



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Cinthia Silva dos Santos

Avaliação do potencial genotóxico e antigenotóxico do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret mediante bioensaio com *Allium cepa* L.

Petrolina
2017

CINTHIA SILVA DOS SANTOS

Avaliação do potencial genotóxico e antígenotóxico do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret mediante bioensaio com *Allium cepa* L.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco, *Campus* Ciências Agrárias, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^a. Dr^a Kyria Cilene de Andrade Bortoleti

Co-orientador: Prof^a Dr^a Adriana Valéria Sales Bispo

Petrolina

2017

Santos, Cinthia Silva

S237a Avaliação do potencial genotóxico e antigenotóxico do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret mediante bioensaio com *Allium cepa* L. / Cinthia Silva dos Santos. -- Petrolina, 2017.

xi, 44 f.: il. ; 29 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina, 2017.

Orientadora: Profª. Drª. Kyria Cilene de Andrade Bortoleti.

Referências.

1. Plantas Medicinais. 2. Jurema Preta. 3. Ensaio de Genotoxicidade. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco

CDD 581.634

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Cinthia Silva dos Santos

Avaliação do potencial genotóxico e antigenotóxico do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret mediante bioensaio com *Allium cepa* L.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 11 de outubro de 2017.

Banca Examinadora

Kyria Cilene de Andrade Bortoleti

Profª Drª Kyria Cilene de Andrade Bortoleti
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Cheila Nataly Galindo Bedor

Profª Drª Cheila Nataly Galindo Bedor
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Maria Luciana Lira de Andrade

Profª Drª Maria Luciana Lira de Andrade
Universidade Federal do Vale do São Francisco

À minha mãe, **Ivonete**, mulher batalhadora, meu exemplo.

AGRADECIMENTOS

À Deus, autor da Vida, que me guiou e me sustentou durante toda a caminhada acadêmica. E me mostrou que sem Ele, eu nada posso fazer. Toda honra e toda glória ao Senhor!

À minha mãe, minha melhor amiga, Ivonete, que independente das circunstâncias sempre fez de tudo para que eu pudesse alcançar meus objetivos, meus sonhos e me mostrou que uma mulher pode ser muito mais forte do que as pessoas podem imaginar, especialmente, quando ela é mãe. Te amo, mamis!

Ao meu esposo, Charles, por sempre me apoiar, me amar e me cuidar. Seu amor e carinho, muitas vezes, foi o escape nos momentos difíceis da vida acadêmica. Saiba que pode sempre contar comigo, assim como sei que posso contar sempre contigo. Te amo!

À minha prima, Vivi. Obrigada pelo companheirismo e apoio durante o período que estivemos juntas. Você é a irmã que escolhi!

À minha família. Obrigada a todos por sempre torcerem por mim e alegrarem-se com as minhas conquistas. Família é assim, é estar perto, mesmo quando a distância separa.

À Igreja Batista Missionária. Obrigada pelas orações e carinho de cada irmão em Cristo. Sem dúvidas, as orações de vocês me fortaleceram para que eu chegasse até aqui.

Ao meu pai, Procópio, que mesmo estando distante, sei que sempre torceu por mim.

À minha orientadora, Kyria Cilene de Andrade Bortoleti. Obrigada por me direcionar no meu trabalho, pela atenção e cuidado e por ser um exemplo para mim de uma mulher “multitarefa” que exerce cada uma delas da melhor forma.

Ao laboratório de Bioquímica do NECMOL/CEMAFAUNA. Obrigada por disponibilizarem tempo e infraestrutura para a obtenção do extrato vegetal.

A Ingrid e Elianderson. Sou grata pela disponibilidade que vocês tiveram em me ajudar na montagem deste experimento. A ajuda de vocês foi essencial!

Aos amigos do laboratório MCGmol: Palloma, Laysla, Ingrid, Ilka, Elianderson, Jayane, Araújo, Jadilson, Keylla, Deborah e Laís. Vocês tornaram o trabalho muito mais leve e agradável. Obrigada por todo o apoio e carinho de vocês, por estarem disponíveis a ajudar sempre que possível e por mostrarem que juntos podemos ir mais longe.

À minha amiga e prima, Palloma. Obrigada pelo companheirismo e pelos conselhos. Nossa relação resume-se ao que a bíblia diz: “O homem que tem muitos amigos sai perdendo; mas há amigo mais chegado do que um irmão” (Provérbios 18.24). Entramos juntas e vamos sair juntas.

Ao colegiado de Ciências Biológicas, sob à coordenação da Prof^a. Dr^a. Marcelle Almeida, bem como aos meus professores que me inspiraram e contribuíram para a minha formação.

Ao Cemafauna Caatinga, em nome da Prof^a. Patrícia Avello e do Prof^o. Luiz Cesar, por terem disponibilizado a infraestrutura necessária para a realização dos meus trabalhos científicos.

Aos meus amigos da vida, que mesmo distantes devido à correria da faculdade, mostraram que amizades verdadeiras não se enfraquecem com a distância.

RESUMO

Mimosa tenuiflora, popularmente conhecida como jurema-preta, é bastante utilizada na medicina popular do semiárido nordestino. Apresenta efeitos farmacológicos comprovados, como ação antiinflamatória, analgésica e antisséptica. Além disso, é explorada pelo potencial forrageiro, servindo de alimento para caprinos, bovinos e ovinos. Considerando a associação de malformações congênitas em animais ao uso deste vegetal e que seus efeitos adversos ainda não foram estudados, este trabalho avaliou o potencial tóxico/antitóxico, citotóxico/anticitotóxico, genotóxico/antigenotóxico e mutagênico/antimutagênico de cinco concentrações do extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* mediante a utilização do sistema-teste *Allium cepa* L. Para isso, folhas de *M. tenuiflora* foram coletadas, secas e maceradas para a obtenção de extrato aquoso. Posteriormente, o número de 1080 sementes de *A. cepa* cv. "Vale Ouro" IPA-11 foram germinadas em placas de Petri (120 sementes/tratamento), sendo submetidas à diferentes concentrações do extrato aquoso (2,5 mg/mL, 1,5 mg/mL, 1,0 mg/mL, 0,5 mg/mL e 0,25 mg/mL), ao controle negativo (água ultrapura) e aos controles positivos [MMS (metilmetano-sulfonato 4×10^{-4} Mv) e ao herbicida Trifluralina (0,84 ppm de princípio ativo), drogas de ação clastogênica e aneugênica, respectivamente] por 72h. Após esse período, vinte raízes germinadas foram coletadas, medidas, fixadas em Carnoy e utilizadas na preparação das lâminas por esmagamento seguindo o método de Feulgen para o ensaio de genotoxicidade. As raízes restantes foram transferidas para o MMS (4×10^{-4} Mv) por 24 h, com o intuito de avaliar a ação antigenotóxica do extrato, seguindo o mesmo procedimento do ensaio de genotoxicidade. Foram analisadas 5000 células/tratamento e os resultados comparados ao controle negativo utilizando teste de Kruskal-Wallis ou Tukey ($p < 0,05$). A diminuição dos Índices de Germinação (IGs) e das Variações do Comprimento Médio das Raízes (VCMRs) notada em todas as concentrações do extrato testadas, com exceção de EA 0,25 mg/mL, sugere ação tóxica para o extrato. Em relação ao Índice Mitótico (IM), Índice de Alterações Cromossômicas (IAC) e Índice de Mutagenicidade (IMut), não foram visualizadas ações citogenotóxica e mutagênica para o extrato avaliado, embora o IAC e IMut tenham sido maiores que o controle negativo. Nos ensaios de antigenotoxicidade, o extrato em estudo mostrou-se antitóxico e anticitotóxico para todas as concentrações testadas. Por sua vez, apenas a concentração EA 0,5 mg/mL apresentou-se antimutagênica. Tais ações tóxica, antitóxica e anticitotóxica do extrato aquoso de *M. tenuiflora* podem estar relacionadas aos fitoconstituintes presentes nas folhas dessa espécie, a exemplo de taninos e compostos fenólicos, os quais já foram relatados a propriedades tóxicas em extratos vegetais.

Palavras-chave: Jurema-preta. Extrato aquoso foliar. Ensaio de genotoxicidade. Ensaio de antigenotoxicidade

ABSTRACT

Mimosa tenuiflora, popularly known as jurema-preta, is widely used in folk medicine of the northeastern semi-arid region. It has proven pharmacological effects, such as anti-inflammatory, analgesic and antiseptic action. Furthermore, it is exploited by forage potential, serving as food for goats, cattle and sheep. Considering the association of congenital malformations in animals with the use of this plant and that its adverse effects has not been studied, this work evaluated the toxic/antitoxic, cytotoxic/anticytotoxic, genotoxic/antigenotoxic and mutagenic/antimutagenic potential of five concentrations of the aqueous leaf extract of *M. tenuiflora* through the use of the test system *Allium cepa* L. For this, *M. tenuiflora* leaves were collected, dried and macerated to obtain aqueous extract. Subsequently, the number of 1080 seeds of *A. cepa* cv. "Golden Valley" IPA- 11 were germinated in Petri dishes (120 seeds/treatment), being submitted to different concentrations of the aqueous extract (2,5 mg/mL, 1,5 mg/mL, 1,0 mg/mL, 0,5 mg/mL and 0,25 mg/mL), to the negative control (ultrapure water), and positive controls [MMS (methyl methanesulfonate 4×10^{-4} Mv) and the Trifluralin herbicide (0.84 ppm of active principle), drugs of clastogenic and aneugenic action, respectively] for 72h. After this period, twenty germinated roots were collected, measured, fixed in Carnoy and used in the preparation of the slides by squeezing following the Feulgen method for the genotoxicity test. The remaining roots were transferred to the MMS (4×10^{-4} Mv) for 24 h, with the aim of evaluate the antigenotoxic action of the extract, following the same procedure of the genotoxicity assay. Were analyzed 5000 cells/treatment and the results compared to CN by using Kruskal-Wallis or Tukey's test ($p < 0.05$). The decrease in germination index (GI) and root mean length variation (VCMRs) observed at all concentrations of the extract, with the exception of EA 0.25 mg / mL, suggests a toxic effect of the extract. In relation to the Mitotic Index (IM), Chromosomal Alteration Index (IAC) and Mutagenicity Index (IMut), cytogenotoxicity and mutagenic actions were not visualized for the extract evaluated, although IAC and IMut have been higher than CN. In the antigenotoxicity assays, the extract under study was antitoxic and anticytotoxic for all concentrations tested. In turn, only the concentration EA 0.5 mg / mL was antimutagenic. Such toxic, antitoxic and anticytotoxic actions of the aqueous extract of *M. tenuiflora* may be related to the phytoconstituents present in the leaves of this species, such as tannins and phenolic compounds, which have already been reported to toxic properties in plant extracts.

Keywords: Jurema-preta. Aqueous leaf extract. Genotoxicity assays. Antigenotoxicity assays.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- *Mimosa tenuiflora*- Fonte: (SIQUEIRA-FILHO, 2006).....19

Figura 2- Alterações cromossômicas observadas em células meristemáticas de *Allium cepa*, utilizadas como parâmetros de genotoxicidade e antigenotoxicidade do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora*. **A.** Perda cromossômica. **B.** Broto nuclear (cabeça de seta) e Micronúcleo (seta). **C.** Micronúcleo. **D.** Anáfase com dupla ponte cromossômica (seta) e quebra cromossômica (cabeça de seta). **E e F.** Pontes telofásicas.....31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Avaliação do teste de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em células meristemáticas de *Allium cepa* L., submetidas às diferentes concentrações do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora*.....29

Tabela 2- Avaliação do teste de antitoxicidade, anticitotoxicidade, antigenotoxicidade e antimutagenicidade em células meristemáticas de *Allium cepa* L., submetidas às diferentes concentrações do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora*.....30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Alterações cromossômicas
CEMAFAUNA	Centro de Conservação e Manejo de Fauna da Caatinga
CN	Controle Negativo
CP	Controle Positivo
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> ; Ácido desoxirribonucleico
EA	Extrato Aquoso
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
HTSA	Herbário do Trópico Semiárido
IAC	Índice de Alterações Cromossômicas
IG	Índice de Germinação
IM	Índice Mitótico
IPCS	Programa Internacional de Segurança Química
MMA	Ministério do Meio Ambiente
MMS	Metil Metano Sulfonato
MN	Micronúcleo
NECMOL	Núcleo de Ecologia Molecular
OMS	Organização Mundial da Saúde
QC	Quebra Cromossômica
TRI	Trifluralina
UNEP	<i>United Nation Environment Programme</i> ; Programa Ambiental das Nações Unidas
UNIVASF	Universidade Federal do Vale do São Francisco
USEPA	<i>US Environmental Protection Agency</i> ; Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
VCMR	Variação do Comprimento Médio da Raiz

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3. REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 A UTILIZAÇÃO DOS VEGETAIS PELA SOCIEDADE PARA FINS TERAPÊUTICOS.....	15
3.2 A CAATINGA E SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO.....	16
3.3 <i>Mimosa tenuiflora</i> (WILLD.) POIR.....	18
3.4 PROPRIEDADES GENOTÓXICAS E ANTIGENOTÓXICAS DAS PLANTAS MEDICINAIS.....	20
3.5 SISTEMA-TESTE <i>Allium cepa</i> L.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL DE <i>Mimosa tenuiflora</i>	23
4.2 OBTENÇÃO E DISSOLUÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>Mimosa tenuiflora</i>	24
4.3 BIOENSAIO COM <i>Allium cepa</i> L.....	24
4.3.1 Teste de toxicidade e antitoxicidade	26
4.3.2 Análise de citotoxicidade e anticitotoxicidade	26
4.3.3 Análise de genotoxicidade e antigenotoxicidade	26
4.3.4 Análise de mutagenicidade e antimutagenicidade	27
4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como fonte alternativa para o tratamento de doenças, denominada de fitoterapia, é uma prática bastante antiga decorrente do próprio conhecimento popular, da dificuldade de acesso das comunidades rurais às zonas urbanas, bem como ao alto custo dos medicamentos industrializados, que por vezes, inviabiliza a sua comercialização (GUPTA; BLEAKLEY; GUPTA, 2008).

Esta exploração é devido ao fato que os vegetais apresentam uma elevada quantidade de substâncias químicas em sua constituição com potencial farmacológico, quando comparado aos produtos sintéticos, ressaltando a importância de estudos investigativos sobre suas propriedades medicinais (NOVAIS et al., 2003).

Apesar dos efeitos tóxicos de alguns fitoconstituintes já terem sido relatados, é comum o uso indiscriminado pela população, que afirma que as plantas não são prejudiciais à saúde. No entanto, sabe-se que plantas medicinais e seus produtos podem possuir propriedades tóxicas, uma vez que a presença de um ou mais metabólitos secundários pode levar à interações sinérgicas, antagônicas ou influenciar na absorção de um dado composto, propiciando efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos, mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos (PAWLOWSKI et al., 2012; PING et al., 2012; RAY et al., 2013).

A Caatinga é considerada o único bioma exclusivamente brasileiro, apresentando uma grande biodiversidade, ressaltando o seu potencial biotecnológico e bioprospectivo (LEAL; TABARELI; SILVA, 2003). Em contrapartida, os estudos científicos, quanto as propriedades químicas dos seus vegetais, ainda é muito escasso. Dentre as espécies vegetais do bioma Caatinga, pode-se destacar *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret, conhecida popularmente como jurema-preta. Essa espécie é utilizada para diversos fins pela população, a exemplo de madeira, carvão e procedimentos terapêuticos, apresentando características antiinflamatórias, analgésicas, antissépticas, além de ser indicada no tratamento de lesões cutâneas e queimaduras (OLIVEIRA, 2011). Adicionalmente, a jurema-preta apresenta potencial forrageiro e é apreciada como alimento por caprinos, bovinos e ovinos, principalmente na estação seca quando não há pastagens para sua alimentação.

Apesar dessa espécie ser bastante utilizada no forrageio de animais, a mesma tem sido associada com malformações em caprinos, bovinos e ovinos no semiárido nordestino. Estudos realizados com caprinos constataram que a partir da ingestão de folhas de jurema-preta, cabras geraram fetos com malformações (PIMENTEL et al., 2007).

Tal fato gera preocupação sobre os efeitos à saúde ambiental e humana, evidenciando a necessidade da utilização de testes de genotoxicidade e mutagenicidade *in vitro* ou *in vivo*. Assim, os bioensaios genéticos tem sido bastante utilizados, a fim de avaliar o potencial tóxico, citogenotóxico e mutagênico de fitoconstituintes presentes em extratos de plantas (MALINI et al., 2010), destacando o uso do sistema-teste *Allium cepa* L. (bioensaio *in vivo*), o qual avalia a toxicidade de determinada substância mediante avaliação do crescimento radicular e dos danos causados ao DNA, observando-se a presença de alterações cromossômicas, micronúcleos e distúrbios no ciclo mitótico (LEME; MARIN-MORALES, 2009). De acordo com alguns autores, *A. cepa* apresenta boa correlação e alta sensibilidade quando comparado a outros sistemas-teste, principalmente com o de mamíferos, notando-se uma correlação de 82% em relação ao teste de carcinogenicidade em roedores. Além disso, este bioensaio tem praticamente a mesma sensibilidade do sistema-teste de algas e linfócitos humanos (FISKESJO, 1985).

Diante do exposto, sabendo da ampla utilização de jurema-preta no semiárido nordestino, o presente trabalho investigou o potencial tóxico/antitóxico, citotóxico/anticitotóxico, genotóxico/antigenotóxico e mutagênico/antimutagênico do extrato aquoso de *M. tenuiflora*, visto que as substâncias presentes na planta podem apresentar efeitos danosos à animais.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

✓ Avaliar o potencial tóxico, citogenotóxico e mutagênico do extrato aquoso foliar da espécie *Mimosa tenuiflora*, bem como seu efeito protetor em ensaios de antitoxicidade, anticitogenotoxicidade e antimutagenicidade utilizando o sistema-teste *Allium cepa* L.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

✓ Estimar o nível de toxicidade e antitoxicidade de diferentes concentrações do extrato aquoso de *M. tenuiflora* a partir do índice de germinação (IG) e da variação do comprimento médio das raízes (VCMR) de *A. cepa*;

✓ Testar o efeito citogenotóxico, mutagênico, anticitogenotóxico e antimutagênico de diferentes concentrações do extrato aquoso de *M. tenuiflora* mediante o índice mitótico (IM) e índice de alterações cromossômicas (IAC) em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*;

✓ Identificar possíveis anomalias celulares (alterações cromossômicas ou micronúcleos), a fim de inferir sobre uma possível ação clastogênica e/ou aneugênica do extrato aquoso de *M. tenuiflora*;

✓ Discutir os ensaios de genotoxicidade e antigenotoxicidade como parâmetros importantes em testes terapêuticos de extratos vegetais.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A UTILIZAÇÃO DOS VEGETAIS PELA SOCIEDADE PARA FINS TERAPÊUTICOS

O uso das plantas pelos seres humanos é observado desde os primórdios da sua existência, tendo em vista a sua utilização para o próprio benefício (GIRALDI; HANAZAKI, 2010). Esse uso dos recursos vegetais compreende a potencialidade alimentar, finalidades medicinais (BALICK; COX, 1997), cosmética (SOUZA et al., 2007), construção de casas, lenha (BORGES; PEIXOTO, 2009) e forrageio de animais.

Há muito tempo, as plantas são usadas como medicamentos. Civilizações antigas já apresentavam o hábito de utilizar produtos de origem vegetal para solucionar os problemas de saúde, bem como em práticas religiosas de cura (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010), à exemplo dos povos indígenas no Brasil. Em contrapartida, medicamentos sintéticos foram tomando espaço na sociedade, principalmente pelo mercado dos países desenvolvidos, através da divulgação de cura rápida e completa. Outrossim, a medicina tradicional ainda é bastante utilizada. De acordo com Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população dá preferência ao uso de plantas medicinais como tratamento terapêutico devido a incorporação de hábitos saudáveis pela população (TOMAZZONI; BONATO NEGRELLE; CENTA, 2006).

O uso de plantas medicinais para o tratamento de muitas doenças está associado à medicina popular de diferentes partes do mundo (ARAÚJO; LEON, 2001). As populações humanas conhecem e utilizam o potencial terapêutico dos vegetais no tratamento de diversas enfermidades. Apesar do longo tempo que se conhece o potencial curativo das plantas, apenas recentemente estas se tornaram objeto de estudo científico no que concerne às suas variadas propriedades medicinais. É estimado que das 250 a 500.000 espécies de plantas superiores existentes no planeta, apenas 1% tem sido estudadas pelo seu potencial farmacológico (MELÉNDEZ; CAPRILES, 2006). De acordo com a OMS, cerca de 60-80% da população mundial nos países em desenvolvimento, devido à pobreza e falta de acesso à medicina tradicional, dependem essencialmente de plantas para cuidar de sua saúde. Entretanto, mesmo a diversidade

genética vegetal mundial sendo bastante expressiva, poucas espécies (15 a 17%) têm sido cientificamente estudadas para a avaliação de suas qualidades, segurança e eficácia (SOARES et al., 2006).

As plantas são capazes de produzir compostos secundários e substâncias potencialmente tóxicas para sua defesa contra vírus, bactérias, fungos e animais predadores. No entanto, ensaios farmacológicos e experimentais para determinar a toxicidade dessas substâncias presentes nos vegetais são fundamentais para assegurar a sua utilização minimizando os riscos à saúde humana e animal (BEZERRA, 2008).

No Brasil, pesquisas demonstram que mais de 90% da população já fez uso de alguma planta medicinal (ABIFISA, 2017). A riqueza da diversidade vegetal brasileira contribuiu para que a utilização das plantas medicinais fosse considerada uma área estratégica para o país. Entretanto, esse uso é preocupante, visto que a maior parte da população faz uso desses recursos de maneira indiscriminada. Embora plantas medicinais não apresentem risco aparente, por se tratar de algo natural, seus efeitos podem ser bastante prejudiciais à saúde, à considerar as incipientes pesquisas e estudos sobre propriedades químicas, dosagens e efeitos de plantas medicinais (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

3.2 A CAATINGA E SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

A Caatinga representa uma das maiores e mais distintas regiões brasileiras, abrangendo uma área de aproximadamente 844.453 Km², compreendendo os estados do Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe e o norte de Minas Gerais (MMA, 2016). Sua extensão corresponde a 11% do território brasileiro e 54% do Nordeste (AMANCIO ALVES; ARAÚJO; SANTOS DO NASCIMENTO, 2009).

Sua vegetação é caracterizada por florestas arbóreas e arbustivas, formada principalmente por árvores de pequeno porte, apresentando espinhos, microfilia e algumas características xerófilas na maioria das espécies, o que pode ser explicado pelos fatores climáticos, topográficos, edáficos e a própria ação humana (AMANCIO ALVES; ARAÚJO; SANTOS DO NASCIMENTO, 2009; LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003).

Considerado como o único ecossistema exclusivamente brasileiro, esta região apresenta uma grande biodiversidade, sendo caracterizada pelo seu alto grau de endemismo florístico e particularidade dos diferentes tipos de vegetação (LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003). Ressalta-se que 380 espécies, dentre as 932 registradas, são endêmicas (FRANÇA-ROCHA et al., 2007) e, dentre estas, a maioria pertence a família Fabaceae (GIULIETTI et al., 2004).

Entretanto, a Caatinga vem sendo altamente ameaçada devido a poucas áreas de conservação, a escassez de estudos etnobotânicos na região e uma intensa deterioração ambiental provocada pelo homem, a qual vem contribuindo para o processo de desertificação, bem como para o desaparecimento de muitas espécies endêmicas (LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003).

O número de pesquisas etnobotânicas e farmacológicas voltadas às espécies vegetais ocorrentes na Caatinga ainda é escasso; entretanto, essa situação está evoluindo com a credibilidade científica frente aos costumes populares validando ou não o uso dos recursos naturais como fonte terapêutica (TOMAZZONI; BONATO NEGRELLE; CENTA, 2006). A maioria dos estudos tem focado na listagem de plantas e em indicações de uso na medicina popular, à exemplo da parte da planta a ser utilizada, modo de preparo e dosagem (ALMEIDA et al., 2006).

Este ecossistema apresenta um grande potencial biotecnológico a ser explorado para uso sustentável e bioprospecção (ARAÚJO; ALBUQUERQUE; CASTRO, 2007; MMA, 2016). Vários autores têm descrito a rica flora desta região como tendo grande potencial fitoquímico e medicinal (AGRA et al., 2007; ALBUQUERQUE et al., 2007; ALBUQUERQUE; RAMOS; MELO, 2012), sendo amplamente utilizada na medicina popular e na fabricação comercial de produtos fitoterápicos (ALBUQUERQUE et al., 2007). Dentre os vegetais, podemos destacar espécies que apresentam fins medicinais, à exemplo da aroeira [*Myracrodruon urundeuva* (Allemão) (Anacardiaceae)], o cumaru [*Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Sm. (Fabaceae)], mulungu [*Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae)] e a jurema preta [*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret (Fabaceae)] (ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010; ALBUQUERQUE; RAMOS; MELO, 2012).

Além do potencial medicinal, a Caatinga apresenta uma elevada quantidade de espécies vegetais com potencial forrageiro para os rebanhos, o que favorece a obtenção de grande parte da alimentação desses animais, através dos recursos disponíveis no próprio ecossistema. Cerca de 70% de espécies lenhosas da Caatinga compõem a dieta

de animais, como caprinos, bovinos e ovinos (ARAUJO FILHO; CARVALHO, 1998), destacando a espécie *M. tenuiflora*.

3.3 *Mimosa tenuiflora* (WILLD.) POIR

A espécie *Mimosa tenuiflora*, popularmente conhecida como jurema preta, calumbi ou jurema, pertencente à família Fabaceae e subfamília Mimosoideae. No Brasil, apresenta-se distribuída na região Nordeste, compreendendo os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe, bem como na região Sudeste, estando restrita ao estado de Minas Gerais (FLORA DO BRASIL, 2017). Nota-se que esta espécie encontra-se disseminada nas vastas áreas antropizadas do bioma Caatinga.

Esse táxon apresenta hábito arbustivo, arbóreo ou subarbustivo. É uma planta espinhenta, que alcança 4 a 6 m de altura; o tronco é moderadamente inclinado, de 20 a 30 cm de diâmetro, coberto por casca grosseira. As folhas são compostas bipinadas, com 15 a 33 pares de folíolos. Suas inflorescências subterminais são em espigas isoladas ou geminadas de 4 a 8 cm de comprimento e suas flores apresentam coloração esbranquiçada (Figura 1). Os frutos são do tipo vagem lentamente deiscente, de 2,5 a 5,0 mm de comprimento, contem de quatro a seis sementes e florescem por um período relativamente longo no ano, compreendendo os meses de setembro a janeiro (LORENZI, 2002).

A jurema-preta apresenta diversas finalidades. É utilizada na produção de madeiras, lenhas e carvão, além da sua importância ecológica, sendo considerada uma planta com potencial para ser utilizada para recuperação de áreas degradadas (FRANCO et al., 1995), no tratamento de infecções (HEINRICH et al., 1992), lesões cutâneas, queimaduras e atividade antimicrobiana (BEZERRA et al., 2009).

Em seu habitat natural, a jurema-preta tem sido explorada para produção de estacas e lenha, além de que, os caprinos, ovinos e bovinos tem nessa planta, verde ou fenada, um importante componente de suas dietas, especialmente pastejando as rebrotas mais jovens no início das chuvas, bem como as folhas e vagens secas durante o período de estiagem (PEREIRA FILHO, 2005). Entretanto, imputa-se à jurema-preta

malformação fetal em caprinos, ovinos e bovinos (encurtamento, torção e/ou flexão dos membros torácicos, genericamente artrogripose) (NÓBREGA et al., 2005), principalmente em cabras que ingeriram este vegetal como única forragem verde durante toda a gestação (PIMENTEL et al., 2007). Devido à sua importância como forrageira no semiárido nordestino, estudos sobre a *Mimosa tenuiflora* têm sido mais direcionados para seu valor nutricional, bem como ao seu caráter tóxico, fatores que interferem diretamente na produtividade animal.

Figura 1- *Mimosa tenuiflora*



Fonte: (SIQUEIRA-FILHO, 2006)

Diversos trabalhos testaram os efeitos do consumo de jurema-preta durante o período gestacional em animais. Pimentel et al. (2007) observaram malformações em 75% das crias de cabras. Por outro lado, Medeiros et al. (2008) demonstraram o efeito teratogênico de *M. tenuiflora* ao induzir malformações (fenda palatina, escoliose, esterno bífido, aplasia de esternebras, hipoplasia do osso nasal) em 84% dos filhotes de ratas

que receberam ração contendo 10% de sementes, entre o 6º e o 21º dia de gestação. Casos espontâneos de anomalias congênitas são descritos em ovinos criados extensivamente no semiárido associados ao consumo de *M. tenuiflora* (DANTAS et al., 2010). Em um outro estudo, Santos, Dantas e Correa (2012) testaram a teratogenicidade de *M. tenuiflora* em ovelhas e concluíram que além de causar malformações, a referida planta causa mortalidade embrionária e abortos.

O efeito teratogênico associado as plantas é dose-dependente; assim, o tipo e a severidade das malformações dependem da composição do princípio ativo, do estágio da gestação em que ocorre a ingestão e da quantidade do teratógeno ingerido (WELCH et al., 2011). Alcaloides esteroidais estão associados com malformações causadas por *Astragalus lentiginosus*, *Conium maculatum*, *Lupinus* spp, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana tabacum*, *Oxytropis* spp. e *Veratrum californicum* (PANTER et al., 2011). Estudos fitoquímicos em *M. tenuiflora* resultaram no isolamento de diversas classes de componentes, incluindo alcaloides, taninos, terpenoides, flavonas, catequinas leucoantocianinas, saponinas e triterpenóides (SOUZA et al., 2008).

Apesar de sua importância econômica e medicinal no semiárido nordestino, poucos estudos avaliaram os efeitos citotóxicos e genotóxicos de *M. tenuiflora*. Silva et al. (2012) avaliaram o potencial tóxico dessa planta usando teste de Ames e o teste de micronúcleo e não observaram qualquer efeito mutagênico. Entretanto, esses autores enfatizaram que outros estudos sobre a toxicidade de *M. tenuiflora* são necessários para que essa planta seja amplamente utilizada no tratamento de doenças e/ou como forrageira.

3.4 PROPRIEDADES GENOTÓXICAS E ANTIGENOTÓXICAS DAS PLANTAS MEDICINAIS

A utilização de plantas medicinais está atingindo um público cada vez maior, embora pouca informação se encontre disponível sobre os seus constituintes e os riscos que podem oferecer a saúde humana (PAVAN-FRUEHAUF, 2000). Tal fato torna-se preocupante devido ao uso medicinal indiscriminado, sem qualquer conhecimento

fitoquímico, farmacológico e toxicológico das espécies vegetais (FONSECA; PEREIRA, 2013).

A toxicidade causada pelo consumo de extratos vegetais pode ser aguda, provocando uma resposta rápida, ou crônica, onde os efeitos se manifestam em um longo período de tempo (DIAS et al., 2002). Diante disso, uma possível ação tóxica e sinérgica resultante do consumo do extrato desses vegetais pode ser considerado um problema de saúde pública.

A integração de diversas áreas de pesquisa, como a caracterização de princípios ativos, investigação farmacológica de extratos e seus constituintes químicos e transformações químicas em princípios ativos, influencia na eficácia para a descoberta de novos medicamentos (MACIEL; PINTO; VEIGA, 2002). No entanto, um dos maiores desafios para a química farmacêutica é explicar a presença de componentes ativos nos extratos vegetais dessas espécies, bem como entender o seu mecanismo de ação.

Constituintes tóxicos, tais como os alcaloides pirrolizidínicos, ácido erúico, ácido nítrico, ácido oxálico, digitálicos, flavonoides, furocumarinas, hidrazinas e as quinonas são encontrados em muitas plantas (CHITTURI; FARREL, 2000). Por exemplo, os flavonoides são encontrados em plantas superiores, como responsáveis pela coloração das flores (BRANDÃO et al., 2002); em geral, são considerados benéficos, mas estudos apontam que esses flavonoides apresentam efeitos mutagênicos (VARGAS et al., 1990).

Alguns vegetais também apresentam agentes genotóxicos que provocam danos ao DNA e assim, aumentam o aparecimento de mutações que podem estar associadas ao desenvolvimento de neoplasias (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005; SOUSA, 2008).

Por outro lado, propriedades anticarcinogênicas, antimutagênicas, antioxidantes e imunomoduladoras também estão presentes em várias classes de fitoquímicos (PUNTUREE et al., 2004). Vários compostos obtidos de plantas podem agir como agentes protetores em relação à carcinogênese humana. Esses compostos atuam bloqueando estágios de iniciação, promoção ou progressão tumoral, bem como inibindo e destruindo agentes mutagênicos fora das células, prevenindo lesões no DNA e/ou desencadeando processos tumorais causados por esses agentes (EDENHARDER; VON PETERSDORF; RAUSHEER, 1993).

3.5 SISTEMA-TESTE *Allium cepa* L.

Conforme ressaltado anteriormente, a utilização de plantas medicinais apresenta uma grande abrangência mundial, sendo frequente o seu uso na medicina popular, bem como em práticas rurais. No entanto, muitos vegetais ainda não tiveram seu potencial tóxico avaliado (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007). Tal fato, pode ser solucionado através da utilização de bioindicadores e biomarcadores.

Testes de mutagenicidade e antimutagenicidade são bastante utilizados para identificação dos efeitos danosos de uma dada substância em diferentes níveis de concentração e tempos de exposição. O uso de plantas como organismo teste tem sido indicado por diversas agências ambientais. Dentre as plantas, *Allium cepa* se mostra eficiente para ensaios de aberrações cromossômicas e testes de mutagenicidade e antimutagenicidade, pois as raízes crescem em contato direto com a substância de interesse (efluente, toxina, compostos químicos, etc.), permitindo prever possíveis danos ao DNA eucariótico (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012).

O sistema-teste *Allium cepa* L. tem sido indicado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), o Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um ensaio eficiente para análise genotóxica em diferentes tipos de amostras (GRANT, 1999; KHAN et al., 2011). Apresenta boa correlação e alta sensibilidade quando comparado a outros sistemas-teste, principalmente com o de mamíferos, notando-se uma correlação de 82% em relação ao teste de carcinogenicidade em roedores. Além disso, o sistema-teste *A. cepa* tem praticamente a mesma sensibilidade do sistema-teste de algas e linfócitos humanos (FISKESJO, 1985; LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008).

De acordo com alguns autores, a alta sensibilidade em detectar uma ampla variedade de contaminantes ambientais é devida às características próprias da espécie como a presença de cromossomos grandes, com número reduzido ($2n = 16$) e morfologia bem definida, permitindo a fácil identificação de alterações cromossômicas; apresenta um crescimento radicular rápido, grande quantidade de células em divisão, elevada tolerância a diferentes condições de cultivo, disponibilidade durante todo o ano,

baixo custo e fácil manuseio (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Este ensaio permite avaliar o potencial tóxico da substância testada, mediante avaliação do índice de germinação (IG) e crescimento radicular (VCMR); a ação citotóxica por meio do índice mitótico (IM); o potencial genotóxico, mediante estudo das alterações cromossômicas (AC), e mutagenicidade, pela presença de micronúcleos (MN) e quebras cromossômicas (QC) (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Essas alterações permitem identificar ação aneugênica dos compostos estudados, a qual compromete a disjunção dos cromossomos durante a divisão celular, e/ou clastogênica, que promove quebras no material genético.

Diante desta ampla versatilidade e aplicabilidade, o bioensaio com *A. cepa* tem sido utilizado na avaliação das características genotóxicas de extrato de plantas (AKINBORO; BAKARE, 2007; ALMEIDA et al., 2016; NEVES et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2003), fármacos (NEFIC et al., 2013; ONWUAMAH et al., 2014), herbicidas (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007), metais pesados (OLIVEIRA; SANTOS; BOEIRA, 2012), efluentes agrícolas, domésticos e industriais (PEREIRA, 2016; UKAEGBU; ODEIGAH, 2009) e monitoramento da qualidade da água (ATHANÁSIO et al., 2014).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL DE *Mimosa tenuiflora*

As folhas de *M. tenuiflora* foram coletadas no *Campus* de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) (S 09°19'35.4"; W 040°32'38.9"), município de Petrolina-PE. Exsiccatas foram preparadas e depositadas no Herbário do Trópico Semiárido (HTSA) (Embrapa Semiárido, Petrolina-PE), sob tombamento nº 6901.

No laboratório de Bioquímica, pertencente ao Núcleo de Ecologia Molecular (NECMOL)/Centro de Manejo de Fauna da Caatinga (CEMAFAUNA)/UNIVASF, as folhas coletadas foram secas em estufa a 70°C e maceradas em moinho de facas.

4.2 OBTENÇÃO E DISSOLUÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *Mimosa tenuiflora*

Na preparação do extrato bruto, cerca de 50 g das folhas trituradas foram pesadas e adicionados 500 mL de água destilada à temperatura ambiente (25 °C). O material permaneceu em agitação mecânica por 24 h. Decorrido esse período, o extrato foi triturado em liquidificador e filtrado em funil de Buchner com placa de vidro sinterizada G3, sendo, em seguida, centrifugado a 6.000 rpm por 30 min a 4 °C. O sobrenadante (extrato aquoso) foi filtrado, para a remoção de partículas em suspensão, sendo os resíduos descartados. O extrato total aquoso foi concentrado em evaporador rotativo a 45 °C e, posteriormente, seco em chapa aquecedora a 45°C. Após secagem, as amostras do extrato foliar foram dissolvidas em água ultrapura, sendo estas submetidas ao banho-maria a 60 °C por 12h, para a dissolução completa do extrato.

4.3 BIOENSAIO COM *Allium cepa* L.

O potencial genotóxico e antígenotóxico de cinco concentrações de extrato aquoso de *M. tenuiflora* (0,25 mg/mL; 0,5 mg/mL; 1,0 mg/mL; 1,5 mg/mL; 2,5 mg/mL) foi testado com o sistema teste *Allium cepa* no laboratório de Citogenética pertencente ao NECMOL/CEMAFAUNA.

Para isto, o número de 1080 sementes de cebola cv. Vale-Ouro IPA-11 foram germinadas em placas de Petri com papel de filtro umedecido com 15 mL das amostras de extrato aquoso de *M. tenuiflora* (0,25 mg/mL; 0,5 mg/mL; 1,0 mg/mL; 1,5 mg/mL; 2,5 mg/mL), água ultrapura (controle negativo para ensaios de genotoxicidade e antígenotoxicidade), água ultrapura (a ser utilizada associadamente ao MMS, no ensaio de antígenotoxicidade - controle positivo), ao herbicida Trifluralina (0,84 ppm de princípio

ativo) e o MMS (Metilmetanosulfonato, 4×10^{-4} Mv), drogas de ação aneugênica e clastogênica, respectivamente (controles positivos), sendo 120 sementes submetidas a cada tratamento dispostas em três placas de Petri (40 sementes/placa).

Após 72 h de exposição aos tratamentos, para o ensaio de genotoxicidade, o número de 20 raízes germinadas foram coletadas, medidas, fixadas em Carnoy (etanol:ácido acético; 3:1; v:v) por 6 a 8 h a TA e, posteriormente, estocadas a -20 °C até o momento de confecção das lâminas, com o intuito de avaliar os parâmetros de toxicidade [Índice de Germinação (IG) e Variação do Comprimento Médio das Raízes (VCMR)], citogenotoxicidade [Índice Mitótico (IM) e Índice de Alterações Cromossômicas (IAC)] e mutagenicidade [Frequência de Micronúcleos (Imt)].

A outra parte das raízes foi transferida para placas de Petri contendo 15 mL de MMS por 24 h para os ensaios de antigenotoxicidade. Vale ressaltar que as amostras de controle negativo foram subdivididas em dois grupos: o primeiro, as raízes germinadas foram transferidas para água ultrapura (controle negativo para o ensaio de antigenotoxicidade); o segundo, as raízes germinadas foram transferidas para o MMS (controle positivo para antigenotoxicidade).

Após 24 h de exposição ao MMS, similarmente ao ensaio de genotoxicidade, outras 20 raízes foram coletadas, medidas e fixadas em Carnoy para a preparação das lâminas, as quais contribuirão para analisar os parâmetros de antitoxicidade [Variação do Comprimento Médio das Raízes (VCMR)], anticitogenotoxicidade [Índice Mitótico (IM) e Índice de Alterações Cromossômicas (IAC)] e antimutagenicidade [Frequência de Micronúcleos (Imt)].

A preparação das lâminas ocorreu de acordo com o procedimento sugerido por Fiskejö (1985), com adaptações propostas por Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales (2007). As raízes foram retiradas do fixador, cujo excesso foi removido com o auxílio de papel filtro. Em seguida, estas raízes foram lavadas em água destilada, hidrolisadas em HCl 1N a 60 °C por 8 a 11 minutos, sendo posteriormente lavadas e coradas com Reativo de Schiff por 2 h, em local escuro. Decorrido este tempo, as raízes foram lavadas novamente em água destilada e colocadas sobre uma lâmina limpa e identificada.

Com o auxílio de um bisturi, as regiões de tecido meristemático e de células da F1 foram identificadas e dispostas sobre a lâmina para a realização da contagem celular. Para contraste celular, uma gota de carmim acético 2% foi posta sobre o material, o qual

foi recoberto com uma lamínula e ligeiramente esmagado, de modo a espalhar as células, sem comprometer a sua integridade celular. Em seguida, as lâminas foram flambadas e montadas com Entellan.

A análise das lâminas foi realizada em microscópio óptico, de modo a facilitar a identificação e contagem de anomalias celulares. O número mínimo de dez lâminas foi preparado para cada concentração de extrato testada, sendo analisadas 500 células por lâmina, totalizando uma contagem de 5000 células por tratamento.

4.3.1 Teste de toxicidade e antitoxicidade

O teste de toxicidade foi avaliado mediante o Índice de Germinação (IG) e o Valor do Comprimento Médio das Raízes (VCMR), enquanto que o teste de antitoxicidade foi realizado apenas pelo VCMR. O valor do IG é calculado pela razão entre o número de sementes germinadas e o número total de sementes expostas à germinação. Por sua vez, a VCMR foi obtida a partir do comprimento de 20 raízes, extraído-se assim a média do comprimento da raiz por tratamento.

4.3.2 Análise de citotoxicidade e anticitotoxicidade

A análise de citotoxicidade e anticitotoxicidade foi realizada pela frequência do Índice Mitótico (IM), calculado pela razão entre o número de células em divisão observado e o número total de células analisadas, multiplicado por 100.

4.3.3 Análise de genotoxicidade e antigenotoxicidade

A análise de genotoxicidade e antigenotoxicidade foi avaliada pela verificação de anormalidades cromossômicas encontradas, tais como, anáfases multipolares, pontes

cromossômicas, poliploidia, quebras e perdas cromossômicas e micronúcleos em diferentes fases da mitose (prófase, metáfase, anáfase e telófase). A frequência do citado índice (IAC) é calculada pela razão entre o número de aberrações cromossômicas observado e o número total de células analisadas, multiplicado por 100.

4.3.4 Análise de mutagenicidade e antimutagenicidade

A estimativa de mutagenicidade (IMt) foi avaliada pela frequência de micronúcleos encontrados nas células meristemáticas e F1 das raízes expostas aos tratamentos. Este índice é aferido pela razão entre o número de células com micronúcleos e o número total de células observadas, multiplicado por 100.

4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foram realizados oito tratamentos em cada uma das etapas: (1ª etapa – ensaio de genotoxicidade) cinco concentrações do extrato aquoso de *M. tenuiflora*, um controle negativo e dois positivos; e (2ª etapa – ensaio de antigenotoxicidade) cinco concentrações do extrato aquoso de *M. tenuiflora*, um controle negativo e dois positivos. O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado. Foram analisadas 20 raízes por tratamento para os testes de toxicidade e antitoxicidade e o número de 5.000 células meristemáticas por tratamento para os demais testes (500 células/lâmina; 10 lâminas/tratamento; totalizando 5.000 células).

Os valores de frequência foram transformados usando a fórmula (arcoseno $\sqrt{\%}$) e analisados por meio do programa Statistica (versão 7.0). Os testes de Shapiro-Wilk e Levene foram utilizados para verificar a distribuição normal dos dados e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Posteriormente, para os dados com distribuição normal, foi realizada a análise de variância (ANOVA one-way) seguido de um teste a posteriori de Tukey ($p < 0,05$) e, para amostras com distribuição não normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No presente trabalho, os índices de germinação (IGs) variaram de 2 a 15% nos tratamentos analisados (Tabela 1). Os menores IGs foram observados para o controle positivo MMS e a amostra do extrato aquoso (EA) 2,5 mg/mL (2%), enquanto que os maiores IGs foram notados para o controle negativo (15%), seguido da amostra EA 0,25 mg/mL (12%), sugerindo um potencial tóxico para o EA.

Por sua vez, a maioria das concentrações do EA de *Mimosa tenuiflora* apresentou toxicidade, com exceção de EA 0,25 mg/mL (0,51 cm), havendo uma redução do comprimento médio das raízes expostas ao tratamento quando comparada ao controle negativo (CN) (0,49 cm). Notou-se que quanto maior a concentração do EA, menor foi o VCMR, indicando uma toxicidade dose-dependente (Tabela 1).

Associadamente, nos testes de antitoxicidade, a VCMR apresentou valores maiores [EA 0,25 mg/mL (0,83 cm), EA 0,5 mg/mL (0,77 cm), EA 1,0 mg/mL (0,83 cm), 1,5 mg/mL (0,81 cm), 2,5 mg/mL (0,72 cm)], em comparação aos dados obtidos no experimento de genotoxicidade para todas as concentrações; entretanto, essas informações não divergiram do CN (0,81 cm), ressaltado uma ação protetora do extrato frente ao MMS (Tabela 2). Ressalta-se ainda que a maior concentração do extrato EA 2,5 mg/mL (0,72 cm) apresentou a menor VCMR em relação aos outros extratos testados (Tabela 2).

Na avaliação da citotoxicidade, o índice mitótico (IM) variou entre 9,37% (EA 0,25 mg/mL) a 11,16 % (EA 0,5 mg/mL), frente ao CN (10,18%), sugerindo a ausência de atividade citotóxica para as concentrações testadas de EA (Tabela 1). Resultados similares foram visualizados para os testes de antitoxicidade, ou seja, não foi notado aumento e/ou redução no número de células em divisão no referido teste [IM variou entre 9,12% (EA 1,5 mg/mL) e 10,79% (EA 1,0 mg/mL)], em comparação ao CN (10,39%) e aos experimentos de genotoxicidade, indicando que o EA protegeu as células durante a exposição ao MMS (Tabela 2).

Tabela 1. Avaliação do teste de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em células meristemáticas de *Allium cepa* L., submetidas às diferentes concentrações do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora*.

Parâmetros de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade					
TRATAMENTOS	IG (%)	VCMR (cm)	IM (%)	IAC (%)	IMut (%)
Água ultrapura	15	0,49±0,30	10,18±2,03	0,37±0,32	0,11±0,09
MMS	2	0,51±0,09	8,56±3,78	1,45±0,84 ^a	1,06±0,59 ^a
TRI	5	0,22±0,12 ^{ab}	6,05±3,91	0,20±0,23 ^a	0,02±0,06 ^b
EA 0,25 mg/mL	12	0,51±0,10	9,37±2,42	0,87±0,68	0,41±0,34
EA 0,5 mg/mL	3	0,29±0,05^{ab}	11,16±2,99	0,53±0,23	0,45±0,13
EA 1,0 mg/mL	6	0,27±0,06^{ab}	9,80±2,46	0,93±0,76	0,37±0,36
EA 1,5 mg/mL	6	0,21±0,03^{ab}	10,73±2,80	0,84±0,66	0,42±0,27
EA 2,5 mg/mL	2	0,16±0,06^{ab}	9,45±2,47	0,74±0,72	0,40±0,47

Legenda: MMS (Metilmetanosulfonato); TRI (Herbicida Trifluralina); EA (Extrato Aquoso); IG (Índice de Germinação); VCMR (Variação do Comprimento Médio da Raiz); IM (Índice Mitótico); IAC (Índice de Alterações Cromossômicas) e IMut (Índice de Mutagenicidade). Valores correspondentes à média ± desvio padrão; ^a.Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao controle negativo; ^b. Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao MMS. Análise realizada mediante o teste de Kruskal-Wallis, seguido de teste a posteriori de Tukey (p<0,05).

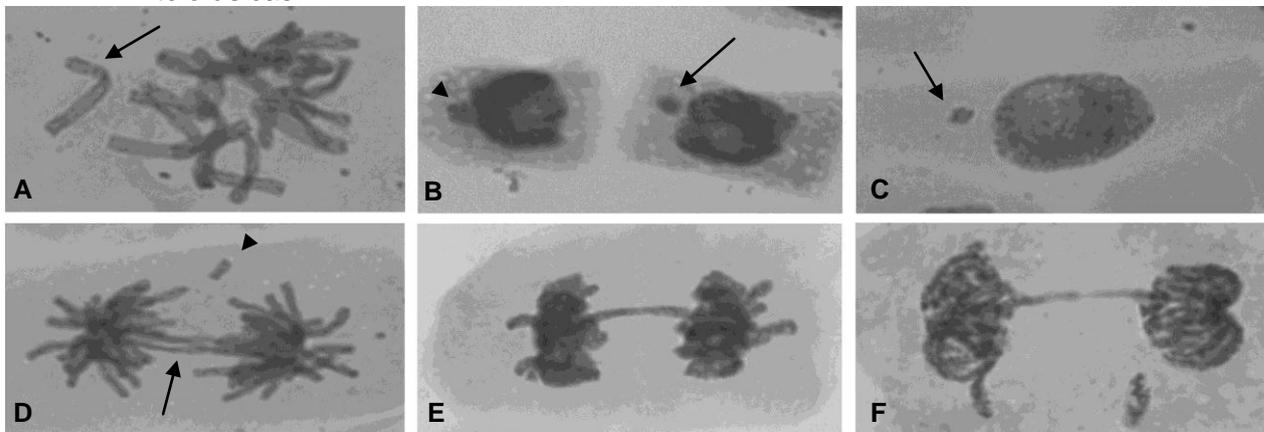
Tabela 2. Avaliação do teste de antitoxicidade, anticitotoxicidade, antigenotoxicidade e antimutagenicidade em células meristemáticas de *Allium cepa* L., submetidas às diferentes concentrações do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora*.

Parâmetros de antitoxicidade, anticitotoxicidade, antigenotoxicidade e antimutagenicidade				
TRATAMENTOS	VCMR (cm)	IM (%)	IAC (%)	IMut (%)
Água ultrapura - Água ultrapura	0,81±0,15	10,39±1,81	0,81±0,71	0,60±0,61
Água ultrapura - MMS	0,79±0,13	8,27±1,86	2,02±0,71 ^{ac}	1,41±0,62 ^{ac}
MMS – MMS	0,79±0,12	9,95±2,48	4,29±0,80 ^{ab}	3,09±0,60 ^{ab}
TRI – MMS	0,61±0,10 ^{abc}	8,28±2,15	1,54±0,72 ^c	0,88±0,58 ^c
EA 0,25 mg/mL - MMS	0,83±0,13	9,68±2,00	2,57±0,63^{ac}	1,51±0,48^{ac}
EA 0,5 mg/mL – MMS	0,77±0,14	10,26±2,02	1,98±1,39^{ac}	1,17±0,66^c
EA 1,0 mg/mL – MMS	0,83±0,12	10,79±1,91	3,27±0,89^a	1,73±0,49^{ac}
EA 1,5 mg/mL – MMS	0,81±0,13	9,12±3,74	2,01±0,81^{ac}	1,27±0,57^{ac}
EA 2,5 mg/mL – MMS	0,72±0,13	9,74±1,81	1,95±0,72^{ac}	1,41±0,58^{ac}

Legenda: MMS (Metilmetanosulfonato); TRI (Herbicida Trifluralina); EA (Extrato Aquoso); IG (Índice de Germinação); VCMR (Variação do Comprimento Médio da Raiz); IM (Índice Mitótico); IAC (Índice de Alterações Cromossômicas) e IMut (Índice de Mutagenicidade). Valores correspondentes à média ± desvio padrão; ^a. Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao controle negativo; ^b. Significativo a 5% de probabilidade em comparação a água ultrapura – MMS; ^c. Significativo a 5% de probabilidade em comparação a MMS– MMS. Análise realizada mediante o teste de Kruskal-Wallis, seguido de teste a posteriori de Tukey (p<0,05).

Em termos de atividade genotóxica, o índice de alteração cromossômica (IAC) foi maior que o CN (0,37%) para todas as concentrações avaliadas do EA de *M. tenuiflora* [EA 0,25 mg/mL (0,87%), EA 0,5 mg/mL (0,53%), EA 1,0 mg/mL (0,93%), 1,5 mg/mL (0,84%), 2,5 mg/mL (0,74%)], notando-se a presença de pontes e quebras cromossômicas e micronúcleos, predominantemente (Figura 2). Tais dados sugerem um potencial genotóxico para o EA da jurema-preta. Por sua vez, em termos de antigenotoxicidade, todas as concentrações testadas elevaram o IAC [EA 0,25 mg/mL (2,57%), EA 0,5 mg/mL (1,98%), EA 1,0 mg/mL (3,27%), 1,5 mg/mL (2,01%), 2,5 mg/mL (1,95%)], em comparação ao CN (0,81%), mostrando a eficiência da ação clastogênica do MMS e ausência de atividade antigenotóxica para o extrato avaliado.

Figura 2- Alterações cromossômicas observadas em células meristemáticas de *Allium cepa*, utilizadas como parâmetros de genotoxicidade e antigenotoxicidade do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora*. **A.** Perda cromossômica. **B.** Broto nuclear (cabeça de seta) e Micronúcleo (seta). **C.** Micronúcleo. **D.** Anáfase com dupla ponte cromossômica (seta) e quebra cromossômica (cabeça de seta). **E.** e **F.** Pontes telofásicas.



Fonte: Cinthia Silva (2017)

Por fim, em relação ao índice de mutagenicidade (IMut), todas as concentrações do EA de jurema-preta mostraram uma frequência de micronúcleos na F1 [EA 0,25 mg/mL (0,41%), EA 0,5 mg/mL (0,45%), EA 1,0 mg/mL (0,37%), 1,5 mg/mL (0,42%), 2,5 mg/mL (0,40%)], superior ao CN (0,11%), levantando a suposição de um potencial mutagênico. Esta frequência apresentou-se em maiores valores nos testes de antimutagenicidade [EA 0,25 mg/mL (1,51%), EA 0,5 mg/mL (1,17%), EA 1,0 mg/mL (1,73%), 1,5 mg/mL (1,27%), 2,5 mg/mL (1,41%)], frente ao CN (0,60%); contudo, a

amostra EA 0,5 mg/mL mostrou-se similar, em termos estatísticos, ao CN evidenciando uma atividade antimutagênica para referida concentração frente a ação do MMS (Tabela 2).

Muitos extratos e princípios ativos vegetais têm sido usados como agentes terapêuticos, suscitando a necessidade de determinar o risco que eles podem causar a saúde animal e humana. Ou seja, além das plantas serem uma fonte potencial de princípios químicos definidos, os seus respectivos extratos vegetais também podem ser utilizados para fins terapêuticos, uma vez que estes oferecem oportunidades ilimitadas para novas descobertas de drogas por causa da disponibilidade inigualável de diversidade química (SASIDHARAN et al., 2011). Entretanto, sua atividade farmacológica deve estar difundida e os compostos responsáveis por essa atividade devem ser conhecidos (FOGLIO et al., 2006; ALMEIDA et al., 2016), bem como suas ações tóxicas, citogenotóxicas e mutagênicas.

Os testes de toxicidade, citogenotoxicidade e mutagenicidade são indicados como testes iniciais para a avaliação do potencial clínico de um novo material, devido a sua ampla reprodutibilidade, período experimental reduzido e a necessidade de pequenas quantidades de componentes alvos (ARAÚJO et al., 2015).

Neste sentido, o presente estudo relatou os primeiros ensaios de genotoxicidade e antigenotoxicidade para o extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, cuja importância é incontestável para o semiárido nordestino, devido a sua utilização para fins medicinais e forrageiro (ARAÚJO; LEITE; PAES, 2004; SILVA, 2012). Os resultados obtidos confirmaram uma ação tóxica dose-dependente da maioria das amostras do EA foliar de *M. tenuiflora*, bem como uma ação antitóxica e anticitotóxica (Tabelas 1 e 2).

É fato que a toxicidade do EA de *M. tenuiflora* pode estar relacionada ao perfil fitoquímico do mesmo, que embora não tenha sido aqui determinado, de acordo com a literatura, nota-se a presença de taninos e compostos fenólicos, os quais foram também relacionados à propriedades farmacológicas da jurema-preta, como as atividades antiinflamatória, antioxidante e antifúngica (ALMEIDA et al. 2005). Em *Jatropha gossypifolia* L, o sinergismo entre flavonoides e/ou saponinas foi associado a ação clastogênica do extrato aquoso (ALMEIDA et al., 2016), assim como observado em *Myristica fragrans* (AKINBORO et al., 2011).

Apesar das células apresentarem mecanismos de defesa frente à estresses ambientais, alguns compostos químicos são capazes de entrar nas células através da

membrana plasmática, sendo conceituados como agentes tóxicos. Em plantas, estes metabólitos tóxicos atuam inibindo a germinação de sementes e o crescimento das raízes (VARNERO; ROJAS; ORELLANA, 2007), conforme notado no presente trabalho. Em alface, o efeito inibitório na germinação e no crescimento de plântulas foi associado a presença de taninos (PERIOTTO, PEREZ; LIMA, 2004).

Esse efeito tóxico do extrato aquoso pode estar relacionado às malformações em animais observadas a partir da ingestão de jurema preta (DANTAS et al., 2010; MEDEIROS, J., et al., 2014; MEDEIROS, R., et al., 2008; PIMENTEL et al., 2007). Agentes genotóxicos presentes em plantas são capazes de causar danos genéticos, como quebras do DNA, alterações na replicação e transcrição do DNA, alterações nas fibras do fuso acromático e formações de micronúcleos aos organismos expostos (GUARDA et al., 2017).

O resultado antagônico observado sobre a avaliação da toxicidade e antitoxicidade do extrato aquoso de *M. tenuiflora* pode estar relacionado à grande variedade de fitoconstituintes presentes nesse extrato que podem agir como agentes tóxicos, bem como a presença de outros compostos que podem apresentar efeito protetor contra a ação tóxica frente ao MMS. Em contrapartida, a observação da antitoxicidade na presença do MMS não garante que a planta seja eficiente contra outros compostos tóxicos, de maneira que pode ter havido uma ocultação de toxicidade na avaliação da antigenotoxicidade (LIMA, 2010).

Os agentes tóxicos, por sua vez, podem ou não promover a morte celular (apoptose); caso desencadeie, este composto apresenta um ação citotóxica, fato não visualizado no presente trabalho, uma vez que o IM não apresentou diferenças significativas em relação ao CN. Paralelamente, não promovendo a apoptose, espera-se que a ação desses compostos propiciem o acúmulo de alterações em nível de DNA e cromatina e, conseqüentemente, a genotoxicidade; por sua vez, caso estes danos genotóxicos não sejam reparados, os compostos induzirão a ação mutagênica.

Neste trabalho, o IAC e IMut sugeriram um potencial genotóxico e mutagênico para todas as concentrações testadas. De acordo com Ferreira e Vargas (1999), algumas plantas medicinais utilizadas no Brasil apresentaram atividade mutagênica, fato esse que provavelmente, deve-se à presença de flavonoides, taninos e antraquinonas nos extratos testados. Outros tipos de compostos, como os alcaloides, também já

demonstraram genotoxicidade (WANG; PENG, 1996; ANSAH; KHAN; GOODERHAM, 2005).

Adicionalmente, outros estudos apontam a presença de antocianinas, anticianidinas, flavonoides, flavonóis, flavanonas, flavononois e xantonas, bem como esteroides e triterpenoides nas folhas da jurema-preta (BEZERRA et al., 2011). Geralmente, os compostos fenólicos estão associados a propriedades antimutagênicas apresentadas por extratos vegetais (BHATTACHARYA, 2011). Sugere-se que as ações aditivas e/ou sinérgicas dos compostos químicos encontrados nas folhas de *M. tenuiflora*, esteja relacionado a antitoxicidade e anticitotoxicidade apresentada pelo EA desta espécie vegetal.

Diferentes concentrações do extrato de *Solanum lycocarpum* A. St.Hil em combinação com o MMS, droga de ação mutagênica, foram avaliadas pelo teste cometa e aberrações cromossômicas, notando-se ausência de atividade genotóxica para o extrato, bem como um efeito protetor contra erros genômicos e cromossômicos induzidos pelo MMS (MUNARI et al., 2012). Esta atividade antimutagênica também foi relatada para o extrato aquoso de *Rhizophora mangle* L. (MALINI et al., 2010), propólis verde e *Baccharis dracunculifolia* (ROBERTO et al., 2016), entre outros.

Os mecanismos de antimutagenicidade estão envolvidos com a inativação química ou enzimática, a prevenção da formação de espécies reativas de oxigênio, a remoção de agentes mutagênicos e de radicais livres por meio de agentes antioxidantes (BHATTACHARYA, 2011). Diversos estudos têm sido realizados visando à identificação de compostos que podem atuar na proteção contra danos no DNA e suas consequências. Um agente antimutagênico pode prevenir a transformação de um composto mutagênico em um mutágeno, inativando o mutágeno ou de outra forma prevenindo a reação entre o mutágeno e o DNA. Além disso, pode atuar nos processos de reparo e replicação do DNA (BHATTACHARYA, 2011).

Existem diferentes classes de metabólitos secundários presentes nas plantas que exibem atividades antimutagênicas (KAUR et al., 2010). Muitas dessas substâncias extraídas possuem, além de suas propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas, efeitos benéficos adicionais, tais como a ativação do sistema imune e/ou proteção contra doenças cardiovasculares (MIDDLETON; KANDASWAMI, 1993).

Diante do exposto, é notável a relevância dos estudos de genotoxicidade e antigenotoxicidade de extratos vegetais para a segurança na utilização do material

vegetal, sendo o bioensaio com *A. cepa* um excelente teste *in vivo* para diagnosticar os efeitos tóxicos, antitóxico e anticitotóxico do extrato aquoso de *M. tenuiflora*.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ O teste com diferentes concentrações do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* demonstrou ação tóxica dose-dependente em raízes de *Allium cepa*;
- ✓ As concentrações estudadas do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* não induziram citotoxicidade em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*;
- ✓ A frequência de alterações cromossômicas, como pontes, perdas e quebras cromossômicas, bem como de micronúcleos, sugeriu que as concentrações do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* testadas apresentam potencial genotóxico e mutagênico;
- ✓ O extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora* apresentou ação antitóxica e anticitotóxica frente a ação do MMS em células de *A. cepa*, portanto, demonstrou efeito protetor;
- ✓ O bioensaio com *A. cepa* mostrou-se um teste *in vivo* promissor para diagnosticar a ação fitotóxica de possíveis solventes de extratos vegetais, assim como efeitos tóxicos, citogenotóxicos, mutagênicos e antimutagênicos em extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ¹

- ABIFISA - Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde. Net. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br>>. Acesso em: 05 ago. 2017.
- AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; NURIT, K.; BASÍLIO, I. J. L. D.; COELHO, V. P. M. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 383-395, 2007.
- AKINBORO, A.; BAKARE, A. A. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 3, p. 470-475, 2007.
- AKINBORO, A.; MOHAMED, K. B.; ASMAWI, M. Z.; SULAIMAN, S. F.; SOFIMAN, O. A. Antioxidants in aqueous extract of *Myristica fragrans* (Houtt.) suppress mitosis and cyclophosphamide-induced chromosomal aberrations in *Allium cepa* L. cells. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 12, n. 11, p. 915, 2011.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; NETO, E. M. D. F. L.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325-354, 2007.
- ALBUQUERQUE, U. P.; RAMOS, M. A.; MELO, J. G. New strategies for drug discovery in tropical forests based on ethnobotanical and chemical ecological studies. **Journal of ethnopharmacology**, v. 140, n. 1, p. 197-201, 2012.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P.; MAIA, M. B. S. Medicinal plants popularly used in the Xingo region-a semi-arid location in northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 23, p. 2-15, 2006.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R.; SILVA, T. D. L.; AMORIM, E. L. C.; MAIA, M. D. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of arid environments**, v. 62, n. 1, p. 127-142, 2005.
- ALMEIDA, P. M.; ARAÚJO, S. S.; SANTOS, I. R. M. R.; MARIN-MORALES, M. A.; BENKO-ISEPPON, A. M.; SANTOS, A. V.; RANDAU, K. P.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C. Genotoxic potential of leaf extracts of *Jatropha gossypifolia* L. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 15, n. 1, 2016.
- AMANCIO ALVES, J. J.; ARAÚJO, M. A.; SANTOS DO NASCIMENTO, S. Degradação da Caatinga: uma investigação ecogeográfica. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, 2009.

¹ De acordo com Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

ANSAH, C.; KHAN, A.; GOODERHAM, N. J. *In vitro* genotoxicity of the West African anti-malarial herbal *Cryptolepis sanguinolenta* and its major alkaloid cryptolepine. **Toxicology**, v. 208, n. 1, p. 141-147, 2005.

ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.

ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P.; CASTRO, C. C. Dynamics of Brazilian caatinga - a review concerning the plants, environment and people. **Functional Ecosystems and Communities**, Ikenobe, v.1, p.15-29, 2007.

ARAÚJO, L. V. C.; LEITE, J. A. N.; PAES, J. B. Estimativa da produção de biomassa de um povoamento de jurema-preta (*mimosa tenuiflora* (willd.) Poiret. Com Cinco anos de idade. **Biomassa e Energia**, v. 1, n. 4, p. 347-352, 2004.

ARAUJO-FILHO, J. A.; CARVALHO, F. C. Fenologia e valor nutritivo de espécies lenhosas caducifólias da caatinga. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 1998.

ARAÚJO, S. D. S.; FERNANDES, T. C.; MARIN-MORALES, M. A.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; BENKO-ISEPPON, A. M. Mutagenicity, genotoxicity and cytotoxicity assays of medicinal plants: first step for drug development. **Therapeutic Medicinal Plants: From lab to the market**, p. 130-153, 2015.

ATHANÁSIO, C.G.; PRÁ, D.; RIEGER, A. Water Quality of Urban Streams: The *Allium cepa* Seeds/Seedlings Test as a Tool for Surface Water Monitoring, **Scientific World J**, p.1-7, 2014.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F. D.; TEDESCO, S. B. (2007). Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p, 444-447, 2007.

BALICK, M.; COX, P. A. Ethnobotanical research and traditional health care in developing countries. **Medicinal plants for forest conservation and health care**, v. 92, p. 12-23, 1997.

BEZERRA, D. A. C. **Estudo Fitoquímico, Bromatológico e Microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke.** 63f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) - UFCG, Paraíba, 2008.

BEZERRA, D. A. C.; FERNANDES GALVÃO RODRIGUES, F.; MARTINS da Costa, J. G.; VIEIRA PEREIRA, A.; OLIVEIRA DE SOUSA, E.; GUEDES RODRIGUES, O. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n.1, 2011.

BEZERRA, D. A. C.; PEREIRA, A.; LÔBO, K.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C.; MOTA, R. A.; MEDEIROS, E. S.; RODRIGUES, S. C. Atividade biológica da jurema-

preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir.) sobre *Staphylococcus aureus* isolado de casos de mastite bovina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 814-817, 2009.

BHATTACHARYA, S. Natural antimutagens: a review. **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 5, n. 2, p. 116-126, 2011.

BORGES, R.; PEIXOTO, A. L. Conhecimento e uso de plantas em uma comunidade caiçara do litoral sul do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 3, p. 769-779, 2009.

BRANDÃO, M. G.; ALVES, R. M. S.; MOREIRA, R. A.; OLIVEIRA, P.; VIEIRA, M. T.; MOREIRA-CAMPOS, L. M. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 5, n. 1, p. 56-59, 2002.

CHITTURI, S.; FARRELL, G. C. Herbal hepatotoxicity: an expanding but poorly defined problem. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 15, n. 10, p. 1093-1099, 2000.

DANTAS, A. F. M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M.; GALIZA, G. J. N.; PIMENTEL, L. D. A.; ANJOS, B. L.; MOTA, R. A. Malformações congênitas em ruminantes no semiárido do Nordeste Brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 10, p. 807-815, 2010.

DIAS, N.S. et al. Estudo dos efeitos mutagênicos e citotóxicos do confrei (*Symphytum officinale*) no ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.10, n.3, p.20-9, 2002.

EDENHARDER, R. V.; VON PETERSDORFF, I.; RAUSCHER, R. Antimutagenic effects of flavonoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 287, n. 2, p. 261-274, 1993.

FERNANDES, T.C.C.; MAZZEO, D.E.C.; MARIN-MORALES, M.A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252-259, 2007.

FISKEJÖ, G. The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**. v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

Flora do Brasil 2020 em construção. *Mimosa*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB18874>>. Acesso em: 12 set. 2017.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. D. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. **Construindo a história dos produtos naturais**, v. 7, p. 1-8, 2006.

FONSECA, C. A.; PEREIRA, D. G. Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 16, n. 7/8, p. 51-54, 2013.

FRANÇA-ROCHA, W.; SILVA, A. D. B.; NOLASCO, M. C.; LOBÃO, J.; BRITTO, D.; CHAVES, J. M.; ROCHA, C. D. Levantamento da cobertura vegetal e do uso do solo do Bioma Caatinga. **Anais XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**. INPE, Florianópolis, SC, Brazil, p. 2629-2636, 2007.

FRANCO, A. A.; DIAS, L. E.; FARIA, S. D.; CAMPELLO, E. F. C.; SILVA, E. R. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico. **Oecologia Australis**, v. 1, n. 1, p. 459-467, 1995.

GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 2, p. 395-406, 2010.

GIULIETTI, A. M.; BOCAGE NETA, A. L.; CASTRO, A. A. J. F.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; VIRGÍNIO, J. F.; HARLEY, R. M. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**, p. 48-90, 2004.

GRANT, W. F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations—a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n. 2, p. 107-112, 1999.

GUARDA, A.; DELLA GIUSTINA, L.; ROCHA, V. D.; APARECIDA, A.; ROSSI, B.. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de *Punica granatum* L.(LYTHRACEAE), **Scientia Amazonia**, v. 6, n.3, 46-52, 2017.

GUPTA, D.; BLEAKLEY, B.; GUPTA, R. K. Dragon's blood: botany, chemistry and therapeutic uses. **Journal of ethnopharmacology**, v. 115, n. 3, p. 361-380, 2008.

HEINRICH, M.; KUHN, M.; WRIGHT, C. W.; RIMPLER, H.; PHILLIPSON, J. D.; SCHANDELMAIER, A.; WARHURST, D. C. Parasitological and microbiological evaluation of Mexican Indian medicinal plants (Mexico). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 36, n. 1, p. 81-85, 1992.

KAUR, S.; KUMAR, S.; KAUR, P.; CHANDEL, M. Study of antimutagenic potential of phytoconstituents isolated from *Terminalia arjuna* in the Salmonella/microsome assay. **Am J Biomed Sci**, v. 2, n. 2, p. 164-177, 2010.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; GOEL, R.; MUSARRAT, J. (Ed.). Biomanagement of metal-contaminated soils. **Springer Science & Business Media**, v. 20, p. 477, 2011.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. **Ecologia e conservação da Caatinga**, 20 ed., Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2003.

LEME, D. M.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 4, p. 214-219, 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009.

LIMA, A. P. **Avaliação mutagênica e antimutagênica do extrato aquoso de *Mimosa hostilis* benth pelo teste de mutação e recombinação somática em asas de *Drosophila melanogaster* (SMART)**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, SE, 2010.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Harri Lorenzi. –2. ed. – **Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum**, v. 2, p. 192, 2002.

MACIEL, M. A. M. PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MALINI, M.; MARIN-MORALES, M. A.; MANTOVANI, M. S.; JAMAL, C. M.; NATI, N.; PASSOS, T. D. S.; MATSUMOTO, S. T. Determination of the antimutagenicity of na aqueous extract of *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae), using *in vivo* and *in vitro* test systems. **Genetics and molecular biology**, v. 33, n. 1, p. 176-181, 2010.

MEDEIROS, J. M.; TABOSA, I. M.; SIMÕES, S. V. D.; NÓBREGA JÚNIOR, J. E.; VASCONCELOS, J. S.; RIET-CORREA, F.. Mortalidade perinatal em cabritos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 201-206, 2014.

MEDEIROS, R. M. T.; FIGUEIREDO, A. P. M.; BENÍCIO, T. M. A.; DANTAS, F. P. M.; CORREA, F. R. Teratogenicity of *Mimosa tenuiflora* seeds to pregnant rats. **Toxicon**, v. 51, n. 2, p. 316-319, 2008.

MELÉNDEZ, P. A.; CAPRILES, V. A. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. **Phytomedicine**, v. 13, n. 4, p. 272-276, 2006.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C. Plant flavonoids modulation of immune and inflamamatory cell functions: Nutrition and Immunology. In: KLURFELD, D.M.; ANFIN-SLATER, R.B.; KRITCHEVSKY, D. G. (Org.). **Human nutrition a comprehensive treatise**. New York: Plenum Press, p. 239-266, 1993.

MMA. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Biomás-Caatinga**. 2014. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>>, acesso em: 07/08/2016.

MUNARI, C. C.; OLIVEIRA, P. F.; SOUZA LIMA, I. M.; MARTINS, S. D. P. L.; COSTA, J. D. C.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. 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.

NEFIC, H.; MUSANOVIC, J.; METOVIC, A.; KURTESHI, K. Chromosomal and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* L. induced by alprazolam. **Medical Archives**, v. 67, n. 6, p. 388, 2013.

NEVES, E. S.; FERREIRA, P. M. P.; LIMA, L. H.; PERON, A. P. Action of aqueous extracts of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves on meristematic root cells of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 3, p. 1131-1137, 2014.

NÓBREGA JR, J. E. D. U.; CORREA, F. R.; NÓBREGA, R. S.; MEDEIROS, J. M.; VASCONCELOS, J. S.; SIMÕES, S. V. D.; TABOSA, I. M. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 2005.

NOVAIS, T. S.; COSTA, J. F. O.; DAVID, J. P. D. L.; DAVID, J. M.; QUEIROZ, L. P. D.; FRANÇA, F.; SANTOS, R. R. D. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 5-8, 2003.

OLIVEIRA, J. P. W.; SANTOS, R. N.; BOEIRA, J. M. Genotoxicidade e análises físico-químicas das águas do rio dos Sinos (RS) usando *Allium cepa* e *Eichhornia crassipes* como bioindicadores. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 15-22, 2012.

OLIVEIRA, L. B. D. **Avaliação de atividades farmacológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2011.

ONWUAMAH, C. K.; EKAMA, S. O.; AUDU, R. A.; EZECHI, O. C.; POIRIER, M. C.; ODEIGAH, P. G. C. Exposure of *Allium cepa* root cells to zidovudine or nevirapine induces cytogenotoxic changes. **PloS one**, v. 9, n. 3, p. 1-7, 2014.

PANTER, K. E.; WLECH, K. D.; LEE, S. T.; GARDNER, D. R.; STEEGELMEIER, B. L.; RALPHS, M. H.; DAVIS, T. Z.; GREEN, B. T.; P_ISTER, J. A.; COOK, D. Plants teratogenic to livestock in the United States. **Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related toxins**. **CAB International, Wallingford, UK. 739p.** [Links], p. 236-242, 2011.

PAVAN-FRUEHAUF, S. **Plantas medicinais de Mata Atlântica: Manejo sustentado e amostragem**. Annablume, São Paulo: Editora Annablume, p. 215, 2000.

PAWLOWSKI, Â; KALTCHUK-SANTOS, E.; ZINI, C. A.; CAMARÃO, E. B.; SOARES, G. L. G. Essential oils of *Schinus terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae): Mitodepressive and aneugenic inducers in onion and lettuce root meristems. **South african journal of botany**, v.80, p.96-103, 2012.

PEREIRA FILHO, J. M.; VIEIRA, E. L.; KAMALAK, A.; SILVA, A. M. A.; CEZAR, M. F.; BEELEN, P. M. G. Correlação entre o teor de tanino e a degradabilidade ruminal da matéria seca e proteína bruta do feno de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) tratada com hidróxido de sódio. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, n. 8, 2005.

PEREIRA, I. F. M. **Genotoxicidade como parâmetro de monitoramento ambiental do Rio São Francisco no Polo Petrolina (PE) / Juazeiro (BA)**. Dissertação (Dissertação em Genética) - UFPE, Recife, 2016.

PERIOTTO, F.; PEREZ, S. C. J. G. A.; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta botânica brasílica**, v. 18, n. 3, p. 425-430, 2004.

PIMENTEL, L. A.; CORREA, F. R.; GARDNER, D.; PANTER, K. E.; DANTAS, A. F. M.; MEDEIROS, R. M. T.; MOTA, R. A.; ARAÚJO, J. A. S. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the northeastern Brazilian semiarid rangelands. **Veterinary pathology**, v. 44, n. 6, p. 928-931, 2007.

PING, K. Y.; DARAH, I.; YUSUF, U. K.; YENG, C.; SASIDHARAN, S. Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: an *Allium cepa* assay. **Molecules**, v. 17, n. 7, p. 7782-7791, 2012.

PUNTUREE, K.; WILD, Christopher P.; VINITKETKUMNEUN, U. Thai medicinal plants modulate nitric oxide and tumor necrosis factor- α in J774. 2 mouse macrophages. **Journal of ethnopharmacology**, v. 95, n. 2, p. 183-189, 2004.

RAY, S.; KUNDU, L. M.; GOSWAMI, S.; ROY, G. C.; CHATTERJEE, S.; DUTTA, S.; CHAKRABARTI, C. S. Metaphase arrest and delay in cell cycle kinetics of root apical meristems and mouse bone marrow cells treated with leaf aqueous extract of *Clerodendrum viscosum* Vent. **Cell proliferation**, v. 46, n. 1, p. 109-117, 2013.

ROBERTO, M. M.; JAMAL, C. M.; MALASPINA, O.; MARIN-MORALES, M. A. Antigenotoxicity and antimutagenicity of ethanolic extracts of Brazilian green propolis and its main botanical source determined by the *Allium cepa* test system. **Genetics and molecular biology**, v. 39, n. 2, p. 257-269, 2016.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.

SANTOS, J. R.; DANTAS, A. F. M.; CORREA, F. R. Malformações, abortos e mortalidade embrionária em ovinos causada pela ingestão de *Mimosa tenuiflora* (Leguminosae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1103-1106, 2012.

SASIDHARAN, S.; CHEN, Y.; SARAVANAN, D.; SUNDRAM, K. M.; LATHA, L. Y. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n. 1, 2011.

SILVA, V. A.; GONÇALVES, G. F.; PEREIRA, M. S.; GOMES, I. F.; FREITAS, A. F.; DINIZ, M. F.; PESSÔA, H. L. Assessment of mutagenic, antimutagenic and genotoxicity effects of *Mimosa tenuiflora*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 329-334, 2012.

SILVA, V. A. D. **Avaliação citotóxica e genotóxica de Mimosa tenuiflora (Willd.) Poir.(Mimosaceae)**. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2012.

SIQUEIRA-FILHO, J. A. Disponível em:
<<http://www.univasf.edu.br/~hvasf/index.php?page=dados>> Acesso em: 13 set 2017.

SOARES, A. K.; CARMO, G. C.; QUENTAL, D. P.; NASCIMENTO, D. F.; BEZERRA, F. A.; MORAES, M. O.; MORAES, M. E. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Rev Bras Farmacogn**, v. 16, p. 447-454, 2006.

SOUSA, N.C. **Efeitos moduladores da *Annona muricata* e da *Tabebuia impetiginosa* sobre a genotoxicidade da doxorubicina em células somáticas de *Drosophila melanogaster***. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2008.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 435-440, 2010.

SOUZA, R. S. O. D.; ALBUQUERQUE, U. P. D.; MONTEIRO, J. M.; AMORIM, E. L. C. D. Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora* [Willd.] Poir.): a review of its traditional use, phytochemistry and pharmacology. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 5, p. 937-947, 2008.

SOUZA, T. M.; MOREIRA, R. R. D.; PIETRO, R. C. L. R.; ISAAC, V. L. B. Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 71-75, 2007.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D. Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test. **Rijeka: InTech Publisher**. p. 137–56, 2012.

TEIXEIRA, R. O.; CAMPAROTO, M. L.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., *in vitro* and *in vivo* assays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003.

TOMAZZONI, M. I.; BONATO NEGRELLE, R. R.; CENTA, M. D. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, 2006.

UKAEGBU, M. C.; ODEIGAH, P. G. C. The genotoxic effect of sewage effluent on *Allium Cepa*. **Report and Opinion**, v. 1, n. 6, p. 36-41, 2009.

VARGAS, V. M. F.; MOTTA, V. E.; LEITAO, A. C.; HENRÍQUES, J. A. Mutagenic and genotoxic effects of aqueous extracts of *Achyrocline satureoides* in prokaryotic organisms. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 240, n. 1, p. 13-18, 1990.

VARNERO, M. T.; ROJAS, C.; ORELLANA, R. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. **Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal**, v. 7, n. 1, p. 28-37, 2007.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WANG, C. K.; PENG, C. H. The mutagenicities of alkaloids and N-nitrosoguvacoline from betel quid. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 360, n. 3, p. 165-171, 1996.

WELCH, K. D.; LEE, S. T.; GARDNER, D. R.; PANter, K. E.; STEEGELMEIER, B. L.; COOK, D. Dose-response evaluation of *Veratrum californicum* in sheep. **Poisoning by Plants, Mycotoxins and related Toxins**. CAB International, Wallingford, UK. 739p.[Links], p. 243-250, 2011.