UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Aparecida Jayane Sampaio Miranda

Avaliação genotóxica e antigenotóxica do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret mediante o bioensaio com *Allium cepa* L.

Petrolina

2018

APARECIDA JAYANE SAMPAIO MIRANDA

Avaliação genotóxica e antigenotóxica do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret mediante o 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: Profª. Drª. Kyria Cilene de Andrade Bortoleti

Petrolina

2018

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

Aparecida Jayane Sampaio Miranda

Avaliação genotóxica e antigenotóxica do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret, mediante o 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: 04 de abril de 2018.

Banca Examinadora

(Profª. Dr.ª Kyria Cilene de Andrade Bortoleti, Universidade Federal do Vale do São Francisco)

(Profª. Dr.ª Maria Luciana Lira de Andrade, Universidade Federal do Vale do São Francisco)

(Prof.ª Dr.ª Liliane Gallindo Dantas de Oliveira, Universidade Federal do Vale do São Francisco)

Miranda, Aparecida Jayane Sampaio.
M672a Avaliação genotóxica e antigenotóxica do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* (willd.) Poiret, mediante o bioensaio com A*llium cepa* L./ Aparecida Jayane Sampaio Miranda. -- Petrolina, 2018.
XI, 41 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2018.
Orientadora: Profª. Drª. Kyria Cilene de Andrade Bortoleti.

Referências.

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

CDD 581.634

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca SIBI/UNIVASF
Bibliotecária: Ana Cleide Lucio CRB – 4 / 2064

Aos **meus pais**, por todo amor e dedicação.

Por serem meu exemplo de resistência.

A vocês, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me fortalece em fé a cada dia. Por todas as bênçãos que tenho recebido!

Aos meus pais, Rosa e Raimundo, pelo empenho em passar para as filhas o bem mais precioso que os pais podem deixar: a educação. Obrigada por confiarem em mim. Sois também responsáveis pelas minhas conquistas. Amo vocês!

Às minhas irmãs: Janayna, Jaquelyne e Janyelle, por toda a tolerância e carinho. Pela irmandade que segue pra vida toda. Também amo vocês!

Aos familiares que torceram por mim, em especial ao meu cunhado Ramon e a minha sobrinha Elisa, essa pequena que tornava valiosos os meus poucos dias de férias.

Ao meu namorado, Michael, por todo amor, companheirismo e cuidado. Por tornar mais leve os meus dias difíceis, por acreditar em mim e compartilhar dos meus sonhos. E à Dona Socorro, por se preocupar e torcer por mim.

À Flávia, minha irmã de coração. Obrigada pela amizade que nem o tempo e nem a distância são capazes de interferir, por tanto carinho e por sempre vibrar minhas conquistas.

À minha orientadora, Kyria Bortoleti. Obrigada por transmitir mais do que lhe cabia enquanto professora. Agradeço o carinho, o zelo, a paciência e o direcionamento durante esses anos. Ser sua orientanda me rendeu ensinamentos valiosos.

À professora Liliane Dantas, por toda a ajuda e disponibilidade enquanto minha co-orientadora em boa parte do meu estágio.

Àqueles que fazem/fizeram os dias no lab muito mais alegres: Laysla, Jadilson, Ilka, Deborah, Palloma, Keyla, Ingrid, Araúna, Cinthia e Eli. Vocês sabem o quanto me ajudaram durante todo esse tempo. Só tenho gratidão e carinho por todos vocês.

À Thais, por todos os momentos juntas que jamais esquecerei. Sua amizade foi um dos bens mais preciosos que a graduação me trouxe.

Às meninas do Ap: Nacyara, Michelle, Karen e Jéssica, por toda a convivência e pela amizade. Tenho por vocês um carinho enorme e torço pelo sucesso de cada uma. E à galera da casa dos estudantes de Parnamirim, pelos anos mais divertidos da minha vida e por me aguentarem tantas vezes. Aprendi muito nessa convivência com vocês.

Aos amigos que a biologia me trouxe, em especial ao grupinho dos cafés da manhã no RU. Sou grata por toda a experiência compartilhada, vocês ajudaram a amenizar o cansaço e o desanimo por várias vezes e tornaram muito mais divertidos os dias no Burrinho e fora dele. Vocês são demais!

Aos professores que compõem o colegiado de Ciências Biológicas, por todo o ensinamento transmitido, pela inspiração e contribuição na minha formação.

Ao Cemafauna Caatinga, em nome da Profª. Patrícia Avello e do Profº. Luiz Cesar, pela infraestrutura e pelo apoio financeiro disponibilizados para a realização dos meus trabalhos científicos.

Aos amigos da vida, que de alguma forma doaram-me ensinamentos, conselhos, experiências e momentos inesquecíveis durante esses anos.

À todos vocês, minha sincera gratidão!

RESUMO

A *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae; jurema preta) é uma espécie comum na paisagem do semiárido nordestino e faz parte da cultura regional pelo uso medicinal das folhas, além de ser constituinte de bebidas em cultos indígenas e afroreligiosos. Pela abundância da espécie em períodos de estiagem, a planta é utilizada como forragem e a literatura relaciona seu consumo com a teratogenicidade apresentada em caprinos, ovinos e bovinos. Diante da sua importância local e da escassez de estudos avaliando os efeitos fitotóxicos das folhas da jurema preta, esse trabalho objetivou estudar os efeitos do extrato etanólico foliar nas sementes e raízes de *Allium cepa* L., bioensaio amplamente utilizado em testes genotóxicos de diversos compostos, incluindo extratos vegetais. Para isso, as folhas foram coletadas, secas e maceradas para a obtenção do extrato etanólico. Em seguida, o número de 1500 sementes de *A. cepa* foi posto para germinar em diferentes concentrações do extrato diluído em Tween 20 (0,2%), além do controle negativo (água ultrapura), do controle solvente (Tween 20 a 0,2%) e dos controles positivos (MMS e herbicida Trifuralina), para posterior avaliação dos efeitos tóxico/antitóxico, citotóxico/anticitotóxico, genotóxico/antigenotóxico e mutagênico/antimutagênico. Os parâmetros avaliados (IG, VCMR, IM, IAC e Imut) demonstraram efeitos tóxicos e citotóxicos para o extrato etanólico foliar nas concentrações 1,0 mg/mL, 1,5 mg/mL e 2,5 mg/mL, bem como efeito antigenotóxico para a concentração de 1,0 mg/mL. As demais concentrações testadas e o solvente Tween 20 revelaram potenciais tóxicos e citotóxicos. Esses resultados foram relacionados aos componentes presentes na planta, como taninos, flavonoides e triterpenoides; suas ações foram discutidas e relacionadas ao uso farmacobotânico popular, bem como ao potencial antiproliferativo contra células tumorais.

Palavras-chave:

Ensaios de genotoxicidade. Extrato foliar. Jurema preta. Plantas medicinais. Semiárido.

RESUMO EM LINGUA ESTRANGEIRA

Mimosa tenuiflora (Fabaceae; jurema preta) is a common species in the northeastern semiarid landscape and it is part of the regional culture for the medicinal use of leaves, besides being a constituent of beverages in indigenous and afro-religious cults. Due to the abundance of the species during periods of drought, the plant is utilized as fodder and the literature relates its consumption with the teratogenicity presented in goats, sheep and cattle. Given its local importance and the shortage of studies evaluating the phytotoxic effects of jurema preta leaves, the objective of this work was to study the effects of foliar ethanolic extract on the seeds and roots of *Allium cepa* L., a bioassay widely used in genotoxic tests of several compounds, including plant extracts. For this, the leaves were collected, dried and macerated to obtain the ethanolic extract. Then, the number of 1500 seeds of *A. cepa* was placed to germinate at different concentrations of the extract diluted in Tween 20 (0.2%), besides the negative control (ultrapure water), solvent control (Tween 20 at 0,2%) and positive controls (MMS and herbicide Trifluralin), for posterior evaluation of the toxic/antitoxic, cytotoxic/anticitotoxic, genotoxic/antigenotoxic and mutagenic/antimutagenic effects. The parameters evaluated (IG, VCMR, IM, IAC and Imut) showed toxic and cytotoxic effects for leaf ethanolic extract at concentrations of 1.0 mg/mL, 1.5 mg/mL and 2.5 mg/mL, as well as antigenotoxic effect at the concentration of 1.0 mg/mL. The other concentrations tested and solvent Tween 20 revealed toxic and cytotoxic potentials. These results were related to the components present in the plant, such as tannins, flavonoids and triterpenoids; their actions were discussed and related to the popular pharmacobotanical use, as well as the antiproliferative potential against tumor cells.

Key words:

Genotoxicity assays. Leaf extract. Jurema preta. Medicinal plants. Semi-arid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- *Mimosa tenuiflora* 19

Figura 2- Alterações cromossômicas observadas em células meristemáricas de *Allium cepa* L., utilizadas como parâmetros de genotoxicidade e antigenotoxicidade do extrato etanólico de *Mimosa tenuiflora*. A. Telófase com perda cromossômica. B. Anáfase com ponte (seta) e perda cromossômica (cabeça de seta). C. Broto nuclear. D. Micronúcleo. E. Célula binucleada. F. C-metáfase. G. Célula poliploide com perda cromossômica (seta). H. Telófase multipolar com perda cromossômica (seta)..... 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Etapa I – Avaliação tóxica, citogenotóxica e mutagênica em células meristemáticas e da F1 de *Allium cepa* L., sob influência de diferentes concentrações do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora*. 34

Tabela 2- Etapa II – Avaliação antitóxica, anticitogenotóxica e antimutagênica em células meristemáticas e da F1 de *Allium cepa* L., sob efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Alterações Cromossômicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEMAFAUNA	Centro de Conservação e Manejo de Fauna da Caatinga
CN	Controle Negativo
CS	Controle Solvente
DNA	*Deoxyribonucleic acid*; Ácido desoxirribonucleico
EE	Extrato Etanólico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
HCL	Ácido Clorídrico
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	*Methyl Methanesulfonate*; Metil Metano Sulfonato
MN	Micronúcleo
NECMOL	Núcleo de Ecologia Molecular
QC	Quebra Cromossômica
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
TA	Temperatura Ambiente
TRI	Trifuralina
UNIVASF	Universidade Federal do Vale do São Francisco
UNEP	Programa Ambiental das Nações Unidas
UP	Ultrapura
VCMR	Variação do Comprimento Médio da Raiz
WHO; OMS	*World Health Organization*; Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 12
OBJETIVOS 14
Objetivo Geral 14
Objetivos Específicos 14
REFERENCIAL TEÓRICO 15
A Caatinga e o seu potencial etnofarmacobotânico 15
As plantas medicinais: uma tradição milenar 17
A espécie *Mimosa tenuifora* (Willd) Poiret 19
O potencial genotóxico das plantas medicinais e o sistema- teste *Allium cepa* L. 23
MATERIAL E MÉTODOS 26
Obtenção e processamento do material vegetal de *Mimosa tenuiflora* 26
Obtenção do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* 26
Bioensaio com *Allium cepa* L. 27
Análise de toxicidade e antitoxicidade 29
Análise de citotoxicidade e anticitotoxicidade 29
Análise de genotoxicidade e antigenotoxicidade 29
Análise de mutagenicidade e antimutagenicidade 30
Delineamento Estatístico 30
RESULTADOS 31
Ensaio Genotóxico (Etapa I) 31
Ensaio Antigenotóxico (Etapa II) 32
DISCUSSÃO 37
PERSPECTIVAS FUTURAS 42
CONSIDERAÇÕES FINAIS / CONCLUSÕES 43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 44

INTRODUÇÃO

A prática de tratar enfermidades utilizando os recursos botânicos disponíveis existe desde a antiguidade e mantém sua importância em muitas partes do globo até os dias atuais, principalmente nos países em desenvolvimento e nas regiões caracterizadas pela pobreza populacional e pelo difícil acesso aos recursos básicos de saúde pública (VEIGA-JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Na região semiárida nordestina, marcada pela predominância do caráter rural e altas taxas demográficas, as informações acerca das plantas medicinais encontradas e utilizadas em larga escala são transmitidas verbalmente entre as gerações, geralmente sem informações científicas complementares (FRANÇA *et al.*, 2008).

A Caatinga é citada entre as cinco regiões mais ricas em espécies medicinais, porém são poucas as pesquisas de cunho farmacobotânico na região (ALMEIDA, 2011). Entre as espécies nativas desse ecossistema, destaca-se a *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret (Fabaceae), popularmente conhecida como jurema preta e bastante empregada para fins terapêuticos. A casca do caule e a raiz dessa planta são as partes principais utilizadas pela população, no entanto há registros na literatura da aplicação de suas folhas para o tratamento de várias doenças (BEZERRA *et al.*, 2011). Complementarmente, as folhas da jurema preta também estão entre os ingredientes utilizados pelos indíos nordestinos e afro-descendentes no preparo bebidas culturais ingeridas durante os cultos locais (ARRUDA CAMARGO, 2014; SOUSA; NASCIMENTO, 2011).

Mimosa tenuiflora caracteriza-se entre a vegetação da Caatinga por diversos fatores, a exemplo da sua ampla distribuição nesse ecossistema e a persistência da folhagem no período de estiagem. Por consequência, essa espécie também é comumente utilizada como forragem na alimentação de bovinos, caprinos e ovinos, apesar do potencial teratogênico da espécie ter sido fundamentado em relatos de caso e experimentações científicas. Comprovadamente, a jurema preta proporciona a indução de malformações congênitas nos filhotes, quando há a ingestão da planta pelas mães durante o período gestacional (DANTAS *et al.*, 2010; PIMENTEL *et al.*, 2007).

Muitas plantas com potencial terapêutico podem conter propriedades tóxicas pela presença de um ou mais metabólitos secundários com capacidade de interação com outros compostos, podendo atuar como agentes naturais mutagênicos e/ou carcinogênicos. Desssa forma, diante da necessidade de identificação dos efeitos prejudiciais desses vegetais para maior segurança no seu uso medicinal, faz-se necessário a realização de bioensaios toxicológicos a fim de avaliar a presença de fitoconstituintes tóxicos, citogenotóxicos e mutagênicos presentes nos extratos vegetais (MALINI *et al.*, 2010).

O bioensaio *in vivo* com *Allium cepa* L. tem se mostrado eficaz na determinação da toxicidade de extratos vegetais devido a suas características, dentre as quais, o custo/benefício, a curta duração do experimento e a reprodutibilidade compatível com outros sistemas-teste (FISKESJO, 1985). Nesse bioensaio, as raízes crescem em contato com o extrato vegetal e as subtâncias nele presente influenciam diretamente no ciclo celular, inibindo-o e/ou causando alterações cromossômicas.

Em suma, a ampla utilização da jurema preta no semiárido nordestino e o potencial teratogênico relatado na literatura, bem como a incipiência de trabalhos científicos em extratos foliares dessa espécie, ressalvam a importância do presente trabalho, uma vez que este investigou o potencial tóxico/antitóxico, citotóxico/anticitotóxico, genotóxico/antigenotóxico e mutagênico/antimutagênico do extrato etanólico foliar da *M. tenuiflora*.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

- ✓ Investigar a presença de efeito genotóxico no extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora*, bem como o efeito protetor em ensaios de antigenotoxicidade diante da exposição ao agente de ação clastogênica Metil Metano Sufonato (MMS), por meio do bioensaio com *Allium cepa* L.

Objetivos Específicos

- ✓ Estimar a toxicidade das diferentes concentrações do extrato etanólico de *M. tenuiflora*, mediante o Índice de Germinação (IG) e a Variação do Comprimento Médio da Raiz (VCMR) das sementes de *A. cepa*;
- ✓ Verificar a antitoxicidade das diferentes concentrações do extrato etanólico de *M. tenuiflora*, mediante a Variação do Comprimento Médio da Raiz (VCMR) das sementes de *A. cepa*, após exposição ao MMS;
- ✓ Avaliar o potencial citotóxico e anticitotóxico do extrato vegetal em questão por meio do Índice Mitótico (IM), bem como avaliar o seu potencial genotóxico e antigenotóxico por meio do Índice de Alterações Cromossômicas (IAC) em células meristemáticas de *A. cepa*;
- ✓ Analisar a mutagenicidade e antimutagenicidade mediante a frequência de Micronúcleos (MN) em células da F1 de *A. cepa*.

REFERENCIAL TEÓRICO

A Caatinga e o seu potencial etnofarmacobotânico

O ecossistema Caatinga abrange uma área de 844.453 Km² e caracteriza-se pelo baixo volume pluviométrico, com precipitações médias entre 500 e 700 mm anuais e uma marcante irregularidade das chuvas ao longo dos anos (BUCHER, 1982; MMA, 2014). A Caatinga cobre a maior parte da área com clima semiárido do Nordeste Brasileiro e uma pequena parte do estado de Minas Gerais (GIULIETTI *et al.*, 2004), incluindo também áreas de transição com o Cerrado, como a Chapada do Araripe, e áreas mais úmidas, como os “brejos” de Pernambuco (LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003).

A composição vegetal da Caatinga compreende uma combinação de plantas que a distingue dos demais ecossistemas. Destaca-se a presença predominante de plantas xerófitas, arbustivas espinhosas, árvores decíduas, cactáceas e bromeliáceas, além de plantas decíduas e anuais (BARBOSA; HUETE; BAETHGEN, 2006). A heterogeneidade da vegetação da Caatinga é justificada pela extensa área ocupada por esse ecossistema, o que permite uma distribuição com razoável grau de sobreposição proveniente da combinação de características consideradas básicas e dos diversos fatores ambientais influentes (GIULIETTI *et al.*, 2004).

Uma riqueza de espécies e um alto grau de endemismo são observados na Caatinga, com destaque para as diversas adaptações das plantas frente as condições climáticas locais (GIULIETTI *et al.*, 2004; LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003). Dentre essa variedade de plantas, muitas possuem potencial para práticas antrópicas, sendo empregadas na indústria madeireira, na alimentação humana, como forrageira e na medicina tradicional, por exemplo (SILVA; ALBUQUERQUE, 2005). Essa alta diversidade aliada a riqueza de espécies endêmicas que ocorrem na Caatinga ressalvam a necessidade de conservação da biodiversidade local.

Segundo o MMA (2014), apesar de apresentar um alto potencial para uso sustentável e bioprospecção, a Caatinga sofre um acelerado processo de

desmatamento, estimado em 46% de sua extensão. Buainain e Garcia (2013) destacam a existência de grandes áreas susceptíveis ou em avançado grau de desertificação ao longo do Semiárido nordestino. Ademais, muitas das espécies encontradas na Caatinga possuem um grande potencial medicinal, porém o extrativismo reduziu drasticamente suas populações (ALMEIDA *et al.*, 2005).

A região concentra um caráter predominantemente rural e com altas taxas demográficas, o que contribuiu para a inserção da vegetação local como parte integrante da cultura popular (AB'SABER, 1999; AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007). Vale ressaltar que, segundo Giulietti *et al.* (2004), a exploração florística causada pelo uso terapêutico das espécies medicinais tem pouco impacto negativo na vegetação nativa, devido à pouca quantidade do material vegetal utilizado e pela presença comum de plantios domésticos, evitando a eliminação da população no seu habitat.

Almeida (2011) enfatiza que, por muito tempo, as pesquisas etnofarmacológicas voltaram-se prioritariamente para Amazônia, além de mencionar a Caatinga entre as cinco regiões abundantes em espécies medicinais, das quais, muitas ainda permanecem sem estudos químicos, farmacológicos e/ou toxicológicos. Contudo, o estudo da aplicação tradicional dos recusos florísticos e seus produtos na região Nordeste do Brasil vem aumentando progressivamente nos últimos anos, embora ainda existam algumas lacunas acerca das plantas etnomedicinais utilizadas na região (AGRA *et al.*, 2008).

Leal, Tabarelli e Silva (2003), citam recomendações dadas pelo subprojeto "Avaliações e ações prioritárias para conservação da biodiversidade do bioma Caatinga", patrocinado pelo MMA, visando minimizar os impactos antrópicos. Dentre as principais recomendações listadas, encontra-se algumas ações voltadas para a Bioprospecção na Caatinga:

> Bioprospecção: (1) elaborar programas de incentivo as pesquisas farmacológicas de plantas medicinais; (2) gerar banco de dados sobre o uso de plantas medicinais; (3) elaborar programas de incentivo ao plantio de plantas medicinais; (4) realizar levantamentos botânicos específicos para novas plantas com potencial medicinal e (5) resgatar o conhecimento popular sobre o uso das plantas medicinais (LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003).

As pesquisas revelam inúmeras espécies utilizadas culturalmente para fins medicinais, sendo elas nativas ou exóticas localmente cultivadas. Algumas famílias de plantas da Caatinga destacam-se representativamente em trabalhos envolvendo riqueza de espécies medicinais, a exemplo de Fabaceae, Euphorbiaceae, Cactaceae, Caesalpiniaceae e Anacardiaceae (PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 2014; ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010; SILVA, ALBUQUERQUE, 2005). Entre as espécies nativas mais utilizadas para práticas terapêuticas, pode-se citar a aroeira – *Myracrodruon urundeuva* Allemão, a umburana de cheiro – *Amburana cearenses* (Allemão) A. C. Sm., a baraúna – *Schinopsis brasiliensis* Engl. e a jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010; SILVA; ALBUQUERQUE, 2005).

As plantas medicinais: uma tradição milenar

A utilização das espécies medicinais remonta a antiguidade, sendo exercida em larga escala mundialmente, até a época atual, principalmente nos países em desenvolvimento (GURIB-FAKIM, 2006; VEIGA-JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Segundo a Resolução RDC Nº 26, da ANVISA (2014), o conceito de planta medicinal refere-se à uma espécie vegetal cuja utilização remete a fins terapêuticos, podendo ser cultivada ou não.

Nos primórdios da Ciência Farmacêutica, os vegetais foram arduamente utilizados pela sociedade, sendo esta, ponto de partida para os estudos das propriedades curativas e no desenvolvimento dos primeiros fármacos. Trata-se, pois, de uma prática comum para prevenção, diagnóstico, melhoria ou tratamento de doenças (WHO, 2000). Tal popularidade no uso de plantas com princípios curativos se dá por vários fatores, a exemplo das questões históricas e culturais (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007).

Além da notável tradição, há facilidade de obtenção desses vegetais e certa indisponibilidade de recursos públicos de saúde que acomete populações rurais e/ou carentes, mais afastadas dos centros urbanos (ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010; VEIGA-JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Porém, o uso de plantas medicinais

também está relacionado muitas vezes a um estilo de vida mais natural, e por assim acreditar, mais saudável.

É fato que o crescimento da indústria farmacêutica e o desenvolvimento de fármacos mais eficazes não diminuíram a importância das plantas medicinais em muitas sociedades, onde permanecem como fonte alternativa de tratamento (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006). No entanto, é errônea a ideia generalizada de que esses vegetais, por serem produtos naturais, não fazem mal a saúde e não contém toxicidade (FRANÇA *et al.*, 2008; NASRI; SHIRZAD, 2013). Adicionalmente, algumas das propriedades terapêuticas atribuídas popularmente a essas plantas não condizem com as explicações científicas (GURIB-FAKIM, 2006).

É válido ressaltar que a terapia com essas plantas é baseada nos achados empíricos de muitos anos da história do homem e as ocorrências mais importantes relacionadas a cura foram transmitidas verbalmente entre as gerações (GURIB-FAKIM, 2006). França *et al.* (2008) demonstraram em seus dados a prevalência significativa da transmissão do conhecimento popular de forma hereditária, geralmente sem informações científicas complementares.

Muitas plantas medicinais podem causar efeitos colaterais inesperados, sendo a dosagem um ponto crítico. Há relatos de que algumas plantas com uma longa história de uso foram implicadas como potencialmente tóxicas, como é o caso da espécie *Corynanthe yohimbe* K. Schumann (yohimbe) (GURIB-FAKIM, 2006). Esse vegetal é bastante utilizado para fins dietéticos e afrodisíacos; no entanto, causam efeitos adversos como aumento da pressão arterial e taquicardia (RAHM, 2004), e, em altas doses, parece ocasionar insuficiência renal e morte (GURIB-FAKIM, 2006).

Essas questões, além da incipiência em pesquisas sobre o uso seguro das plantas medicinais no Brasil, ressaltam a necessidade da elaboração de estudos científicos mais detalhados quanto às preparações que as utilizam, abrangendo aspectos como padronização química, testes biológicos *in vitro* e *in vivo* e avaliações clínicas (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010). Além disso, a toxicidade das plantas de uso popular é considerada um problema de saúde pública e deve-se priorizar pontos como os efeitos adversos e a ação sinérgica com outras drogas (VEIGA-JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Pesquisas literárias realçam o fato de que tais estudos são restritos em regiões como a Caatinga, caracterizada historicamente pela pobreza populacional,

com baixos investimentos tecnológicos e científicos, cuja população encontra na vegetação local a forma de tratamento para diversas enfermidades. Entre as plantas que compõem a flora medicinal da Caatinga está a jurema preta (*Mimosa tenuiflora*), uma espécie que faz parte da cultura histórica e regional pelo uso medicinal diverso, além de ser ingrediente de bebidas em rituais indígenas do Nordeste.

A espécie *Mimosa tenuifora* (Willd) Poiret

A espécie *Mimosa tenuiflora*, conhecida popularmente como jurema preta, é uma leguminosa de porte arbustivo ou arbóreo, pertencente à família Fabaceae e subfamília Mimosoidea (MAIA-SILVA *et al.*, 2012; PADILHA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2013) (Figura 1). Trata-se de uma espécie nativa, encontrada em toda a região Nordeste, tendo ocorrência também no Sudeste, restringindo-se ao estado de Minas Gerais (FLORA DO BRASIL, 2018). Além disso, há registros da planta na Venezuela, Colombia, México, Honduras, El Salvador e Panamá (TROPICOS.ORG, 2018).

Figura 1- *Mimosa tenuiflora.*

Fonte: M. Oliveira, 2010.

No Brasil, a jurema preta ocorre tanto na Caatinga quanto no Cerrado (MAIA-SILVA *et al.*, 2012), mas é na Caatinga que a espécie é comumente encontrada, caracterizando-se por apresentar resistência à seca e por colonizar facilmente os ambientes degradados e/ou erodidos dessa região semiárida (ARAÚJO; LEITE; PAES, 2004; BAKKE *et al.*, 2007), sendo indicadora de estágio inicial de sucessão ecológica e de vegetação perturbada (CALIXTO JÚNIOR; DRUMOND, 2011).

Lima *et al.*, (2015) destacam a espécie *M. tenuiflora* como altamente adaptável às condições edafoclimáticas locais (Caatinga), uma vez que o período de estiagem não limita o seu desenvolvimento. Esses autores elucidaram o potencial de estabelecimento da jurema preta em áreas antropizadas por atividades de mineração e evidenciaram a alta produção de biomassa do vegetal, justificando sua classificação como pioneira (AZÊVEDO *et al.*, 2012; BAKKE *et al.*, 2006), bem como seu papel ecológico na restauração de áreas degradadas devido ao rápido crescimento e capacidade de rebrota (MAIA-SILVA *et al.*, 2012; ROQUE; LOIOLA, 2013).

Devido a persistência da folhagem durante o período de seca local, a jurema preta é bastante utilizada na dieta animal, onde as vezes é a única forragem disponível (BAKKE *et al.*, 2006; BAKKE *et al.*, 2007; CARVALHO-FILHO; SALVIANO, 1982; LIMA, 1996; PIMENTEL *et al.*, 2007). As folhas, frutos e galhos finos são preferencialmente consumidas pelos ruminantes, que rejeitam seletivamente o caule (BAKKE *et al.*, 2007; FORMIGA *et al.*, 2011), apesar da baixa digestibilidade da planta ter sido constatada por Carvalho-Filho e Salviano (1982), que também demonstraram a interferência desse vegetal na digestibilidade de algumas gramíneas.

Não obstante a sua importância como forrageira no semiárido nordestino, a literatura relata casos de malformações congênitas em filhotes de bovinos, caprinos e ovinos após a ingestão da planta pelas fêmeas prenhes (DANTAS *et al.*, 2010; PIMENTEL *et al.*, 2007; SANTOS; DANTAS; RIET-CORREA, 2012), evidenciando a teratogenicidade da espécie. Vale ressaltar que essa planta tem seu estágio de brotação no início do período chuvoso no Nordeste, combinando com o período de reprodução das cabras (PIMENTEL *et al.*, 2007).

Segundo Bezerra (2008), a associação da planta com as malformações congênitas se dá pela alta frequência da doença no semiárido em casos

espontâneos, bem como por reprodução experimental mediante a administração da jurema preta, cujo mecanismo de ação ainda não é conhecido.

Associadamente, a jurema preta tem sua importância na cultura popular e na medicina tradicional. A planta é ingrediente na fabricação de uma bebida alucinógena consumida durante rituais indígenas da região Nordeste e de religiões afro-brasileiras (ARRUDA CAMARGO, 2014; SOUZA *et al.*, 2008). Segundo Silva, Santos e Almeida (2010), existem três espécies sendo classificadas como jurema entre esses povos, são elas: *Mimosa hostilis* Benth., reclassificada como *Mimosa tenuiflora* – a jurema preta; *Mimosa verrucosa* Benth.– a jurema mansa; e a *Vitex agnus-castus* L. (Verbenaceae) – a jurema branca ou liamba.

Apesar das informações acerca do uso da jurema em cultos afro-brasileiros e povos indígenas serem escassas e mantidas em sigilo por esses grupos (SOUZA *et al.*, 2008), há relatos na literatura de que as folhas desse vegetal são utilizadas no preparo da bebida consumida no ritual Toré dos Potiguara (Litoral Norte da Paraíba) (SOUSA; NASCIMENTO, 2011) e de rituais de umbanda e candomblé (ARRUDA CAMARGO, 2014). Além disso, Tromboni (2012) relata o uso das folhas da espécie na fabricação de uma bebida feita com sua infusão em cachaça, ofertada ao “caboclo” nas festas culturais em Salvador.

Adicionalmente, a espécie é ainda empregada para fins medicinais, destacando principalmente o uso do caule e da raiz, devido aos metabólitos presentes nessas partes do vegetal (AGRA *et al.*, 2008; CORDEIRO; FÉLIX, 2014; GOMES; BANDEIRA, 2012; PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2014). Porém, as folhas de *M. tenuiflora* são também bastante utilizadas, principalmente na forma de banhos e lavagens contra úlceras externas (AGRA *et al.*, 2008; AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007), além de serem referidas na literatura para alívio de dentalgia (uso tópico) (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002), assim como no tratamento de queimaduras, acne e problemas de pele (MAIA, 2004 apud BEZERRA *et al.*, 2009; BEZERRA *et al.*, 2011; SILVEIRA; MAIA; COELHO, 2012).

Devido a importância da jurema preta na dieta animal no semiárido nordestino, muitos estudos para essa espécie são direcionados ao potencial forrageiro e valor nutricional de suas folhas, visto que são fatores de interferência na produção pecuária (BEZERRA, 2008). E, mais recentemente, tem-se relatado o potencial tanífero da casca do seu caule para a produção de taninos nos diversos usos industriais oferecidos, como na indústria de petróleo, de couros e peles, e no

tratamento de água residuais e de abastecimento (AZEVÊDO *et al.*, 2017; PAES *et al.*, 2006).

Compostos de extratos vegetais podem conter agentes naturais mutagênicos e carcinogênicos, evidenciando a importância de determinar os riscos no uso medicinal desses extratos (LUZ *et al.*, 2012). Todavia, trabalhos envolvendo os componentes e efeitos tóxicos no uso medicinal da *M. tenuiflora* reportam majoritariamente às raízes e ao caule, uma vez que essas são as partes mais citadas para a cura de enfermidades. Poucos estudos avaliaram o extrato foliar, bem como os efeitos citotóxicos e genotóxicos de *M. tenuiflora*, apesar da importância econômica, cultural e medicinal desse vegetal no semiárido nordestino.

Silva *et al.* (2013) avaliaram o potencial tóxico do extrato etanólico da casca dessa planta usando teste de Ames e o teste de micronúcleo, mas não observaram qualquer efeito mutagênico; no entanto, caracterizaram um efeito antimutagênico o qual pode estar relacionado com a abundância de taninos presentes na casca da jurema preta. Adicionalmente, 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.

Santos (2017) realizou testes de citogenotoxicidade e anticitogenotoxicidade com o extrato aquoso foliar da *M. tenuiflora*, revelando ação tóxica e potencial citotóxico e mutagênico em diferentes concentrações. Paralelamente, ações antitóxicas, anticitotóxicas e antimutagênicas nas diferentes concentrações testadas também foram sugeridas. Vale ressaltar que o tipo de solvente utilizado na extração reflete na composição do extrato resultante. Dessa forma, os compostos biologicamente ativos presentes no extrato aquoso diferem daqueles presentes no etanólico (PANDEY; TRIPATHI, 2014).

Extratos etanólicos possuem uma maior quantidade de polifenois em comparação aos extratos aquosos, além disso, a diluição do etanol em até 30% de água (etanol 70%) facilta a penetração do etanol através da parede celular, possibilitando a extração de ingredientes intracelulares do material vegetal pela interação com compostos orgânicos ou saturados existentes (TIWARI *et al.*, 2011). Extratos aquosos extraem principalmente antocianinas, amido, taninos, sapotinas, terpenoides, polipetideos e lectinas, enquanto que extratos etanólicos extraem principalmente taninos, polifenois, poliacetilenos, flavonoides, terpenoides, esteroides e alcaloides (PANDEY; TRIPATHI, 2014).

Em suma, a composição diferenciada de fitoconstituintes resultante do método de extração, bem como do tipo de solvente escolhido, justificam a utilização de diferentes tipos de extratos nos testes toxicológicos de materais vegetais, a fim de associar os efeitos gerados aos fitoconstituintes cabíveis.

.

O potencial genotóxico das plantas medicinais e o sistema- teste *Allium cepa* L.

Apesar do potencial curativo das plantas ser conhecido desde a antiguidade, seu uso tradicional não garante a segurança e eficácia no uso medicinal e, ao longo do tempo, foi possível observar que determinadas plantas apresentam substâncias potencialmente perigosas. O interesse nas propriedades medicinais como objeto de estudos tem estimulado a busca pelo conhecimento do metabolismo secundário das plantas, dada a sua relação com a síntese de grande parte dos compostos vegetais com atividades biológicas (BEZERRA, 2008).

Os metabólitos secundários, também nomeados de “princípios ativos”, não são essenciais para a manutenção da vida vegetal; no entanto, fornecem certas vantagens, como a atuação no sistema de defesa pela produção de substâncias tóxicas contra herbívoros e patógenos, por exemplo (CHAVES, 2012; GURIB-FAKIM, 2006; OLIVEIRA, 2011). Sua síntese é influenciada por diversos fatores e a expressão genética dessas substâncias é resultante da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Como consequência, existe uma surpreendente variedade de metabólitos secundários presentes nas plantas, muitos desses de interesse comercial para setores alimentícios e agronômicos, ou com potencialidade para uso na síntese de produtos terapêuticos (CHAVES, 2012).

É certo que a maioria das plantas medicinais contém várias substâncias altamente complexas, sendo elas complementares ou sinérgicas, podendo agir de forma variada e simultânea no sistema fisiológico e desencadear reações adversas (NASRI; SHIRZAD, 2013; TUROLLA; NASCIMENTO, 2006). Além disso, é crescente o número de evidências associando a exposição a agentes químicos de

organismos vegetais com várias doenças e alterações metabólicas prejudiciais ao homem (VARANDA, 2006).

Juntamente com as propriedades benéficas existentes nos extratos vegetais, componentes químicos com atividades mutagênicas, teratogênicas e/ou carcinogênicas podem também estar presentes (FERREIRA *et al.*, 2009). Esses compostos genotóxicos são capazes de interagir com a molécula de DNA, ocasionando danos genéticos sérios (CHRISTOFOLETTI, 2008; VARANDA, 2006), tornando necessário identificar os efeitos genotóxicos/mutagênicos para avaliação do risco/benefício das plantas medicinais, por meio de testes de toxicidade.

O bioensaio é uma etapa importante na avaliação das ações genotóxicas dos extratos vegetais, devendo ser priorizados nas etapas iniciais os testes *in vitro* e *in vivo* em modelos vegetais sobre aqueles *in vivo* em modelos animais, baseando-se em razões científicas, econômicas e éticas (GURIB-FAKIM, 2006). Além disso, os materiais vegetais provaram ser úteis como sistemas de testes relevantes a curto prazo na pesquisa básica para o monitoramento ambiental e avaliação de efeitos dos produtos químicos (FISKESJÖ, 1985) e, recentemente, vêm ganhando destaque em avaliações dos efeitos de extratos vegetais visando a detecção da genotoxicidade (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

Dentre os bioensaios, destaca-se o sistema-teste *Allium cepa* L., sendo um método de avaliação das alterações cromossômicas no sistema radicular da cebola considerado eficiente na análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade, validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999).

Em geral, os sistemas-teste de plantas são fáceis de manipular e armazenar, possuem baixo custo e boa correlação com outros sistemas-testes. Conjuntamente, a espécie *A. cepa* possui cromossomos caracteristicamente grandes e em número reduzido ($2n$=16), rápido crescimento radicular, grande número de células em divisão e resposta a substâncias mutagênicas conhecidas (EGITO *et al.*, 2007; FISKESJO, 1985). Esse bioensaio se mostra eficiente para testes de mutagenicidade e antimutagenicidade, pois as raízes crescem em contato direto com a substância de interesse (efluente, toxina, compostos químicos, entre outros) e estão em constante divisão mitótica, permitindo a identificação de efeitos tóxicos e alterações que ocorrem ao longo do ciclo celular (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012).

O índice mitótico e o índice de replicação são utilizados como indicadores de proliferação celular adequada (GADANO *et al.*, 2002). Dessa forma, este bioensaio possibilita a avaliação do potencial tóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico da substância de interesse por meio de observações quanto a integridade do ciclo celular e dos cromossomos. A ação tóxica é avaliada mediante o índice de germinação (IG) e crescimento radicular (VCMR), a ação citotóxica pelo do índice mitótico (IM); a genotoxicidade por meio do estudo das alterações cromossômicas (AC) e a mutagenicidade pela presença de micronúcleos (MN) e quebras cromossômicas (QC) (LEME; MARIN-MORALES, 2009; TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012).

Diante do exposto acima, o bioensaio com *A. cepa* é um teste rápido e sensível para detectar genotoxinas e mutágenos, sendo utilizado na avaliação de extratos de plantas (FACHINETTO; TEDESCO, 2009; FACHINETTO *et al.*, 2007; LUZ *et al.*, 2012; NEVES *et al.*, 2014; ROBERTO *et al.*, 2016; STURBELLE *et al.*, 2010), agrotóxicos (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; KRÜGER, 2009), bem como qualidade e monitoramento de águas (ATHANÁSIO; PRÁ; RIEGER, 2014; BUSCHINI *et al.*, 2004; CHRISTOFOLETTI, 2008; EGITO *et al.*, 2007; LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e processamento do material vegetal de *Mimosa tenuiflora*

Os ramos foliares de *M. tenuiflora* foram coletados no *Campus* de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) (S 09°19’35.4”; W 040°32’38.9”), Petrolina-PE, em outubro de 2017. Exsicatas foram preparadas e depositadas no Herbário do Trópico Semiárido (HTSA) (Embrapa Semiárido, Petrolina-PE), sob tombamento nº 6901.

O material coletado foi lavado em água corrente e, posteriormente, em água destilada. Em seguida, o material vegetal foi exposto a 50 °C na estufa para secagem, por um período de 24 horas. Após a limpeza e secagem, os ramos foliares foram triturados em um liquidificador para obtenção de um material com aspecto de pó fino ou “farinha”. As folhas da jurema preta são de morfologia recomposta, ou seja, consistem em folhas compostas de folíolos também compostos (VIDAL; VIDAL, 2009); dessa forma, o material triturado para o preparo do extrato etanólico era formado por folíolos, pecíolos, peciólulos e ráquis.

Obtenção do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora*

No laboratório de Bioquímica, pertencente ao Núcleo de Ecologia Molecular (NECMOL)/ Centro de Manejo de Fauna da Caatinga (CEMAFAUNA)/UNIVASF, a “farinha” obtida (68,69 g) foi submersa em solvente etanol 80%, na proporção 1:20 (g/mL) e submetida à agitação magnética a 45 °C no banho-maria por três horas. Em seguida, foram feitas as filtrações: a solução passou por peneira de pano e por filtração em funil de Buchner com placa de vidro sinterizada 3G, com bomba a vácuo. O filtrado resultante foi concentrado à 45 °C, em evaporador rotativo à baixa pressão, até a evaporação total do etanol. O material concentrado foi mantido sob refrigeração (-20 °C), liofilizado e conservado a Temperatura Ambiente (TA) até o momento da dissolução para montagem do experimento.

Para a dissolução do extrato bruto da jurema preta foram testados dois solventes: água ultrapura e Tween 20, sendo esse último em cinco diferentes concentrações (0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4% e 0,6%). Após a análise da dissolução das partículas, concluiu-se que a melhor dissolução ocorreu na solução testada com Tween 20 a 0,2%, sendo essa usada no experimento *a posteriori*.

Bioensaio com *Allium cepa* L.

Os ensaios genotóxico (etapa I) e antigenóxico (etapa II) foram realizados com o sistema-teste *Allium cepa* no laboratório de Citogenética, pertencente ao NECMOL/CEMAFAUNA, com o intuito de testar cinco concentrações do extrato etanólico de *M. tenuiflora* diluídas em Tween 20 (0,2%). Para isto, o número de 1500 sementes de cebola cultivar "Vale-Ouro" IPA-11 foram germinadas em placas de Petri com papel de filtro umedecidos com 15 mL das concentrações de extrato etanólico (0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL, 1,0 mg/mL, 1,5 mg/mL e 2,5 mg/mL), água ultrapura (controle negativo para ensaios de genotoxicidade e antigenotoxicidade), água ultrapura (a ser transferida para o MMS no ensaio de antigenotoxicidade – controle positivo), Tween 20 (controle solvente), além dos controles positivos, o herbicida trifluralina (0,84 ppm de princípio ativo) e o MMS (Metil Metano Sulfonato, $4x10^{-4}$ Mv), drogas de ação aneugênica (comprometem a disjunção dos cromossomos durante a divisão celular) e clastogênica (promovem quebras no material genético), respectivamente.

Para cada tratamento, o número de 150 sementes foi utilizado (50 sementes/placa; três placas/tratamento) e a germinação ocorreu a temperatura controlada (25 °C) e em local iluminado pela luz solar indireta. As placas correspondentes aos controles positivos foram protegidas da luminosidade a fim de evitar possíveis eventos de fotodegradação.

As sementes a serem utilizadas no ensaio de genotoxicidade permaneceram em exposição aos tratamentos por 72 h. Ao término desse período, vinte raízes foram coletadas, medidas, fixadas em Carnoy (etanol:ácido acético; 3:1; v:v) por 6 a 18 h à TA e, posteriormente, estocadas a -20 ºC até o momento de confecção das

lâminas, com o intuito de avaliar os parâmetros de toxicidade, citogenotoxicidade e mutagenicidade.

As sementes restantes foram transferidas para novas placas contendo 15 mL de MMS para o ensaio de antigenotoxicidade, por 24 h de exposição e sob condições de proteção da luminosidade. Após esse período, vinte raízes foram coletadas, medidas, fixadas e estocadas, para posterior análise dos parâmetros de antitoxicidade, anticitogenotoxicidade e antimutagenicidade. Vale ressaltar que, nessa etapa do experimento, os dois tratamentos com água ultrapura anteriormente preparados passaram por etapas diferentes: no primeiro, as sementes germinadas foram transferidas novamente para água ultrapura (controle negativo para o ensaio de antigenotoxicidade); enquanto que, no segundo, as sementes germinadas foram transferidas para o MMS (controle positivo para antigenotoxicidade; A_{UP} – MMS).

A preparação das lâminas ocorreu de acordo com o procedimento sugerido por Fiskesjö (1985), com adaptações propostas por Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales (2007). As raízes foram lavadas em água destilada e hidrolisadas em HCl 1N a 60 °C por 10 min. Após hidrólise, foram lavadas e coradas com Reativo de Schiff por 2 h em local escuro. Em seguida, os materiais correspondente ao meristema e à região F1 foram dispostos separadamente na mesma lâmina limpa e identificada.

Para contraste celular foi adicionada uma gota de carmim acético (2%) sobre as raízes. Então, o material foi recoberto com uma lamínula e ligeiramente esmagado, de modo a espalhar as células, sem comprometer a sua integridade celular, tornando possível a contagem celular. Em seguida, as lâminas foram flambadas e montadas com Bálsamo do Canadá. Para a confecção das lâminas com a região F1, foram cortadas as regiões das raízes posicionadas a 1 mm acima da região meristemática.

A análise foi feita em microscópio óptico, para a identificação e contagem das anormalidades celulares. O número mínimo de dez lâminas foram preparadas para cada concentração de extrato testada, sendo analisadas 500 células por lâminas para a região meristemática e 500 células para a região F1, totalizando uma contagem de 1000 células por lâmina e 10.000 células por tratamento.

Análise de toxicidade e antitoxicidade

A avaliação da toxicidade foi realizada pelo Índice de Germinação (IG) das sementes e do Valor do Comprimento Médio da Raiz (VCMR), enquanto que o teste de antitoxicidade foi avaliado apenas pelo VCMR. O valor do IG foi 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 médio de 20 raízes.

Análise de citotoxicidade e anticitotoxicidade

As análises da citotoxicidade e anticitotoxicidade foram realizadas através do Índice Mitótico (IM), calculado pelo valor médio (dez lâminas) da razão entre o número de células em divisão observado e o número total de células analisadas multiplicado por 100.

Análise de genotoxicidade e antigenotoxicidade

A avaliação dos efeitos genotóxicos e antigenotóxicos foi realizada por meio da verificação de anormalidades cromossômicas observadas, tais como C-metáfases, poliploidia, aderências cromossômicas, anáfases multipolares, perdas e quebras cromossômicas e micronúcleos em diferentes fases da mitose (prófase, metáfase, anáfase e telófase). O Índice de Alterações Cromossômicas (IAC) foi obtido pelo valor médio (dez lâminas) da razão entre o número de alterações cromossômicas observadas e o número total de células analisadas multiplicado por 100.

Análise de mutagenicidade e antimutagenicidade

A estimativa de mutagenicidade (IMut) foi avaliada pela frequência de micronúcleos encontrados nas células meristemáticas e F1 das raízes expostas aos tratamentos. Este índice é aferido pelo valor médio (dez lâminas) da razão entre o número de células com micronúcleos na F1 e o número total de células analisadas multiplicado por 100.

Delineamento Estatístico

Foram realizados nove tratamentos para o ensaio de genotoxicidade – 1ª etapa (cinco tratamentos com concentrações do extrato foliar de *M. tenuiflora*, um controle negativo, um controle solvente e dois controles positivos). Para o ensaio de antigenotoxicidade – 2ª etapa, foi adicionado um terceiro controle positivo (A_{UP} – MMS), além dos nove tratamentos citados na etapa anterior, totalizando dez tratamentos. A análise das lâminas referente ao material de dez raízes em cada um dos dois ensaios foi feita casualmente, totalizando 10.000 células por tratamento [500 células/região (meristema e F1); 1.000 células/lâmina; 10 lâminas/tratamento].

Os valores de frequência foram transformados usando a fórmula (arcoseno $\sqrt{\%}$) e analisados por meio do programa Statistica (versão 10.0). 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 ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Ensaio Genotóxico (Etapa I)

Para o teste da toxicidade, os tratamentos correspondentes às cinco concentrações do extrato etanólico foliar de *M. tenuiflora* (EEs) mostraram uma redução nos índices de germinação (IGs) das sementes em relação ao controle negativo (CN) (51%), sendo essa redução dose-dependente (21% – 37%), com exceção do EE 2,5 mg/mL (24%), o qual não seguiu tal padrão (Tabela 1). Apesar do decréscimo nos valores de IG não ter acusado significância frente ao CN, as concentrações testadas evidenciam o potencial tóxico do extrato pela interferência na germinação das sementes de *A. cepa*.

A toxicidade do extrato etanólico foi confirmada nos dados da variação do comprimento médio da raiz (VCMR), onde os tratamentos EE 1,0 mg/mL, EE 1,5 mg/mL e EE 2,5 mg/mL reduziram significativamente os valores de VCMR para 0,25 cm, 0,26 cm e 0,29 cm, respectivamente, diante do CN (0,54 cm), bem como mostraram proximidade com o agente aneugênico TRI (0,3 cm) (controle positivo). É possível observar uma relação entre os valores de IG e VCMR, visto que todas as concentrações apontam atividade e/ou potencial tóxico (Tabela 1).

Na avaliação da citotoxicidade, as concentrações referidas acima como tóxicas revelaram significante ação antiproliferativa nas células meristemáticas de *A. cepa*, frente ao CN (18,56%), ressaltando uma redução no índice mitótico (IM) para esses tratamentos [EE 1,0 mg/mL (5,99%), EE 1,5 mg/mL (4,59%) e EE 2,5 mg/mL (4,96%)] (Tabela 1). Esses dados sugerem a presença de substâncias e/ou interações entre elas como responsáveis pela citotoxicidade apresentada pelo extrato etanólico foliar da espécie em questão.

Para a genotoxicidade, o índice de alterações cromossômicas (IAC) das concentrações testadas mostrou-se similar ao valor apresentado pelo CN (0,20%), não revelando ação genotóxica para o extrato. Os valores do IAC dos EEs não diferiram entre si, variando de 0,23% (EE 0,25 mg/mL) a 0% (EE 1,5 mg/mL), mas divergiram do agente clastogênico MMS (2,99%) (controle positivo). Adicionalmente, o teste de mutagenicidade não ressaltou ação mutagênica para as diferentes

concentrações do extrato, sendo a frequência de MN na região F1 da raiz nula para todos os tratamentos (Tabela 1).

O tratamento com o Tween foi utilizado para fins comparativos, com o intuito de anular a presença de efeitos tóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico do solvente, o que poderia interferir na ação dos extratos. Os resultados mostraram uma redução nos valores de IG (30%), VCMR (0,41 cm) e IM (8,3%) que, apesar de não evidenciar significância frente ao CN, sugere um potencial tóxico e citotóxico para esse solvente. Entretanto, para as variáveis IAC (0,28%) e Imut (0,02%), os valores entre os controles CS e CN foram semelhantes, descartando uma ação e/ou potencial genotóxico e mutagênico (Tabela 1). Assim, as diferenças ocasionadas pelo Tween nas variáveis testadas devem ser consideradas nos tratamentos com o extrato, uma vez que uma interação entre ambos pode ter ocorrido.

Comparando os resultados obtidos para o tratamento com Tween e para as concentrações do extrato, apenas o EE 1,0 mg/ml (0,25 cm) mostrou divergência frente ao CS para a variável VCMR, reforçando a toxicidade dessa concentração (Tabela 1).

Ensaio Antigenotóxico (Etapa II)

No teste de antitoxicidade, os tratamentos EE 1,0 mg/mL (0,71 cm), EE 1,5 mg/mL (0,58 cm) e EE 2,5 mg/mL (0,48 cm) apresentaram divergências com relação ao controle A_{UP} – MMS (1,07 cm) e ao CN (1,09 cm) para os valores de VCMR, enquanto que o CS (0,87 cm) também diferiu significativamente das duas maiores concentrações testadas (Tabela 2). Considerando a diferença de crescimento entre a etapa I e a etapa II para as raízes correspondentes ao CN (0,55 cm), observa-se que as concentrações testadas tiveram essa diferença reduzida após a exposição ao MMS [EE 0,25 mg/mL (0,5 cm), EE 0,5 mg/mL (0,44 cm), EE 1,0 mg/mL (0,46 cm), EE 1,5 mg/mL (0,32 cm), EE 2,5 mg/mL (0,19 cm)] (Tabelas 1 e 2).

Para o teste anticitotóxico, os valores das concentrações EE 1,5 mg/mL (13,44%) e EE 2,5 mg/mL (14,17%) apresentaram redução no IM, diante dos controles A_{UP} – MMS (16,85%), CN (18,28%) e CS – MMS (17,44). Em termos gerais, observou-se um aumento no IM para todas as concentrações do extrato, bem

como para o CS, após a exposição ao MMS, enquanto que o CN não registrou oscilação para essa variável durante o mesmo período de tempo.

Para os valores de IAC, a proximidade entre os resultados dos tratamentos EE 0,25 mg/mL (2,55%), EE 0,5 mg/mL (2,55%) e EE 2,5 mg/mL (2,33) e o controle A_{UP} – MMS (2,28%), assim como a consequente divergência com o CN (0,35%), negam a ação antigenotóxica dessas concentrações e sugerem interação entre o extrato, o Tween e o MMS, o que pode ter elevado os valores de IAC dos EEs acima do valor para o controle positivo. No entanto, o EE 1,0 mg/mL (1,17%) mostrou redução significativa frente ao CS – MMS (2,6), indicando um potencial antigenotóxico para essa concentração. Adicionalmente, a similaridade estatística nos dados de MN nas células F1, negam a ação antimutagênica para o extrato da jurema preta (Tabela 2).

Dentre as alterações cromossômicas observadas, os micronúcleos, brotos nucleares, pontes, quebras e perdas cromossômicas registraram uma maior frequência, apesar de C-metáfases, células binucleadas e telófases multipolares também terem sido visualizadas nesse trabalho (Figura 2).

Tabela 1: Etapa I – Avaliação tóxica, citogenotóxica e mutagênica em células meristemáticas e da F1 de *Allium cepa* L., sob influência de diferentes concentrações do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora*.

Tratamentos	IG (%)	VCMR (cm)	IM (%)	IAC (%)	Imut (%)
CN	51%	0,54 ± 0,24	18,56 ± 2,22	0,20 ± 0,18	0 ± 0
CS (Tween 20)	30%	0,41 ± 0,13	8,3 ± 1,57	0,28 ± 0,24	0,02 ± 0,05
MMS	52%	0,58 ± 0,18	17,71 ± 4,11	2,99 ± 1,51[1]	0,02 ± 0,06
TRI	39%	0,3 ± 0,13[1,3]	6,01 ± 2,77[1,3]	0,84 ± 0,5	0 ± 0
EE 0,25 mg/mL	37%	0,42 ± 0,15	9,45 ± 1,77	0,23 ± 0,2[3]	0 ± 0
EE 0,5 mg/mL	32%	0,4 ± 0,17	9,73 ± 1,63	0,18 ± 0,23[3]	0 ± 0
EE 1,0 mg/mL	24%	**0,25 ± 0,11**[1,2,3]	**5,99 ± 2,26**[1,3]	0,09 ± 0,13[3]	0 ± 0
EE 1,5 mg/mL	21%	**0,26 ± 0,11**[1,3]	**4,59 ± 1,04**[1,3]	0 ± 0[3]	0 ± 0
EE 2,5 mg/mL	24%	**0,29 ± 0,13**[1,3]	**4,96 ± 1,61**[1,3]	0,17 ± 0,22[3]	0 ± 0

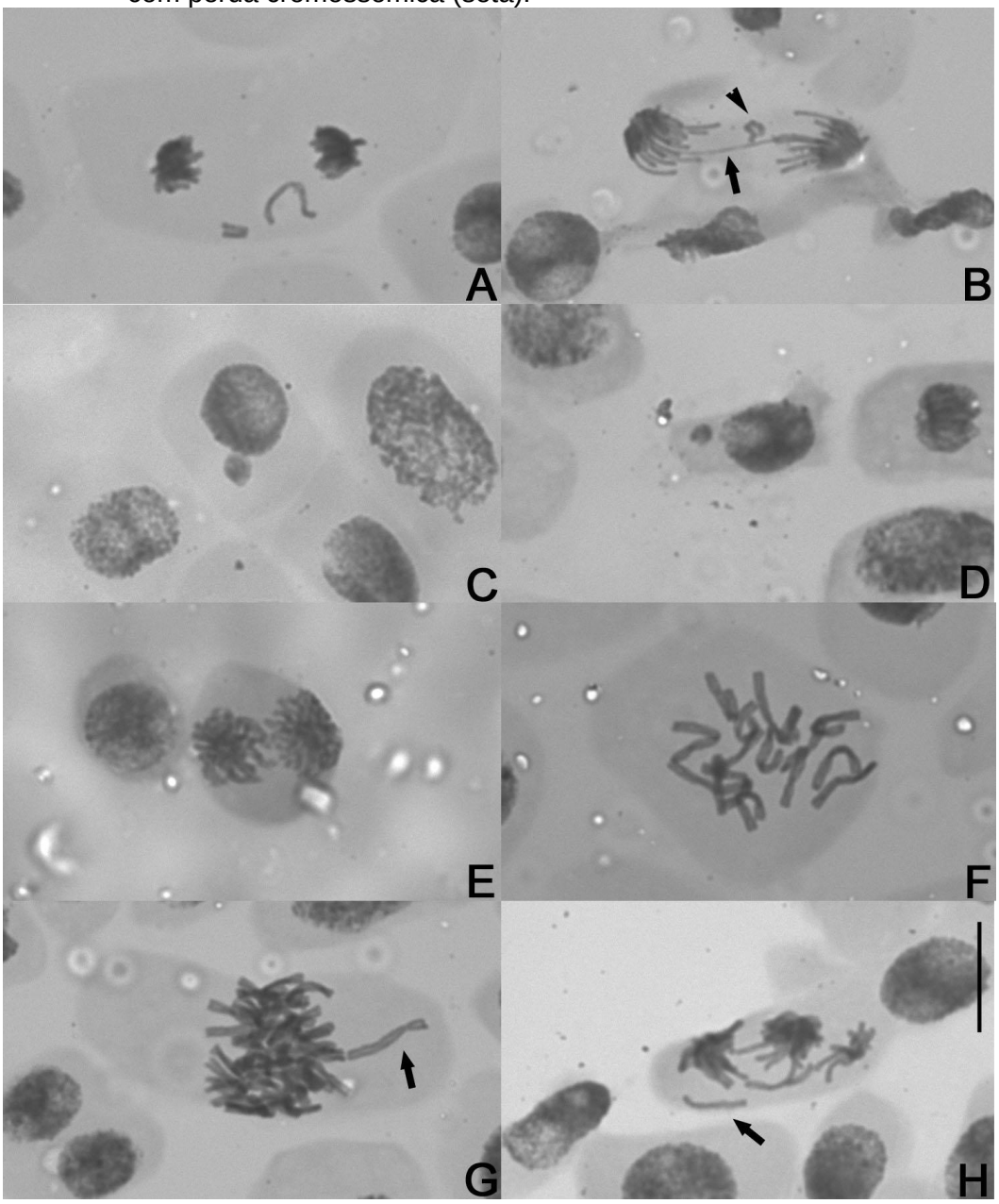
Legenda: CN (Controle negativo); CS (Controle Solvente); MMS (Metilmetanosulfonato); TRI (Herbicida Trifuralina); EE (Extrato Etanólico); IG (Índice de Germinação); VCMR (Variação do Comprimento Médio da Raiz); IM (Índice Mitótico); IAC (Índice de Alterações Cromossômicas) e Imut (Índice de Mutagenicidade). Valores correspondentes a média da frequência ± desvio padrão. [1]. Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao controle negativo. [2]. Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao Tween. [3]. Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao MMS.

Tabela 2: Etapa II – Avaliação antitóxica, anticitogenotóxica e antimutagênica em células meristemáticas e da F1 de *Allium cepa* L., sob efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora*.

Tratamentos	VCMR (cm)	IM (%)	IAC (%)	Imut (%)
CN	1,09 ± 0,12	18,28 ± 2,19	0,35 ± 0,19	0 ± 0
CS – MMS	0,87 ± 0,19	17,44 ± 1,81	2,6 ± 0,25[1]	0,04 ± 0,08
A_{UP} – MMS	1,07 ± 0,14	16,85 ± 2,3	2,28 ± 0,72[1]	0,06 ± 0,09
MMS – MMS	1,08 ± 0,14	17,74 ± 1,94	3,11 ± 0,59[1]	0,08 ± 0,10
TRI – MMS	0,6 ± 0,11[1,2,3,4]	17,49 ± 2,11	3,03 ± 0,46[1]	0,06 ± 0,10
EE 0,25 mg/mL – MMS	0,92 ± 0,17	17,64 ± 1,47	2,55 ± 0,6[1]	0,06 ± 0,09
EE 0,5 mg/mL – MMS	0,84 ± 0,16	17,45 ± 2,04	2,55 ± 0,39[1]	0,02 ± 0,06
EE 1,0 mg/mL – MMS	**0,71 ± 0,19[1]**[,3,4]	15,10 ± 1,44[1,3]	**1,17 ± 0,17**[2,3]	0,02 ± 0,06
EE 1,5 mg/mL – MMS	**0,58 ± 0,2**[1,2,3,4]	**13,44 ± 0,8**[1,2,3,4]	1,5 ± 0,3[3]	0 ± 0
EE 2,5 mg/mL – MMS	**0,48 ± 0,16**[1,2,3,4]	**14,17 ± 1,09**[1,2,3,4]	2,33 ± 0,5[1]	0 ± 0

Legenda: A_{UP} (Água Ultrapura); CN (Controle negativo); CS (Controle Solvente) MMS (Meti Metano Sulfonato); TRI (Herbicida Trifuralina); EE (Extrato Etanólico); 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 a média da frequência ± desvio padrão. [1] Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao controle negativo. [2] Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao CS – MMS. [3] Significativo a 5% de probabilidade em comparação ao MMS – MMS. [4] Significativo a 5% de probabilidade em comparação a A_{UP} – MMS .

Figura 2: Alterações cromossômicas observadas em células meristemáricas de *Allium cepa* L., utilizadas como parâmetros de genotoxicidade e antigenotoxicidade do extrato etanólico de *Mimosa tenuiflora*. **A.** Telófase com perda cromossômica. **B.** Anáfase com ponte (seta) e perda cromossômica (cabeça de seta). **C.** Broto nuclear. **D.** Micronúcleo. **E.** Célula binucleada. **F.** C-metáfase. **G.** Célula poliploide com perda cromossômica (seta). **H.** Telófase multipolar com perda cromossômica (seta).



DISCUSSÃO

Os testes de toxicidade têm sido apontados como ensaios iniciais para a avaliação do potencial terapêutico de compostos químicos vegetais, uma vez que permite a identificação dos efeitos danosos de uma dada substância em diferentes níveis de concentração e tempos de exposição. Dentre os organismos testes recomendados por diferentes agências ambientais, o bioensaio com *Allium cepa* mostra-se eficiente para estudar efeitos tóxicos, citogenotóxicos e mutagênicos de extratos vegetais, ao passo que as raízes entram em contato direto com a substância testada, permitindo a avaliação em diferentes concentrações (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007; OLIVEIRA; ROMÃO, 2015).

No presente trabalho, foi evidenciado a ação tóxica e citotóxica do extrato etanólico foliar da *Mimosa tenuiflora*, o qual não apresentou atividade genotóxica e mutagênica. A toxicidade e citotoxicidade estão relacionadas com a capacidade de compostos químicos entrarem nas células através da membrana plasmática (toxicidade) e estimularem ou inibirem o ciclo celular, levando ou não a apoptose (citotoxicidade). No início do desenvolvimento vegetal, momento em que ocorre vários processos fisiológicos importantes, a presença de compostos tóxicos influenciam na germinação da semente e no crescimento da raiz mediante uma toxicidade mais aguda, a qual pode inativar a germinação, bem como uma interferência na divisão celular meristemática e, consequente, retardo no processo de alongamento das raízes (HÉRNANDEZ, 2008). Ambas as situações podem justificar o potencial tóxico sugerido diante dos dados de IG, bem como a toxicidade do extrato confirmada pelos valores de VCMR visualizados no presente trabalho.

O índice mitótico (IM) mede a relação de células em mitose e em interfase. Sua redução pode ser consequência de apoptose ou do atraso na cinética de proliferação celular, o qual impede o início da divisão nuclear (OLIVEIRA; ROMÃO, 2015; ROJAS *et al.*, 1993), enfatizando assim a atividade citostática e citotóxica de agentes com capacidade de interação com o DNA (ROJAS *et al.*, 1993). Dessa forma, no presente trabalho, a citotoxicidade apresentada pelas concentrações EE 1,0 mg/mL, EE 1,5 mg/mL e EE 2,5 mg/mL, bem como o potencial citotóxico evidenciado pelas demais concentrações testadas, cujos valores de IM também se

mostraram reduzidos, sugere que a exposição ao extrato levou a distúrbios no ciclo celular, havendo uma diminuição no número de células em divisão mitótica.

A capacidade antiproliferativa/citotóxica já foi relatada para extratos de diversas partes de espécies medicinais utilizando o bioensaio *A. cepa*, entre elas o látex de *Harconia speciosa* Gomes (mangabeira) (RIBEIRO *et al.*, 2016), as inflorescências de *Achyrocline satureioides* D.C. (marcela) (FACHINETTO *et al.*, 2007), o fruto e a folha de *Punica granatum* L. (romazeira) (OLIVEIRA *et al.*, 2010) e os ramos de *Baccharis trimera* (Less) A.P. de Candolle. e *B. articulata* (Lam.) Pers. (Carqueja e carquejinha, respectivamente) (FACHINETTO; TEDESCO, 2009).

A diminuição do IM, por sua vez, está atrelada a baixa frequência de alterações cromossômicas observada para as diferentes concentrações do extrato testada, refletindo assim a ausência de ação genotóxica e mutagênica para o mesmo. De fato, para que a ação de substâncias tóxicas propicie o acúmulo de alterações a nível de DNA/cromatina e mecanismos de reparo, e consequentemente a genotoxicidade e mutagenicidade, é necessário que esses compostos não causem citotoxicidade de forma excessiva (HARTMANN *et al.* 2003), visto que uma dimuição drástica no número de células em divisão prejudicará a observação das alterações cromossômicas.

Os efeitos tóxicos e citotóxicos do extrato etanólico foliar da jurema preta podem ser resultantes da ação de compostos bioativos presentes na constituição química desse extrato, a exemplo de taninos hidrolisados e condensados, várias classes de flavonoides, como flavonóis, flavanonas, flavononois e xantonas, além de esteroides livres e triterpenoides, conforme descrito por Bezerra *et al.* (2011). Tais fitoconstituintes foram associados as atividades terapêuticas conferidas a este vegetal, a exemplo da atividade antimicrobiana e antiviral (BEZERRA *et al*., 2009; BORGES *et al*., 2017; CRUZ 2013), cujos mecanismos de ação devem estar relacionados ao efeito citotóxico revelado para o extrato, o qual pode interferir diretamente na proliferação de microorganismos.

Além da ação antimicrobiana e antiviral, a atividade cicatrizante e anti-inflamatória foram relacionadas com a presença de taninos nos vegetais, compostos fenólicos que se caracterizam, entre outros fatores, por possuírem alta capacidade de complexação com outras macromoléculas, agindo como camadas protetoras sobre tecidos epiteliais lesionados (MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005). Esta atuação justifica a indicação da jurema preta na medicina tradicional para

banhos e lavagens contra úlceras externas, queimaduras, acne e problemas de pele (MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005).

Adicionalmente, os taninos são referidos como inibidores de germinação em plantas (TEIXEIRA *et al.*, 2003), devido ao potencial alelopático ocasionado por essa capacidade de formação de complexos, conferindo-lhes atividades tóxicas (MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005). Em experimentos realizados com o extrato aquoso foliar de *M. tenuiflora*, as maiores concentrações testadas reduziram significativamente o IG em sementes de alface (SILVEIRA; MAIA; COELHO, 2012) e o VCMR em raízes de cebola (SANTOS, 2017); entretanto, todas as concentrações registraram interferência negativa em ambas as variáveis. Assim, considerando que estes compostos estão presentes tanto no extrato aquoso como no extrato etanólico da jurema preta (BEZERRA *et al.*, 2011; OLIVEIRA, 2011), sugere-se que a toxicidade visualizada no presente trabalho possa ser resultante da ação dos mesmos.

Em se tratando dos flavonoides, uma série de propriedades terapêuticas de plantas medicinais foi atribuída a estes compostos, como antioxidante, anti-inflamatória, antiviral e antitumoral. Várias classes desses compostos já foram descritas como citotóxicos em testes *in vitro* utilizando linhagens de células tumorais (MILITÃO, 2005). Além disso, diversas classes de triterpenoides vegetais, as quais apresentam ação analgésica, também foram avaliadas em ensaios citogenotóxicos e os resultados apontam para inibições na proliferação do DNA (SETZER; SETZER, 2003). Diante do exposto, a interferência na divisão celular ocasionada pela jurema preta pode estar associada a presença de compostos citotóxicos, como taninos, flavonoides e triterpenoides e/ou da interação entre eles.

Entre esses compostos, os taninos e os flavonoides aparecem na composição química de várias plantas medicinais avaliadas positivamente para a citotoxicidade, pelo declínio no IM das células meristemáticas de *A. cepa*, como *Psidium guajava* L., *Achillea millefolium* L., *Achirocline satureoides* D.C., *Baccharis trimera* (Less) A.P. de Candolle e *B. articulata* (Lam.) Pers. (FACHINETTO *et al.*, 2007; FACHINETO; TEDESCO, 2009; TEIXEIRA *et al.*, 2003). Teixeira *et al.* (2003) observaram que esse declínio era reversível para os extratos de *P. guajava* e *A. millefolium*, uma vez que o valor do IM aumentou após um período de recuperação de 24 h em água. Os autores atribuíram essa reversibilidade do IM à necessidade de

exposição continua aos taninos presentes no extrato para a continuação da ação citotóxica.

Esta ação tóxica e citotóxica dos taninos, flavonoides e triterpenoides, atuando isoladamente ou em conjunto, pode estar associada a malformações congênitas, perda embrionária e abortos em caprinos, ovinos e bovinos, como consequência da ingestão de *M. tenuiflora* (DANTAS, 2009; SANTOS; DANTAS; RIET-CORREA, 2012). Apesar da maior relação entre a ocorrência de defeitos congênitos e a genotoxicidade e mutagenicidade de substâncias (FLORES; YAMAGUCHI, 2008), alguns autores indicaram a inibição da síntese do DNA como o processo bioquímico inicial das malformações congênitas, bem como afirmaram que a taxa e o tipo de malformação poderiam se correlacionar com o grau e duração da interferência na síntese do DNA (SCOTT, RITTER; WILSON, 1971), mecanismos de ação dos compostos supracitados.

Outro grupo de princípios ativos tóxicos de vegetais são os alcaloides, os quais já foram associados ao potencial abortivo (DANTAS, 2009; GREEN *et al.*, 2012; SADIK, 2001). Estes compostos foram detectados em um *screening* fitoquímico do extrato aquoso foliar da jurema preta, mas estão ausentes no extrato etanólico (BEZERRA *et al.*, 2011; OLIVEIRA, 2011). Esse fato sugere que os alcaloides, apesar de contribuírem para a toxicidade dessa pla nta, não foram responsáveis pela ação tóxica relatada nesse trabalho.

No ensaio antigenotóxico (etapa II), quanto aos parâmetros de VCMR e IM, a similaridade entre os valores obtidos para os controles A_{UP} – MMS (positivo) e CN revela que o agente MMS não alterou o comprimento da raiz nem o índice de divisão celular (Tabela 02), similarmente ao observado no ensaio de genotoxicidade (Tabela 01). Dessa forma, era esperado que o MMS permitisse o desenvolvimento da raiz e, consequentemente, a divisão celular para evidenciar sua ação genotóxica posterior, a qual foi observada pelo aumento do IAC em ambos os ensaios.

Paralelamente, comparando-se os valores de VCMR das concentrações do extrato e os controles, o teste de antitoxicidade revelou divergência entre as maiores concentrações do EE e os controles A_{UP} – MMS, CN (EE 1,0 mg/mL; EE 1,5 mg/mL e EE 2,5 mg/mL) e CS – MMS (EE 1,5 mg/mL e EE 2,5 mg/mL). Em todas as três concentrações notou-se uma redução do VCMR, fato que aliado a ausência da ação do MMS discutido anteriormente, sugere uma ação tóxica contínua do extrato sobre

as raízes nas 24 h seguintes, mesmo quando essas já estavam em contato com o MMS.

O teste de anticitotoxicidade poderia constatar uma capacidade de proteção, visto que minimizou o IM nos tratamentos EE 1,5 mg/mL e EE 2,5 mg/mL diante dos controles CN e CS – MMS. Nesse caso, a atividade citotóxica estabelecida para a *M. tenuiflora* poderia ter influenciado nesse decréscimo, interferindo na ação proliferativa do MMS. No entanto, o IM obtido (13,44% - 17,64%) é consideravelmente maior do que os valores de IM da etapa anterior (ensaio de genotoxicidade) (4,59% - 9,73%), enquanto que o CN permanece estável entre o mesmo intervalo de tempo, sugerindo o MMS como provável causador desse estímulo na divisão. Sendo assim, não é possível definir um ação protetora/anticitotóxica do extrato frente ao MMS, porém uma interação complexa entre os componentes do EE, o MMS e o solvente Tween é sugerida.

O Tween 20 apresentou genotoxicidade em células de câncer de pulmão e células endoteliais da veia umbilical humana, na mesma concentração testada nesse trabalho (0,2%), causando fragmentação e clivagens no DNA, evidenciadas pelo ensaio de fragmentação do DNA e ensaio cometa, respectivamente (ESKANDANI; HAMISHEHKAR; DOLATABADI, 2013). Considerando que os componentes do extrato etanólico, Tween 20 e MMS estão presentes nos tratamentos EEs, bem como a genotoxicidade atribuída ao Tween 20 e ao MMS, é possível sugerir que o declínio no IAC revelado pelo EE 1,0 mg/mL foi ocasionado pela ação do extrato, enfatizando assim sua ação antigenotóxica por reduzir o índice de alterações cromossômicas nas células meristemáticas de *A. cepa*.

PERSPECTIVAS FUTURAS

De modo geral, a toxicidade e citotoxicidade do extrato etanólico foliar de *M. tenuiflora* foi evidenciada pela diminuição do índice de germinação, variação do comprimento médio das raízes, bem como pela diminuição do índice de divisão celular. Alguns autores correlacionam a capacidade antiproliferativa/citotóxica de plantas medicinais com os medicamentos antineoplásicos utilizados no tratamento anticâncer, uma vez que o mecanismo de inibir a divisão celular é a chave para bloquear a proliferação descontrolada das células cancerosas (CRAGG; NEWMAN, 2005; HISTER *et al.*, 2017; PATIL *et al.*, 2004; ROJAS *et al.*, 1993).

Os metabólitos secundários citados ao longo dessa discussão como citotóxicos e antiproliferativos já são estudados quantos as suas propriedades na inibição do desenvolvimento de células cancerígenas. Os flavonoides, por exemplo, são antioxidantes naturais que podem efetivamente controlar os principais passos do crescimento celular e da diferenciação, regulando o desenvolvimento de toda a planta e órgãos individuais (AGATI *et al.*, 2012). Várias classes de flavonoides já foram avaliadas em diversos experimentos laboratoriais e exibiram atividades farmacológicas e efeitos biológicos como drogas anticancerígenas; conjuntamente, classes de triterpenoides e as protocianidinas (taninos condensados) também demonstraram suas ações citotóxicas contra células cancerígenas (LIU; JIANG; XIE, 2010; MILITÃO, 2005; SETZER; SETZER, 2003).

Tendo em vista que a descoberta de agentes antitumorais a partir de fontes naturais baseava-se principalmente em testes citotóxicos e diante da busca incessante contra agentes capazes de bloquear as vias de desenvolvimento do câncer, é que várias plantas medicinais com capacidades antiproliferativas já são testadas quanto aos seus efeitos contra linhagens celulares tumorais. A *Mimosa tenuiflora* é largamente encontrada na região nordeste e bastante utilizada pela população local como fonte de cura medicinal, o que poderia justificar a necessidade de novos estudos abrangendo suas propriedades farmacológicas, bem como seus possíveis efeitos no combate à proliferação descontrolada das células do câncer.

CONSIDERAÇÕES FINAIS / CONCLUSÕES

✓ A avaliação do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* com o bioensaio com *Allium cepa* L. revelou toxicidade e citotoxicidade para as concentrações 2,5 mg/mL, 1,5 mg/mL e 1,0 mg/mL, cuja ação tóxica prevaleceu por 24 h após a interrupção da exposição ao extrato e submissão ao MMS;

✓ As concentrações testadas do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* não evidenciaram efeitos genotóxicos e mutagênicos nas raízes de *A. cepa;*

✓ O extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* não evidenciou efeito protetor frente ao agente MMS nos testes anticitotóxicos; porém a análise do IAC revelou potencial antigenotóxico para a concentração 1,0 mg/mL;

✓ Os efeitos tóxicos e citotóxicos do extrato etanólico foliar de *Mimosa tenuiflora* foram associados a presença de taninos, flavonoides e triterpenoides, os quais podem atuar isoladamente ou em conjunto na inibição da germinação, na diminuição do comprimento médio das raízes e no declínio do índice de divisão celular em *Allium cepa*;

✓ A citotoxidade do extrato avaliado deve ser melhor investigada, uma vez que a espécie em questão contém fitoconstituintes com comprovada ação antiproliferativa contra linhagens tumorais e pode ser candidata na fabricação de fármacos anticâncer.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AB'SABER, A. N. Sertões e sertanejos: uma geografia humana sofrida. **Estudos avançados**, v. 13, n. 36, p. 7-59, 1999.

AGATI, G. *et al.* Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p. 67-76, 2012.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AGRA, M. F. *et al.* Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**, v. 27, n. 7, p. 336-346, 2002.

ALMEIDA, C. F. C. B. R. *et al.* 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, M. Z. **Plantas medicinais.** 3. ed. Salvador: EDUFBA, 2011.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 26**. 2014.

ARAÚJO, L. V. C. de; 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 & Energia**, v. 1, n. 4, p. 347-352, 2004.

ARRUDA CAMARGO, M. T. L. Contribuição ao estudo Etnofarmacobotânico da bebida ritual de religiões afrobrasileiras denominada “vinho da Jurema” e seus aditivos psicoativos. **Revista do Núcleo de Estudos de Religião e Sociedade (NURES)**, n. 26, 2014.

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.

AZEVÊDO, S. M. A. *et al.* Crescimento de plântulas de jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret) em solos de áreas degradadas da caatinga. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 9, n. 3, 2012.

AZÊVEDO, T. K. B. *et al.* Teor de Taninos Condensados Presente na Casca de Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora*) em Função das Fenofases. **Floresta e Ambiente**, v. 24, 2017.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F. da; TEDESCO, S. B. 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. 444-7, 2007.

BAKKE, I. A. *et al.* Forage yield and quality of a dense thorny and thornless " jurema-preta" stand. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 3, p. 341-347, 2007.

BAKKE, I. A. *et al.* Regeneração natural da jurema preta em áreas sob pastejo de bovinos. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 3, 2006.

BARBOSA, H. A.; HUETE, A. R.; BAETHGEN, W. E. A 20-year study of NDVI variability over the Northeast Region of Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 67, n. 2, p. 288-307, 2006.

BEZERRA, D. A. C. *et al.* 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. *et al.* 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.

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) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – PB, 2008.

BORGES, I. V. *et al.* Identificação da fração antimicrobiana do extrato da *Mimosa tenuiflora.* **Comunicata scientiae**, v. 8, n. 1, p. 155-164, 2017.

BUAINAIN, A. M.; GARCIA, J. R. Desenvolvimento rural do semiárido brasileiro: transformações recentes, desafios e perspectivas. **Confins. Revue franco-brésilienne de géographie/Revista franco-brasilera de geografia**, n. 19, 2013.

BUCHER, E. H. Chaco and Caatinga – South American arid savannas, woodlands and thickets. In: WALKER, B. H. *et al.* **Ecology of tropical savannas**. Springer, Berlin, Heidelberg, v. 42, p. 48-79, 1982.

BUSCHINI, A. *et al.* Genotoxicity and cytotoxicity assessment in lake drinking water produced in a treatment plant. **Mutagenesis**, v. 19, n. 5, p. 341-347, 2004.

CABRERA, G. L.; RODRIGUEZ, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n. 2, p. 211-214, 1999.

CALIXTO JÚNIOR, J. T.; DRUMOND, M. A. Estrutura fitossociológica de um fragmento de caatinga sensu stricto 30 anos após corte raso, Petrolina-PE, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 2, 2011.

CARVALHO-FILHO, O. M.; SALVIANO, L. M. C. **Evidências de ação inibidora da Jurema-Preta na fermentação" in vitro" de gramíneas forrageiras**. EMBRAPA-CPATSA, 1982.

CHAVES, T. P. **Avaliação sazonal na produção de metabólitos secundários e na atividade antimicrobiana de espécies vegetais do Semiárido brasileiro**. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 2012.

CHRISTOFOLETTI, C. A. **Avaliação dos potenciais citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas de um ambiente lêntico, por meio dos sistemas-teste de *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus***. 118f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro – SP, 2008.

CORDEIRO, J. M. P.; FÉLIX, L. P. Botanical medical knowledge of native species of the Caatinga and spontaneous plants in the Agreste region of the state of Paraíba, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 3, p. 685-692, 2014.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 72-79, 2005.

CRUZ, M. P. **Isolamento e identificação de compostos bioativos em *Mimosa hostilis* Benth.** 205f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal da Bahia, Salvador – BA, 2013.

DANTAS, A. F. M. **Malformações e morte embrionária em ruminantes causadas pela ingestão de *Mimosa tenuiflora* (jurema preta)**. 68f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernabuco, Recife – PE, 2009.

DANTAS, A. F. M. *et al.* Malformações congênitas em ruminantes no semiárido do Nordeste Brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 10, p. 807-815, 2010.

EGITO, L. C. M. *et al.* Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 435-441, 2007.

ESKANDANI, M.; HAMISHEHKAR, H.; DOLATABADI, J. E. N. **Cyto/Genotoxicity Study of Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monolaurate (Tween 20). DNA and cell biology**, v. 32, n. 9, p. 498-503, 2013.

FACHINETTO, J. M.; TEDESCO, S. B. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) AP de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 11, n. 4, p. 360-367, 2009.

FACHINETTO, J. M. *et al.* Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 17, p. 49-54, 2007.

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

FERREIRA, F. G. *et al.* Avaliação de mutagenicidade e antimutagenicidade de diferentes frações de *Pterogyne nitens* (Leguminosae), utilizando ensaio de micronúcleo em *Tradescantia pallida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1A, p. 61-67, 2009.

FISKESJÖ, 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://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB18874>, acesso em: 14 fev. 2018.

FLORES, M.; YAMAGUCHI, M. U. Teste do micronúcleo: uma triagem para avaliação genotóxica. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 3, p. 337-340, 2008.

FORMIGA, L. D. A. S. *et al.* Diâmetro do caule sobre a desidratação, composição química e produção do feno de Jurema preta (*Mimosa tenuiflora* Wild. Poir.). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 1, 2011.

FRANÇA, I. S. X. *et al.* Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista brasileira de enfermagem**, v. 61, n. 2, 2008.

GADANO, A. *et al.* In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant Chenopodium ambrosioides L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 1, p. 11-16, 2002.

GIULIETTI, A. M. *et al.* Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: SILVA *et al.* **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**, p. 48-90, 2004.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GOMES, T. B.; BANDEIRA, F. P. S. de F. The use and diversity of medicinal plants in a quilombola community in Raso da Catarina, Bahia. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 4, p. 796-809, 2012.

GREEN, B. T. *et al.* Piperidine alkaloids: human and food animal teratogens. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 6, p. 2049-2055, 2012.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

HARTMANN, A. *et al.* Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. **Mutagenesis**, v. 18, n. 1, p. 45-51, 2003.

HERNÁNDEZ, R. U. Ensayo de inhibición de la germinación y del alargamiento radicular en semillas de cebolla *Allium cepa* y soya *Glycine max*. In: ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua e suelo – La experiencia en México**, 1ª Ed, p. 285-289, 2008.

HISTER, C. A. L. *et al.* Atividade antiproliferativa e determinação dos compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus sp*.) pelo sistema teste in vivo de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 15, n. 1, 2017.

KRÜGER, R. A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. 43f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) - Universidade Feevale, 2009.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. da. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Editora Universitária UFPE, 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, J. L. S. **Plantas forrageiras das caatingas: usos e potencialidades**. Petrolina: Embrapa – CAPATSA, 44p., 1996.

LIMA, K. D. R. *et al.* Seleção de espécies arbóreas para revegetação de áreas degradadas por mineração de piçarra na caatinga. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 1, 2015.

LIU, H. L.; JIANG, W. B.; XIE, M. X. Flavonoids: recent advances as anticancer drugs. **Recent patents on anti-cancer drug discovery**, v. 5, n. 2, p. 152-164, 2010.

LUZ, A. C. *et al.* Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste in vivo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 4, p. 635-642, 2012.

MAIA-SILVA, C. *et al.* **Guia de plantas visitadas por abelhas na Caatinga**. 1. ed. Fundação Brasil Cidadão, Fortaleza, 2012.

MALINI, M. *et al.* 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.

MILITÃO, G. C. G. **Potencial antitumoral de flavonóides isolados de plantas do Nordeste brasileiro: estudos preliminares da relação estrutura-atividade citotóxica**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 2005.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. **Biomas – Caatinga**. 2014. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>, acesso em: 14 fev. 2018.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892, 2005.

NASRI, H.; SHIRZAD, H. Toxicity and safety of medicinal plants. **Journal of HerbMed Pharmacology**, v. 2, 2013.

NEVES, E. S. B. *et al.* 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.

OLIVEIRA, A. A.; ROMÃO, N. F. Growth inhibition and Pro-apoptotic Action of *Eleusine indica* (L) Gaertn Extracts in *Allium* test. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 8, n. 3, p. 121-127, 2015.

OLIVEIRA, L. B. **Avaliação de atividades farmacológicas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir**. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco. 2011.

OLIVEIRA, L. P. *et al.* Atividade citotóxica e antiangiogênica de *Punica granatum* L., Punicaceae. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 201-207, 2010.

OLIVEIRA, M. Imagem. Disponível em: < http://www.univasf.edu.br/~hvasf/index.php?page=dados>, acesso em: 17 fev. 2018.

PADILHA, I. Q. M. *et al.* Antimicrobial activity of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. from Northeast Brazil against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 45-47, 2010.

PAES, J. *et al.* Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne**, v. 12, n. 3, 2006.

PANDEY, A.; TRIPATHI, S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 5, 2014.

PATIL, S. *et al.* Evaluation of antimitotic activity of *Rotula aquatica* (Lour): A traditional herb used in treatment of cancer. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 42, p. 893-899, 2004.

PEREIRA JÚNIOR, L. R. *et al.* Espécies da caatinga como alternativa para o desenvolvimento de novos fitofármacos. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 4, p. 509-520, 2014.

PIMENTEL, L. A. *et al. 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.

RAHM, D. A guide to perioperative nutrition. **Aesthetic surgery journal**, v. 24, n. 4, p. 385-390, 2004.

RIBEIRO, D. A. *et al.* Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 4, p. 912-930, 2014.

RIBEIRO, T. P. *et al.* Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Hancornia speciosa* latex in *Allium cepa* root model. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 1, p. 245-249, 2016.

ROBERTO, M. M. *et al.* 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.

ROJAS, E. *et al.* Mitotic index and cell proliferation kinetics for identification of antineoplastic activity. **Anti-Cancer Drugs**, v. 4, n. 6, p. 637-640, 1993.

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.

ROQUE, A. A.; LOIOLA, M. I. B. Potencial de uso dos recursos vegetais em uma comunidade rural no semiárido potiguar. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 4, 2013.

SADIK, M. G. *et al.* Antifertility activity of the alkaloidal fraction of *Pergularia daemia*. **J. Med. Sci**, v. 1, p. 217-219, 2001.

SANTOS, C. S. **Avaliação do potencial genotóxico e antigenotóxico do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* (Wlilld.) Poiret mediante bioensaio com *Allium cepa* L.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2017.

SANTOS, J. R. S.; DANTAS, A. F. M.; RIET-CORREA, F. 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.

SCOTT, W. J.; RITTER, E. J.; WILSON, J. G. DNA synthesis inhibition and cell death associated with hydroxyurea teratogenesis in rat embryos. **Developmental biology**, v. 26, n. 2, p. 306-315, 1971.

SETZER, W. N.; SETZER, M. C. Plant-derived triterpenoids as potential antineoplastic agents. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 3, n. 6, p. 540-556, 2003.

SILVA, A. C. O. da; ALBUQUERQUE, U. P. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). **Acta botânica brasilica**, v. 19, n. 1, p. 17-26, 2005.

SILVA, T. M. A.; SANTOS, V. V.; ALMEIDA, A. V.. Etnobotânica Histórica da Jurema no Nordeste Brasileiro. **Etnobiología**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2010.

SILVA, V. A. *et al.* Assessment of mutagenic, antimutagenic and genotoxicity effects of *Mimosa tenuiflora*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 329-334, 2013.

SILVEIRA, P. F.; MAIA, S. S. S.; COELHO, M. de F. B. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. na germinação de *Lactuca sativa* L. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 3, 2012.

SOUSA, R. M. M.; NASCIMENTO, J. M. A jurema no ritual Toré dos potiguara. **Colóquio Internacional Educação e Contemporaneidade**, v. 5, 2011.

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. *et al.* 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.

STURBELLE, R. T. *et al.* Evaluation mutagenic and antimutagenic activity of *Aloe vera* in *Allium cepa* test and micronucleus test in human binucleated lymphocytes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 409-415, 2010.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE I. V., Haywood Dail. Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test. In: **Environmental Contamination**. InTech, 2012.

TEIXEIRA, R. de O. *et al.* Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in in vitro and in vivo assays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003.

TIWARI, P. *et al.* Phytochemical screening and extraction: a review. **Internationale pharmaceutica sciencia**, v. 1, n. 1, p. 98-106, 2011.

TROMBONI, M. A. Jurema das ramas até o tronco: ensaio sobre algumas categorias de classificação religiosa. In: CARVALHO, MR.; CARVALHO, AM., org. **Índios e caboclos: a história recontada.** Salvador: EDUFBA, p. 95-125, 2012.

TROPICOS.ORG. *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. **Missouri Botanical Garden**. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/13036820>, acesso em: 14/02/2018.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de ciências Farmaceuticas basica e aplicada**, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2006.

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

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica – organografia: quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos**. 4. ed. Editora UFV, p. 90, 2009.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine**. 2000.