidos, notadamente os taninos, os flavonóides, lignanas, triterpenóides, alcalóides e um alcalóidepirrolizidínico; cineol, cimol, linalol, salicilato de metila, securimina, flantiolina, ácido salicílico. Foram isolados compostos fenólicos das raízes com ácido gálico, (-)-epicatequina, (+)-galocatequina, (-)-epigalocatequina, (-)-epicatequina-3-*O*-galate e (-)-epigalocatequina- 3-*O*-galate. Das folhas e caule taninos hidrolisáveis como geranina, corilagina e galoilglicose (AITA et al., 2009).

O índice mitótico é fundamental para a avaliação da toxicidade celular de muitas substâncias, as quais permitem que haja um aumento ou diminuição desse índice, devido à citotoxicidade presente em algum composto químico. Observa-se, no presente estudo (Tabela 2) que a maior concentração do infuso de *P. amarus* em T4 (17,5g/250mL) mostrou o menor índice mitótico diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

A Tabela 3 mostra o número total de células analisadas em relação ao número observado de células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Verificou-se uma diminuição significativa no número de mitoses observadas nos tratamentos à medida que houve o aumento na concentração das infusões.

**Tabela 3** - Número de células no ciclo celular (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase) em meristemas de raízes de *A. cepa* tratadas com o infuso de *Phyllanthus amarus*.

	TRATAMENTOS					
	CN	T1	T2	T3	T4	CP
<b>Total de células</b>	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200
<b>Interfase</b>	973	1.050	1.110	1.130	1.150	1.190
<b>Prófase</b>	156	90	59	43	40	30
<b>Metáfase</b>	13	04	01	05	03	00
<b>Anáfase</b>	08	04	01	02	05	00
<b>Telófase</b>	09	10	08	07	01	00
<b>TMO</b>	186 a	108 b	69 bc	57 cd	51 de	30 e

CN: controle negativo (água mineral); T1: tratamento 1 (7g de folhas); T2: tratamento 2 (10,5g de folhas); T3: tratamento 3 (14g de folhas); T4: tratamento 4 (17,5g de folhas); CP: controle

positivo (paracetamol 90mg/L); TMO: total de mitoses observadas. Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância, não há diferença entre as médias.

Há vários estudos relatando que as plantas cianogênicas mais importantes do Brasil pertencem à família Euphorbiaceae, por apresentarem, em sua composição, cianetos tóxicos capazes de causar lesões degenerativas no cérebro, perdas de células do tálamo e também bócio. Os glicosídeos cianogênicos são substâncias presentes em vários alimentos, mas, quando ingeridas em grande quantidade, são capazes de provocar dispneia acentuada, taquicardia e até levar à morte (Machado, 2008).

Os efeitos de chás, infusões ou soluções extrativas de plantas medicinais deve ser monitorado utilizando ensaios toxicológicos, destacando-se os genotóxicos e/ou mutagênicos, objetivando orientar os usuários sobre possíveis consequências para a saúde. Os usuários de produtos naturais estão frequentemente expostos a uma mistura complexa de substâncias, que podem ser mutagênicas e/ou genotóxicas, constituintes dos produtos ou decorrentes do próprio metabolismo. Este coletivo de substâncias podem causar danos genéticos e, conseqüentemente, resultar em malefícios sobre a saúde dos usuários. A investigação do potencial mutagênico das plantas é tanto importante para a produção de novas drogas terapêuticas quanto para o estabelecimento de medidas de segurança para adequação de seu uso, estabelecendo assim, normas cabíveis de controle e de qualidade para um dado produto (PERON, 2008).

O processo de divisão celular pode ser alterado conforme a produção de alguns compostos, devido aos efeitos alelopáticos, que não agem sobre a germinação, mas sobre a velocidade de germinação. Esse efeito pode inibir ou estimular o processo germinativo e de divisão celular, assim como interferir no processo germinativo de outras plantas (FERNANDES et al., 2008).

Na Tabela 4 foram quantificadas as alterações cromossômicas durante a divisão celular como micronúcleo; metáfase desorganizada; prófase desorganizada; célula binucleada; anáfase irregular e cromossomo solto. O tratamento T3, com a maior concentração do infuso de *P. amarus* (14g/250mL) apresentou o maior índice de aberrações cromossômicas significante em relação ao controle negativo embora não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

**Tabela 4** – Número de aberrações cromossômicas em meristemas de raízes de *A. cepa* tratadas com o infuso de *Phyllanthus amarus*.

---

**TRATAMENTOS**

---

<b>Aberrações cromossômicas</b>	<b>CN</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>CP</b>
<b>Anáfase irregular</b>	00	04	03	04	00
<b>Cromossomos soltos</b>	00	04	10	15	00
<b>Micronúcleos</b>	00	00	02	03	02
<b>Células binucleadas</b>	00	03	01	00	02
<b>Metáfase desorganizada</b>	00	00	02	00	00
<b>Prófase desorganizada</b>	00	00	02	01	00
<b>Total</b>	00 a	11b	20 b	23 b	04 b

CN: controle negativo (água mineral); T1: tratamento 1 (7g de folhas); T2: tratamento 2 (10,5g de folhas); T3: tratamento 3 (14g de folhas); T4: tratamento 4 (17,5g de folhas); CP: controle positivo (paracetamol 90mg/L). Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância, não há diferença entre as médias.

As alterações no ciclo mitótico observadas na Tabela 4 alerta sobre o consumo indevido da *P. amarus*, pois houve danos celulares significativos, revelados a partir das aberrações observadas. Os danos podem afetar processos como a duplicação e a transcrição gênica, bem como alterações cromossômicas, levando a processos cancerosos e morte celular. O estudo do potencial mutagênico das plantas medicinais é muito importante como fonte de pesquisa de novas drogas terapêuticas e como medida de segurança para o uso popular, estabelecendo medidas de controle no uso indiscriminado (LOUVATEL et al., 2014). Isso evidencia que os chás e infusões de plantas medicinais podem conter substâncias tóxicas com efeitos mutagênicos.

Segundo Paula et al. (2015), agentes genotóxicos e mutagênicos induzem alterações na molécula de DNA, podendo levar a um comprometimento das gerações futuras, pela característica de herdabilidade que apresentam, além de promover efeitos imediatos como o comprometimento da saúde dos organismos expostos.

A vulnerabilidade do DNA às mutações causadas pelo ambiente propiciou o crescimento do número de estudos sobre alterações e lesões induzidas por substâncias, e sobre os prováveis causadores das mesmas. É natural que os seres vivos sofram mutações, que podem ser resultado de interação com o ambiente ou de reações celulares, essas chamadas de mutações espontâneas. Porém, a constância da ocorrência dessas mutações pode ser aumentada pela exposição a determinados compostos, os chamados agentes mutagênicos, que causam as mutações induzidas (DUSMANET, 2012).

#### 4 CONCLUSÕES

O presente estudo sustenta as seguintes conclusões:

- O presente estudo demonstrou que as diferentes concentrações de *Phyllanthus amarus* sobre o ciclo celular do sistema vegetal *Allium cepa*, apresenta uma atividade tóxica pela inibição do comprimento e pela diminuição do ciclo celular das raízes.
- Observou-se que a *Phyllanthus amarus* apresenta atividade citotóxica, devido a redução do índice mitótico, em todas as concentrações, conforme o aumento da concentração das infusões.
- Na avaliação genotóxica, as duas maiores concentrações do infuso mostraram-se como indutora de genotoxicidade através do aumento da frequência de aberrações cromossômicas.
- O presente estudo reforçou a afirmação de que as plantas medicinais não estão livres de efeitos indesejáveis. Por isso devem ser consumidas com cautela. No entanto, é necessário realizar outros trabalhos para avaliação da *Phyllanthus amarus* em concentrações menores, para assim se estabelecer quais são as concentrações seguras de utilização do seu extrato.

#### Referências Bibliográficas

AITA, A.M. et al. Espécies medicinais comercializadas como “quebra-pedras” em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira Farmacognosia**. Vol 19, n.2, p471-477, 2009.

BAGATINI, M. et al. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira Farmacognosia**. vol. 17, n. 3, p.444-447, 2007.

BEZERRA, C.M.; DINELLY, C.M.N.; OLIVEIRA, M.A.S. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso de malva-santa *Plectranthus barbatus* (Lamiaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Electronic Journal Pharmacy**. Vol. 13, n.3, p.220-228, 2016.

COSTA, M.C.C.D. **Aspectos farmacológicos de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae): atividades antimicrobiana, citotóxica e antitumoral**. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Recife (PE), Universidade Federal de Pernambuco, 2002.

CUCHIARA, C.C.; BORGES, C.S.; BOBROWSKI, V.L. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. **Tecnologia Ciência Agropecuária**. Vol 6, p. 33-38, 2012.

DÜSMAN, E. et al. Principais agentes mutagênicos e carcinogênicos de exposição humana. SaBios: **Revista de Saúde e Biologia**. Vol 7, n.2, p.66-81, 2012.

FERNANDES, J.F.N.; SILVA, B.S.S.; FONTES, R.M.S.; CÂNDIDO, W.P.; MALAVASI, N.V. Avaliação do potencial citotóxico e mutagênico/genotóxico do látex de janaúba (*Synadenium grantii* Hook. f., Euphorbiaceae). **Revista Pan-Amazonica de Saude**. Vol. 9, n.1, p.59-65, 2018.

GARCIA, C.M.. et al. Estudo Morfo-Anatômico de *Phyllanthus niruru* L. e *Phyllanthus tenellus* Roxb. *Acta Farmacêutica Bonaerense*. vol 23 ,n.1 ,p.67-70, 2004.

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo: Funpec, 2002.

LOUVATEL, K. et al. Avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade dos extratos de *Stachys byzantina* C. Koch. (pulmonária) e *Tropaeolum majus* L. (capuchinha), utilizando o sistema teste *Allium cepa*. **Unoesc & Ciência**. Edição Especial, p.29-34, 2014.

LUCIO NETO, M.P. **Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênci**a do composto **3-(2-cloro-6-fluorobenzil)-imidazolidina-2, 4-diona em células eucariotas**. 2011. 120 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Piauí, 2011.

MACHADO, A.A. **Caracterização fitoquímica e avaliação da citotoxicidade de *Synadenium carinatum* Boiss (Euphorbiaceae)**. Dissertação. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná, Departamento de Farmácia; 2008. 78 p.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 3. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária/Edições UFC, 2007.

MOAIS, S.M.; BRAZ-FILHO. **Produtos naturais estudos químicos e biológicos**. Fortaleza UECE 2007.

NASCIMENTO, V.T. et al. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife – PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus ssp*), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart) e camomila (*Matricaria recutita* L.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. vol. 7, n.3, p.56-64, 2005.

PIRES, N.M.; SOUZA, I.R.P.; PRATES, H.T.; FARIA, T.C.L.; PEREIRA FILHO, I.A.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal*. Vol 13, n.1, p.55-65, 2001.

PAULA, R.P.; BUENO, S.S.S.; SCHMITT, K.F.M.; TIAGO, A.V.; ROSSI, A.A.B. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de citotoxicidade e genotixicidade em *Aristolochia elegans* Mast. **Enciclopédia Biosfera**. Vol.11, n.21, p. 2015 1749, 2015.

PERON, A.P. et al. Avaliação mutagênica das plantas medicinais *Baccharis trimera* Less. e *Solanum melongena* L., em células de medula óssea de ratos Wistar. **Revista Brasileira Biociências**. Vol. 6, n.2, p.127-130.

RITTER, M.R. et al. Plantas usadas como medicinais no município de Ipê, RS, Brasil. **Revista Brasileira Farmacognosia**. Vol 12, n.2, p.51-62, 2002.

SILVA, V.H.F. et al. Determinação do potencial genotóxico, toxicidade, índice mitótico de boldo e utilização de plantas medicinais em região rural próxima ao município de Muriaé (MG). **Revista Científica Faminas**. Vol. 11, n2, 2015.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). NBR 12713. **Ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustácea)**. Rio de Janeiro, 2004, 17 p.

RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. **Mutagênese ambiental**. Canoas: Ulbra, 2003.

SHARMA, A.K.; SHARMA, A. **Plant chromosomes: analysis, manipulation and engineering**. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1999.

STURBELLE, P.D.S.; ESTANI, R.G.; OLIVEIRA, G.R.; GARCIAS, G.L.; MARTINO-ROTH, M.G. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica de *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócito humanos binucleados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol. 20, n.3 ,p.409-415, 2010.

TEDESCO, S.B.; LAUGHINGHOUSE, H.D. Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test. In: Srivastava, J. (Ed.). **Environmental contamination**. Rijeka: InTech, p. 137-156, 2012.

---

<sup>i</sup> Graduando do curso de Medicina do Centro Universitário INTA – UNINTA.

<sup>ii</sup> Graduando do curso de Medicina do Centro Universitário INTA – UNINTA.

<sup>iii</sup> Graduação em Medicina pela Universidade Federal do Ceará; Mestrado em Clínica Médica pela Universidade Federal do Ceará; Doutorado em Cardiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<sup>iv</sup> Graduação em Biologia pela Universidade Regional do Cariri; Mestrado em Agronomia pela Universidade Federal do Ceará. E-mail para contato: ecobio@zipmail.com.br