



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - MODALIDADE LICENCIATURA

Jucimaura Maria de Jesus

Atividade do extrato aquoso proveniente do ritidoma de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne em células de meristemas vegetais

PICOS, PIAUÍ

2014

Jucimaura Maria de Jesus

Atividade do extrato aquoso proveniente do ritidoma de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne em células de meristemas vegetais

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Paula Peron.

PICOS, PIAUÍ

2014

Eu, **Jucimaura Maria de Jesus**, abaixo identificado(a) como autor(a), autorizo a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação abaixo discriminada, de minha autoria, em seu site, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, a partir da data de hoje.

Picos-PI, 30 de junho de 2014.

Jucimaura Maria de Jesus
Assinatura

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

J58a Jesus, Jucimaura Maria de.
Atividade do extrato aquoso proveniente do ritidoma de Hymenaea Stigonocarpa Mart ex Hayne em células de meristemas vegetais / Jucimaura Maria de Jesus. – 2013.
CD-ROM : il; 4 ¼ pol. (32 p.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí. Picos-PI, 2013.
Orientador(A): Profa. Dra. Ana Paula Peron

1. Planta Medicinal. 2. Jatobá-do-Cerrado. 3. Anticitotoxicidade. 4.Divisão Celular I. Título.

CDD 615.9

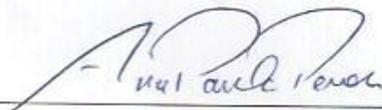
Jucimaura Maria de Jesus

Atividade do extrato aquoso proveniente do ritidoma de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne em células de meristemas vegetais

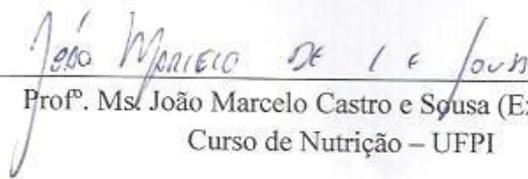
Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Monografia aprovada em 13/03/14

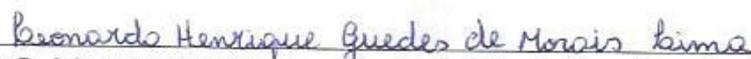
BANCA EXAMINADORA



Profª. Drª. Ana Paula Peron (Orientadora)
Curso de Ciências Biológicas – UFPI



Profª. Ms. João Marcelo Castro e Sousa (Examinador)
Curso de Nutrição – UFPI



Profª. Ms. Leonardo Henrique Guedes de Morais Lima (Examinador)
Curso de Nutrição – UFPI

À minha mãe, que tanto amo, pois, sei que neste momento se sente muito feliz. Dedico essa vitória, ao meu filho Luiz Fillipy, razão de todo meu esforço!!!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar à **Deus** por ter me feito uma das tuas criaturas e sempre ter me dado força e coragem para não desistir.

A minha mãe **Maria Antônia** pelo apoio incondicional e pela confiança, pois sem ela não teria conseguido realizar este sonho... Amo-a!!!

Ao meu filho **Luiz Fillipy** motivo de inspiração, razão do meu esforço, pois neste período de luta fui uma mãe ausente. E mesmo não compreendendo soube ser paciente. Você foi fundamental nesta conquista... Amo-o sempre!!!

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. **Ana Paula Peron** exemplo de sabedoria, pessoa que estimo muito, pela confiança, paciência, apoio e dedicação. Pois, se fez presente sempre... Muito obrigado!!!

Ao meu irmão **João** e minha cunhada **Cleonice** pela colaboração e também pelas críticas, pois tudo isso me fez cada vez mais perseverante.

Ao meu namorado **Joilson** pelo companheirismo, paciência e conselhos no momento certo.

A minha prima e amiga **Maria Silvana** e seu esposo **Quirino** por terem me tornado “filha” de vocês e por ter me deixado ocupar um espaço em sua casa e na família... Sou grata!!!

Aos meus avós maternos, **Antônia** (*In memorian*) e **Cassiano** (*In memorian*), pois sei que de onde quer que estejam sempre olham por mim, me protegendo e guiando, ajudando-me a seguir no rumo certo... Jamais os esquecerei!!!

Ao meu grande amigo **Dorgivaldo Lima**, companheiro de luta, que muito me ajudou, pela amizade, apoio e carinho... Eternamente grata!!!

Aos mestres e colegas de turma pelos ensinamentos e pelas experiências compartilhadas.

A todos que compõem o Núcleo de Pesquisa Aplicada a Saúde e ao Meio-ambiente (NUPBSAM). Em especial, **Geiz, Paula, Ila, Louridânia e Ronielson**, pelo auxílio durante o desenvolvimento do meu trabalho, por sempre estarem dispostos a ajudar, pela paciência e pelo carinho... Agradeço-os!!!

Enfim, aos amigos e amigas pelo apoio e incentivo, e por acreditarem em mim. E a todos que direta e indiretamente contribuíram para esta conquista.

Muito Obrigada!!!

Valeu a pena...

Ir atrás de um sonho,
É mais fácil do que desistir dele!!!
(Autor desconhecido)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Hymeneae stigonocarpa</i> (ritidoma do caule).....	14
Figura 2: <i>Hymeneae stigonocarpa</i> (jatobá-do-cerrado).....	15
Figura 3: <i>Hymeneae stigonocarpa</i> (fruto).....	15

LISTA DE TABELA

Tabela 1: - Número de células em interfase, em diferentes fases da divisão celular e os valores de índice mitóticos obtidos para as células de raízes de *A. cepa* nos Controles Negativo (NEG) e Positivo (POS) tratamentos: Pré-tratamento (PRE), Simultâneo (SIM) e Pós-tratamento (PÓS) das concentrações de 0,082 e 0,164 mg/mL de *H. stigonocarpa*, avaliadas no tempo de exposição de 48 horas.....21

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar a anticitotoxicidade do extrato aquoso proveniente do ritidoma de *H. stigonocarpa* em duas concentrações, 0,082 e 0,164 mg/mL, e em seis formas de tratamento, utilizando a associação das concentrações de extrato aquoso do jatobá-do-cerrado e solução de sulfato de cobre, que são: pré-tratamento, simultâneo e pós-tratamento. Também foram preparados dois controles, um positivo, com sulfato de cobre, e um negativo, com água destilada. Utilizou-se um grupo de cinco bulbos de cebolas para cada tratamento, que primeiramente foram enraizados em água destilada, e em seguida transferidos para os seus respectivos tratamentos. As radículas foram coletadas e fixadas em ácido acético (3:1) por 24 horas. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas comorceína acética a 2%. Analisaram-se células em todo ciclo celular, totalizando 5.000 para cada controle e tratamento utilizados. Os índices mitóticos calculados foram submetidos à análise estatística do Qui-quadrado ($p < 0,05$). A partir dos resultados obtidos pode-se verificar que as duas concentrações testadas, nos três tratamentos utilizados, tiveram um índice mitótico significativamente maior quando comparado aos índices de divisão celular do controle negativo e positivo. Em relação a concentração de 0,082 mg/mL, em todos os tratamentos avaliados, diferiram de forma significativa o índice mitótico entre si. Já para a segunda concentração, de 0,164 mg/mL os índices mitóticos obtidos para o pré-tratamento e tratamento simultâneo não diferiram significativamente entre si, porém, quando confrontados os índices de divisão celular destes dois tratamentos com o índice mitótico obtido para o pós-tratamento verificou-se diferença estatisticamente significativa. Portanto, nas condições analisadas as concentrações de extrato aquoso utilizadas foram citotóxicas ao sistema teste utilizado.

Palavras-chave: Planta medicinal, jatobá-do-cerrado, anticitotoxicidade, divisão celular.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the anticitotoxicidade from the aqueous extract of the bark of *H. stigonocarpa* at two concentrations, 0.082 and 0, 164mg/mL , and three forms of treatment using the combination of the concentrations of the aqueous extract of Jatoba - cerrado and solution of copper sulfate, which are : pre - treatment , simultaneous and post-treatment. Also prepared were two controls, a positive with copper sulfate, and negative, with distilled water. We used a group of five onion bulbs for each treatment that were first embedded in distilled water, and then transferred for their respective treatments. The root tips were collected and fixed in acetic acid (3:1) for 24 hours. The slides were prepared by crushing and stained with 2% acetic orcein. Cells were analyzed throughout the cell cycle, totaling 5,000 for each control and treatment used. The calculated mitotic indexes were subjected to statistical analysis Chi- square test ($p < 0.05$). From the results obtained it can be seen that the two concentrations tested, the three treatments, had a significantly higher mitotic index when compared to the rates of cell division in the negative and positive control. Regarding the concentration of 0.082 mg / mL, in all the treatments differed significantly from each other mitotic index. As for the second concentration of 0.164 mg / mL (Table 1) mitotic indices obtained for the pretreatment and simultaneous treatment did not differ significantly , however, when comparing the rates of cell division these two treatments with mitotic index obtained for post - treatment there was a statistically significant difference . Therefore, under the conditions analyzed the concentrations of aqueous extract used were cytotoxic to the test system used.

Keywords : Medicinal plant , jatoba - do-cerrado , anticitotoxicidade , cell division .

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 Revisão da literatura.....	14
2.1 <i>Hymenaea stigonocarpa</i>.....	14
2.2 Anticitotoxicidade.....	17
2.3 Sistema teste.....	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1 Protocolo de anticitotoxicidade:.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5 REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

Entre as Leguminosae está a espécie *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne, o popular jatobá-do-cerrado, encontrada principalmente nos estados do centro sul, norte e nordeste do Brasil na vegetação da caatinga e do cerrado. Seu ritidoma é muito utilizado, na forma de chá, pela população brasileira, e demonstra ter propriedades na cura de infecções urinárias (DIMECH et al., 2013), infecções intestinais, na amenização de dores estomacais (ORSI et al., 2014), como anti-helmíntico (VALENTE et al., 2014) e no tratamento da depressão (ORSI et al., 2014).

Cartaxo et al. (2010) relatam que no súber do jatobá-do-cerrado encontram-se grupos de metabólitos como os ácidos diterpênicos, as antraquinonas, os flavonóides, as xiloglucanas, os sais minerais e oligossacarídeos. Até o momento, não foi realizado o estudo fitoquímico desta planta, de forma que não se sabe quais são os seus compostos bioativos.

Muitas espécies de plantas, como as da família Leguminosae, Euphorbiaceae e Rutaceae, apresentam atividades anticitotóxica e antimutagênica capazes de proteger as células contra danos ao processo de divisão celular e a estrutura e funcionamento da molécula de DNA. Assim, com o intuito de beneficiar a população, é de grande importância que plantas medicinais sejam avaliadas em sistemas testes diferentes e eficazes, e em concentrações diferentes, quanto ao seu potencial em proteger as células de fatores ambientais prejudiciais ao organismo.

Os meristemas radiculares de *Allium cepa* são eficientes para estudos citogenéticos, sendo indicados como um eficiente organismo de prova para o primeiro screeninmg de citotoxicidade, mutagenicidade, anticitotoxicidade e antimutagencidade de extratos provenientes de plantas medicinais por suas propriedades cinéticas de proliferação por possuir cromossomos grandes e em número reduzido. Além disso, Mazzeo et al. (2009) citam que há uma boa correlação entre os resultados obtidos neste sistema teste e os obtidos com mamíferos.

No entanto, ainda não se tem informações na literatura científica sobre o potencial citotóxico, mutagênico, anticitotóxico e antimutagênico desta planta. Assim, estudos de avaliação de toxicidade em nível celular em sistemas testes diferentes são necessários para auxiliarem na garantia de segurança e eficácia destas plantas para o uso popular.

Assim, a partir do que foi exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a anticitotoxicidade do extrato aquoso proveniente do ritidoma de *H. stigonocarpa* em duas concentrações, utilizando como sistema teste as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*.

2 Revisão da literatura

O conhecimento das propriedades medicinais das plantas se desenvolveu a partir de observações do homem ao comportamento instintivo dos animais em curar suas feridas ou aliviar suas enfermidades (ALONSO, 1998). Assim, a cultura popular sobre o uso de plantas medicinais contribuiu significativamente para a divulgação das ações terapêuticas destes organismos (MACIEL et al., 2002).

O uso de forma indiscriminada, bem como o uso errôneo de chás e infusões, doses elevadas, e a não correta identificação da planta gera efeitos adversos aos organismos que são atribuídos as substâncias ativas presentes nestas plantas. Todavia, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 80% dos países em desenvolvimento dependem de plantas para o atendimento básico a saúde, devido à desigualdade social e à falta de acesso a medicina moderna (FRESCURA et al., 2012)

Atualmente, há uma tendência geral, no campo das investigações farmacológicas, de investigar o efeito genotóxico, carcinogênico, embriotóxico, teratogênico, antimutagênico e anticitotóxico das plantas medicinais (STURBELLE, et al. 2010). A identificação e a caracterização de compostos presentes nas plantas e a definição de seus efeitos podem levar a estratégias importantes para reduzir o risco de desenvolvimento de doenças, como por exemplo, o câncer (DEARFIELD et al., 2002). Vários estudos têm relatado o efeito anticitotóxico de extratos aquosos de plantas com destaque as espécies da família Leguminosae, Euphorbiaceae e Rutaceae (ANDRADE, et al. 2008).

2.1 *Hymenaea stigonocarpa*

A *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne, o popular jatobá-do-cerrado, é uma espécie de leguminosa, presente no Brasil nas formações abertas do cerrado e da caatinga, sendo amplamente encontradas nos estados do Piauí, Bahia, Goiás e Minas Gerais. Trata-se de uma árvore muito procurada pela fauna e muito utilizada nos plantios em áreas degradadas destinadas à recomposição da vegetação arbórea. Sua madeira pode ser empregada na construção civil e naval (BOTELHO, et al. 2001) e a polpa de seus frutos é farinácea, bastante apreciada pelas populações rurais, “in natura” ou na forma de geleia, licor, bolos, pães e mingaus (BOTELHO, et al. 2000).

A superfície externa do súber do caule ou ritidoma de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (jatobá-do-cerrado) (Figura 1) é muito utilizada, na forma de chá, na medicina popular dos estados do norte e nordeste do Brasil para a redução de níveis de colesterol e glicemia, amenização de dores e cólicas estomacais, bronquite e asma, e na cura de infecções urinárias (RAMOS et al. 2007). Da casca do jatobá, produz-se um chá, usado para problemas renais e de fígado e infecções intestinais; e ainda cicatrizante e expectorante (SILVA et al. 2001).

Figura 1. *Hymeneae stigonocarpa* (ritidoma do caule).



Fonte: Via casacariri.com

As flores (Figura 2) se destacam na paisagem, sendo muitas vezes utilizadas para ornamentação de jardins e de vias públicas. Os morcegos são os principais agentes polinizadores do jatobá. A sua floração ocorre nos meses de dezembro a fevereiro; e sua frutificação nos meses de agosto e setembro (MATTOS et al, 2003).

Figura 2. *Hymeneae Stigonocarpa* (jatobá-do-cerrado).



Fonte: via casacariri.com

O fruto do jatobá (Figura 3) é um legume seco, indeiscente, monospermico ou polispermico (mais comum), alongado, ápice arredondado ou levemente retuso, base arredondada e margem inteira ou levemente ondulada, medindo 8,7 cm a 20 cm de comprimento, 2,1 cm a 6,5 cm de largura e 2,0 cm a 4,3 cm de espessura; a textura é rugosa devido à presença de pontuações, pequenas, salientes e arredondadas; apresenta a linha de sutura proeminente circundando todo o fruto, a cor varia do marrom-claro ao marrom-escuro (quase negro). Em cada fruto, ocorrem de uma a seis sementes (CARVALHO, 2007)

Figura3. *Hymenocarpus* (fruto).



Fonte: Via casacariri.com

2.2 Anticitotoxicidade

Muitas espécies de plantas, como as da família Leguminosae, Euphorbiaceae e Rutaceae, apresentam atividades anticitotóxica e antimutagênica capazes de proteger as células contra danos ao processo de divisão celular e a estrutura e funcionamento da molécula de DNA.

Segundo VON BORSTEL (1996), anticitotoxicidade é a redução da taxa de mutações espontâneas e da frequência de mutações induzidas por agentes exógenos que auxiliam a correta ação das enzimas durante o ciclo celular. Portanto, antimutagênico é todo agente que tem capacidade de reduzir a ocorrência de mutações e desvios ocorridos durante a divisão celular. Neste contexto, diversos produtos químicos naturais tem sido investigados quanto ao seu potencial anticitotóxico e anticarcinogênico (KURODA et al., 1992; DE FLORA et al., 1992; LIVIERO & VON BORSTEL, 1996; MITSCHER et al., 1996).

Os eventos de anticitotoxicidade têm sido divididos em dois mecanismos principais: desmutagênico e bio-antimutagênico (GRUTER, et al., 1990; WATERS, et al., 1990). As substâncias bio-antimutagênicas atuam como moduladoras do reparo e replicação do DNA e conseqüentemente da divisão celular (HARTMAN & SHANKEL, 1990; DE FLORA, 1998; SIMIC et al., 1998). Substâncias desmutagênicas são capazes de inativar um agente mutagênico e caracterizam-se pela atuação do composto diretamente no agente mutagênico, ou em seus precursores, inativando-os química ou enzimaticamente (KADA & SHIMOL, 1987; FERMGUSON, 1994).

O uso diário de produtos anticitotóxicos e anticarcinogênicos pode ser uma forma de prevenção do câncer e outras doenças genéticas, sendo dado o nome a este procedimento de quimioprevenção (GOMES et al., 1996).

Devido a identificação de uma grande quantidade de substâncias com atividade antimutagênica e anticarcinogênica, acredita-se que seja possível prevenir ou proteger, por meios químicos, os organismos contra a indução de danos genéticos, como também de doenças relacionadas às alterações promovidas nas células (DOLL, 1992).

Assim, com o intuito de beneficiar a população, é de grande importância que plantas medicinais sejam avaliadas em sistemas testes diferentes e eficazes, e em concentrações

diferentes, quanto ao seu potencial em proteger as células dos fatores ambientais prejudiciais ao DNA (DREWNOWSKI et al., 2000; BERRINO et al., 2003).

2.3 Sistema teste

Dentre as espécies superiores de plantas, a espécie *Allium cepa* L. (cebola) tem sido indicada como um importante organismo-teste de mutagenicidade e anticitotoxicidade e antimutagenicidade (MORAES et al. 2002, FERNANDES et al. 2007, LEME & MARIN-MORALES 2008). Este sistema tem sido amplamente utilizado na avaliação do potencial citotóxico de efluentes, e considerado eficiente na detecção de alterações no índice de divisão celular e presença de aberrações cromossômicas em resposta a estes agentes. A sua eficiência se deve as suas características cinéticas de proliferação, ao rápido crescimento de suas raízes, ao grande número de células em divisão, a sua alta tolerância a diferentes condições de cultivo, a sua disponibilidade durante o ano todo, pelo seu fácil manuseio e por possuir cromossomos em número reduzido ($2n=16$) (FISKEJÓ 1994, MITTEREMGMGER-JÚNIOR et al. 2006, CARITÁ & MARIN-MORALES 2008).

O método da aberração cromossômica em raízes de *Allium* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, WHO) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999; SILVA et al., 2004).

Os efeitos das infusões de plantas medicinais sobre o ciclo celular de *Allium cepa* têm sido relatados por vários autores (VICENTINI et al., 2001; CAMPAROTO et al., 2002; TEIXEIRA et al., 2003; KNOLL et al., 2006; FACHINETTO et al., 2007), os quais mostraram que os principais efeitos que ocorrem são mutagenicidade e antimutagenicidade, bem como aumento e diminuição da proliferação celular de pontas de raízes tratadas com diferentes espécies de plantas medicinais. Rigonato et al. (2005) propõe o uso do ensaio de *Allium cepa* para avaliação do modo de ação antimutagênico e anticitotóxico de produto natural.

Também são adequados por oferecer parâmetros microscópios como aderências cromossômicas, pontes, fragmentação e perdas cromossômicas, C-mitoses e micronúcleos, que podem se caracterizar em evidências ou até indicadores de eventuais mutações no

conteúdo genético celular (MATSUMOTO; MARIN-MORALES, 2004; MATSUMOTO et al., 2006; FERNANDES et al., 2007; CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2008; LEME et al., 2008; SOUZA et al., 2009).

Desta forma, Roberto (2006) sugeriu a utilização do sistema-teste de *A. cepa* como ferramenta para testes de antimutagenicidade, porém, também indica a necessidade de mais estudos para garantir a sua eficácia.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, pedaços de ritidomas de *H. stigonocarpa* foram coletados em um horto medicinal localizado na cidade de Teresina, Estado do Piauí, no mês de outubro de 2013. A identificação da planta e a coleta dos ritidomas foram realizadas pela Prof^a Maria do Socorro Meireles de Deus, mestre em botânica e docente da Universidade Federal do Piauí. O extrato aquoso desta planta foi preparado colocando-se pedaços de seus ritidomas em água fervente, deixando-os em infusão até esfriar.

Preparou-se duas concentrações a partir do extrato aquoso: A primeira, baseada em uma dose usual obtida na literatura, de 0,082 mg/mL, e a segunda, duas vezes maior, de 0,164 mg/mL. Para avaliação de antitoxicidade foram usados um controle positivo, preparado com sulfato de cobre e água destilada, na concentração 0,0006 mg/mL, e um controle negativo somente com água destilada. O sulfato de cobre é um agente clastogênico, que provoca danos a molécula de DNA acarretando danos a estrutura dos cromossomos e alterando o processo de divisão celular.

Os bulbos de *A. cepa* foram colocados para enraizar em frascos com água destilada, à 25°C, e aerados constantemente, até a obtenção de raízes com cerca de 1,0cm de comprimento. Para análise de cada concentração estipulou-se um grupo experimental com cinco bulbos.

Para cada concentração, após o enraizamentos dos bulbos, foram estabelecidos três tratamentos, conforme descrito abaixo, ou seja, foram realizados seis tratamentos:

Pré-Tratamento: Bulbos de cebolas foram colocados nas primeiras 24 horas em 15 mL da sua respectiva concentração de extrato aquoso de *H. stigonocarpa*, e nas 24 horas seguintes em 15 mL de solução de sulfato de cobre;

Simultâneo Bulbos de cebolas foram colocados por 48 horas em contato com 15 mL da sua respectiva concentração de extrato aquoso de *H. stigonocarpa* juntamente com 15 mL da solução de sulfato de cobre.

Pós-Tratamento: Bulbos de cebolas foram colocados nas primeiras 24 horas em 15 mL de sulfato de cobre e nas 24 horas seguintes em 15 mL de sua respectiva concentração de extrato aquoso de *H. stigonocarpa*.

Após cada tratamento, raízes foram coletadas e fixadas. A fixação se deu em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético), por aproximadamente 24 horas. As lâminas, em média 05 por bulbo, foram feitas seguindo-se o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico, em objetiva de 40X. Para cada bulbo analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 para cada tratamento, totalizando 15.000 células para cada concentração avaliada.

Durante a análise observou-se células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Foram calculados os valores médios do número de células de cada uma das fases do ciclo celular de *A. cepa* e determinado o índice mitótico (IM). A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste χ^2 , com nível de probabilidade <0.05 , por meio do software estatístico Bio Estat 3.0 (Ayres 2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos (Tabela 01) pode se verificar que as duas concentrações testadas, nos três tratamentos utilizados, tiveram um índice mitótico significativamente maior quando comparado aos índices de divisão celular do controle negativo e positivo. Dessa forma, pode se inferir que as concentrações do extrato aquoso do ritidoma de *H. stigonocarpa* induziram ampla proliferação celular ao sistema teste utilizado, inclusive, muito superior aos índices de divisão celular obtidos para os dois controles utilizados.

A tabela 01 mostra o número de células em interfase, em diferentes fases da divisão celular e os valores de índice mitóticos obtidos para as células de raízes de *A. cepa* para os controles negativo (NEG) e positivo (PÓS), e para os tratamentos: Pré-tratamento (PRÉ), Simultâneo (SIM) e Pós-tratamento (PÓS) das concentrações de 0,082 e 1,164 mg/mL de *H. stigonocarpa*, avaliadas no tempo de exposição de 48 horas.

Tabela 01 - Número de células em interfase, em diferentes fases da divisão celular e os valores de índice mitóticos obtidos para as células de raízes de *A. cepa* dos controles negativo (NEG) e positivo (POS) e para os tratamentos: Pré-tratamento (PRE), Simultâneo (SIM) e Pós-tratamento (PÓS) das concentrações de 0,082 e 0,164mg/mL de *H. stigonocarpa*, avaliadas no tempo de exposição de 48 horas.

	Tipo	Células					Células em Divisão	IM (%)
		Indiferenciadas/ Intérfase	P	M	A	T		
CO	NEG	4995	03	00	01	01		9,0 ^a
	POS	4551	391	40	08	10		0,1 ^a
CONC	TR	Células					Células em Divisão	IM (%)
		Indiferenciadas/ Intérfase	P	M	A	T		
0,082mg/mL	PRE	1799	3120	33	31	17	3201	64,0 ^b
	SIM	13	4738	98	96	55	4987	97,8 ^c
	PÓS	2598	2312	35	22	23	2392	47,8 ^d
0,164mg/mL	PRE	3493	1507	00	00	00	1507	30,1 ^b
	SIM	3591	1407	01	01	00	1409	28,2 ^b

PÓS 79 4631 133 121 86 4971 99,4^c

CO – Controle; COM – Concentração; TR – Tratamento; P – prófase; M – metáfase; A – Anáfase; T – Telófase; IM – Índice Mitótico.

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste do χ^2

Em relação a concentração menor (Tabela 01), de 0,082 mg/mL, em todos os tratamentos avaliados diferiram de forma significativa o índice mitótico entre si. Já para a segunda concentração, de 0,164 mg/mL (Tabela 1) os índices mitóticos obtidos para o pré-tratamento e tratamento simultâneo não diferiram significativamente entre si, porém, quando confrontados os índices de divisão celular destes dois tratamentos com o índice mitótico obtido para o pós-tratamento verificou-se diferença estatisticamente significativa.

Apesar de os índices mitóticos dos tratamentos das duas concentrações avaliadas terem sido estatisticamente superiores aos obtidos para o controle positivo e negativo é importante observar (Tabela 1) que para os três tratamentos, nas duas concentrações, o maior número de células em divisão observadas encontra-se em prófase.

Os resultados obtidos aqui corroboram aos obtidos por Lacerda et al. (2014), no prelo) que avaliaram a ação do extrato aquoso do jatobá-do-cerrado em três concentrações, 0,082; 0,164; 0,328 mg/mL, em dois tempos de exposição, 24 e 48 horas, e em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* e verificaram que as três concentrações nos dois tempos de avaliação reduziram o índice de divisão celular do sistema teste utilizado. No entanto, o maior número de células em divisão observado neste trabalho também estavam em prófase, mostrando que as concentrações avaliadas tiveram ação citotóxica aos meristemas de raízes de cebola.

Assim, pode-se dizer a partir dos resultados obtidos aqui neste trabalho que os extratos aquosos de *H. stigonocarpa*, nas condições avaliadas potencializaram a divisão celular do sistema teste em questão, porém, as duas concentrações tiveram ação de estacionar em prófase a maioria das células em divisão celular, fase esta que o fuso mitótico ainda não está formado, e portanto, mostrando-se citotóxica.

Outros estudos já foram realizados avaliando a citotoxicidade de algumas espécies do gênero *Hymenaea*. Dentre eles está o de Pettit et al. (2003) que observaram que o flavonóide palstatina em ação conjunta com diterpenos extraídos das folhas de *Hymenaea palustre* tem o potencial de inibir drasticamente a divisão celular de linhagens de células cancerosas humanas de estômago.

Da mesma forma, Closa et al. (1997) observaram que o flavonóide astibilina e os diterpenos extraídos das folhas da espécie *Hymenaea martiana* inibiram significativamente a divisão celular das células de fígado de roedores tratadas com uma droga clastogênica, o CIC₄, se mostrando hepatoprotetoras. Abdel-Kader et al. (2002) verificaram que os diterpenos presentes no súber do caule de *Hymenaea courbaril* foram citotóxicos as células cancerosas de ovário humano, linhagem A2780. Os resultados obtidos nestes trabalhos corroboram aos obtidos aqui para *H. stigonocarpa*. Estas outras espécies deste gênero são tidas como quimiopreventivas. Estes resultados de citotoxicidade citados para as outras espécies do gênero *Hymenaea* corroboram aos resultados obtidos aqui neste trabalho.

Várias drogas antitumorais utilizadas atualmente foram isoladas de plantas medicinais, a exemplo do paclitaxel, dos alcaloides da vinca e das campotequinas (Wall & Wani, 1995), o que torna a bioprospecção molecular das mesmas um importante recurso a ser explorado na busca de novas abordagens terapêuticas para o câncer. O teste com *A. cepa*, a despeito de preliminar, aponta para novas drogas com potencial antitumoral, como o observado neste estudo, tornando necessário e relevante a realização de estudos complementares para a avaliação da toxicidade da *H. stigonocarpa* em nível celular lançando mão de outros sistemas testes, como o teste em linhagens de células cancerosas sob diferentes tempos de exposição e diferentes esquemas de tratamento para assim se estabelecer, com propriedade, a real ação desta leguminosa em nível celular.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-KADER,M.; BERGER,J.M.; SLEBODNICK,C.; MALONE, S.; WISSE, J.H.; WERKHOVEN, M.C.; MAMBER,S. AND KINGSTON. **Isolation and absolute configuration of ent- Halimane diterpenoids from *Hymeneae coubaril* from the suriname rain forest.** J. Nat prod 65:11-15. DG. 2002.
- ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina:** bases clinicas y farmacológicas, p.17-55. Buenos Aires: ISIS Ediciones, 1998.1039 p.
- ALVINO, P. DE O.; SILVA, M. F. F. DA & RAYOL, B. P. Potencial de uso das espécies arbóreas de uma floresta secundária, na Zona Bragantina, Pará, Brasil. **Acta amazônica, Manaus,** v.35, n.4, 2005, p.413-420.
- ANDRADE, L. S.; SANTOS, D. B.; CASTRO, D. B.; GUILLO, L. A. & CHEN-CHEN, L. Absence of antimutagenicity of *cochlopernum regium* 9 Mart. And Schr.) **Pilger 1924 by micronucleus test in mice.** Braz. J. Biol.,68(1): 155-159, 2008.
- AYRES, M. BioEstat 5.0: **Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.** Belém: Sociedade civil Mamirauá, Brasília CNQq, 2007.
- BERRRINO F, KROGH V, RIBOLI, E. 2003. Epidemiology studies on diet and cancer. *Tumori* 89: 581-585.
- BIAZI, B. I.; OGO, F. M. & OLIVEIRA, R. J. Análise mutagênica e antimutagênica do carotenoide luteína pelo teste de *Allium cepa*. **Revista Terra e Cultura-** nº56-Ano29-jan/jun de 2013.
- BOTELHO, S.A.; FERREIRA, R. A.; MALAVASI, M. M. & DAVIDE, A. C. **Aspectos morfológicos de frutos, semente e mudas de jatobá do cerrado, (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne)- fabaceae.** Revista Brasileira de sementes, vol.22, n.1, p.144-152, 2000.
- BRANDÃO, M. **Plantas medicamentosas de uso popular dos cerrados mineiros.** Daphne, Belo Horizonte, v.3, n.4, p.11-20, 1993.

CABRERA GL, RODRIGUEZ DMG 1999. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. *Mutat Res* **426**: 211-214.

CARITÁ, R. & MARIN-MORALES, M. A. 2008. **Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes.** *Chemosphere*, 72: 722-725.

CARVALHO, P. E. R. **Jatobá-do-cerrado** (*Hymenaea stigonocarpa*). Colombo Embrapa Florestas, 2007. 8p (Embrapa Florestas Circular Técnica, 133).

CAMPAROTO M.L, TEIXEIRA R.O, MANTOVANI M.S, VICENTINI V.E.P 2002. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. And *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion roottip and rat bone-marrow cells. *Genet Mol Biol* 25: 85-89.

CARTAXO, S.L.; DE ALMEIDA SOUZA, M.M. AND DE ALBUQUERQUE, U.P. medicinal plants with bioprospecting potential used in semiarid northeastern Brazil. **Journal Ethnopharmacol** 131: 326-342. 2010.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivada.** Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/ IBDF, 1984. v.4, 765p.

CLOSA,D.; TORRES,M.; HOTTER, G.; BIOQUE, G.;LÉON,O.S.; GELPI E AND RÓSELLO-CATAFAU, J. Prostanoids and free radicals in CL4C-induced hepatotoxicity in rats: effect astilbin. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids** **56**: 331-334. 1997.

DEARFIELD, K. L. et al. **Genotoxicity risk assessment: a proposed a classification strategy.** In: Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2002.

DE FLORA, S.; BRONZETTI, G.; SOBELS, F.H.Assessmente of antimutagenicity and anticarcinogenicity. **Mutat Res**, v.267, p.153-155, 1992.

DE FLORA, S., 1998. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. **Mutation Research**, v.402, p.151-158, 1998

DE MARINI, M. R. 1998. **Dietary interventions of human carcinogenesis.** *Mutat Res* 400: 457-465.

DIMECH, G.S.; SOARES, L.A.; FERREIRA, M.A.; OLIVEIRA, A.G.; CARVALHO, M.C.; XIMENES, E.A. Phytochemical and antibacterial investigations of the extracts and fractions from stem bark of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne and effect on ultrastructure of *staphylococcus aureus* induced by hydroalcoholic extract. **Sci World J** 14: 862-763. 2013.

DREWNOWSKI, A.; GOMEZ-CARNEROS, C. 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *Am J Clin Nutr* 72: 1424-1435.

FACHINETTO J.M, BAGATINI M.D, DURIGON J, SILVA A.C.F, TEDESCO S.B 2007. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. *Rev Bras Farmacogn* 17: 49-54.

FERGUNSON, L.R. Antimutagens as câncer chemopreventive agents in the diet. **Mutat Res**, v.307, p.395-410, 1994.

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

FERREIRA, H.D. O uso popular de plantas medicinais e o seu aproveitamento no campo científico. In: WORKSHOP PLANTAS MEDICINAIS DO CERRADO, 1999, Mineiros. **Plantas medicinais do cerrado: Perspectivas comunitárias para a saúde, o meio ambiente e o desenvolvimento sustentável.** Mineiros: Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior, 1999, p. 250.

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

FISKEJO, G. 1994. **Allium Test II: Assessment of a Chemical's Genotoxic Potential by Recording Aberrations in Root Tips of *Allium cepa* L.** *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, 9: 235-241.

FRESCURA, V.D.; LAUGHINGOUSE, I.V.; TEDESCO, S.B. Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Lucea divaricata* on the *Allium cepa* cell cycle. **Caryologia International Journal of cytology, cytosystematics and Cytogenetics**, v.65, n.1, p.27-33, 2012.

GOMES, E.M.; SOUTOT, P.R.F.; FELZENSWALB, I. Shark-cartilage containing preparation protects cells against hydrogen peroxide induced damage and mutagenesis. **Mutat Res**, v.367, p.203-208, 1996.

GRUTER,A.; FRIEDERICH, U.; WÜRGLER, F.E. Antimutagenic effects of mushrooms. **Mutat Res**, v.231, p.243-249, 1990.

HARTMAN,P.C.; SHANKEL,D.M. Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules. **Environ Mol Mutagen**, v.15, p.145-182, 1990.

KADA, T.; SHIMOI, K., 1987. Desmutagens and bio-antimutagens: Their modes of action. **Bio Essays**. v.7, p.113-115, 1987.

KNOLL M.F, SILVA A.C.F, CANTODOROW T.S, TEDESCO S.B 2006. Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. *Genet Mol Biol* 29: 539-542.

KRINSKY, N.I. Carotenoids as Chemopreventive Agents. **Preventive Medicine**, v.8, p.592-602, 1989.

KURODA, Y.; JAIN, A.K.; TEZUKA, H.; KADA,T.Antimutagenicity in cultured mammalian cells. **Mutat Res**, 267, p.201-209, 1992.

LEME, D.M., ANGELIS, D.F., MORALES, M.A.M. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *llium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v.88, p.214–219, 2008. LEME, D. M. & MARIN-MORALES, M .A. 2008. **Chromosome aberration and micronucleus frequencies in**

Allium cepa cells exposed to petroleum polluted water a case study. *Mutation Research*, 650: 80-86.

LISBOA, P. L. B.; TEREZO, E. F. DE M. & SILVA, J. C. A. Madeiras amazônicas : Extinção de espécies e conservação. **Boletim do Museu paraense Emílio Goeldi, série botânica, Belém**, v.7, n.2, 1991, p.521-542.

LIVIERO, L.; VON BORSTEL, R.C. The 4th International conference of mechanisms of antimutagenesis anticarcinogenesis: a summary. **Mutat Res**, v.350, p.287-293, 1996.

MACIEL, M.A.M; PINTO, A.C.; VEIGA JR, V.F. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 25, p. 429-438, 2002.

MATSUMOTO, S.T.; MARIN-MORALES, M.A. Mutagenic potential evaluation of the water of river that receives tannery effluent using the *Allium cepa* system. **Cytologia**, Tóquio, v. 69, pp. 399-408, 2004.

MATSUMOTO, S.T.; MANTOVANI, M.S.; MALAGUTTI, M.; DIAS, A.; FONSECA, I.; MARIN-MORALES, M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosomes aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 1, 2006.

MATUBA, T. G.; NETTO, F. M. **Caracterização química parcial da semente de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.)**. Ciência e tecnologia de alimentos. Vol. 25, n.2, Campinas Abr/jun. 2005.

MATTOS, P. P. de; TEIXEIRA, L. L.; SEITZ, R. A.; SALIS, S. M. de; BOTOSSO, P. C. Anatomia de madeiras do Pantanal Mato-Grossense: características microscópicas. Colombo: Embrapa Florestas; Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 190 p.

MAZZEO, D.E.C., MORALES, M.A.M. Avaliação dos efeitos genotóxicos e mutagênicos do btex, utilizando o sistema teste de *Allium cepa*. Disponível em:

<<http://cecemca.rc.unesp.br/ojs/index.php/holos/article/viewFile/2018/1742>>. Acesso em 21 jul. 2009.

MEDINA, G. Ocupação cabocla e extrativismo madeireiro no alto capim: uma estratégia de reprodução camponesa. **Acta amazônica, Manaus**, v.34, n.2, 2004, p.309-318.

MITTEREGGER-JÚNIOR, H., FERRAZ-DIAS, J., LÚCIA-YONEMA, M., ARENZON, SILVA, J. & PEGAS-HENRIQUES, J. A. 2006. **Avaliação das águas tóxicas e mutagênicas da água e do sedimento do Arroio Estância Velha, Região coureira calçadista, utilizando *Allium cepa***. *J. Braz. Ecotoxicol.*, 1 (2): 147-151.

MITSCHER, L.A.; TELIKEPALLI, H.; MCGHEE, J.; SHANDEL, D.S. Natural antimutagenic agents. **Mutat res**, v.350, p.143-152, 1996.

MORAES, D. S. L., JORDÃO, B. Q., OLIVEIRA, M. D. & EILERS, V. 2002. **Investigação da atividade mutagênica de efluente municipal pelo teste de *Allium***. *Resumos do 48º Congresso Nacional de Genética*. CD Rom.

OLIVEIRA, N. S.; MERCADANTE, M. O.; LOPES, P. S. N.; GOMES, I. A. C.; GUSMÃO, E. & RIBEIRO, L. M. **Efeitos alelopáticos dos extratos aquoso e etanólico de jatobá-do-cerrado**. Unimontes Científica. Montes Claros, v.4, n.2, jul/dez. 2002.

ORSI, P.; BONANIN, F.; SEVERI, J.A.; SANTOS, C.R.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C.A.; STAS, L.C. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex. Hayne a Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal antiulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models. *J. Ethnopharmacol* 143(10): 81-90. Doi:10.1016/J. Jep. 201206.001.2014.

PEREIRA, S. R.; GIRALDELLI, G. R.; LAURA, V. A. & SOUZA, A. L. T. **Tamanho de frutos e de sementes e sua influência na germinação de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* var. *stigonocarpa* Mart. Ex Hayne, Leguminosae-Caesalpinoideae)**. Ver. Bras. Sementes, vol.33, n.1, Londrina. 2011.

PERON, A. P.; CANESIN, E. A. & CARDOSO, C. M. V. 2009. **Potencial mutagênico das águas do Rio Pirapó (Apucarana, Paraná, Brasil) em células meristemáticas de raiz de**

Allium cepa L. Revista Brasileira de Biociências. Brazilian Journal of Biosciences. Porto Alegre, v.7, n.2, p.155-159, abr/jun.2009.

PETTIT,G.R.; MENG,Y.; STEVENSON,C.A. DOUBEK,D.L.; KNIGHT,J.C. AND SCHMIDT,J.M. Isolation and structure of palstation from the Amazon tree *Hymeneae paulustris*. **J Nat Prod** 66: 259-162.2003.

PINHO, D. S. et al. **Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharis trimera* (Less) DC. em teste de *Allium cepa* e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos.** Revista brasileira de Farmacognosia 20(2): 165-170. Abr/mai. 2010.

RAMOS ACS, LEMOS-FILHO JP, RIBEIRO RA, SANTOS FR AND LOVATO MB. 2007. Phylogeography of the tree *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and the influence of Quaternary climate changes in the Brazilian Cerrado. *Ann Bot* 100: 1219-1228.

RIBEIRO, L. R. et al. **A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana,** IN: Mutagênese ambiental, Ribeiro, L. R., Salvadori, D. M. F., Marques, E. K. Ulbra Ed., Canoas, p. 21-27, 2003.

RIGONATO, J.; MANTOVANI, M.S.; JORDÃO, B.Q.. Mechanism of action of Chlorophyllin against Mitomycin-C mutagenicity in *Allium cepa*. **Cytologia**, v.69, p.459-495, 2005.

RIZZINI, C. T. **Plantas do Brasil- Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira.** São Paulo: Edgard Blücher, 1971. 296p.

SILVA, J.A.; SILVA, D.J.; JUNQUEIRA, N.T.V. & ANDRADE, L.R.M. **Frutas nativas dos cerrados.** Brasília: EMBRAPA-CPAC/ SPI, 1994. 166p.

SILVA, R. M.; SILVA,M. S.; MARTINS, K. A.; BORGES, S. Utilização tecnológica dos frutos do jatobá-do-cerrado e de jatobá-da-mata na elaboração de biscoitos fontes de fibra alimentar e isentos de açúcares. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, V.21, n.2, p.176-182, 2001.

SILVA C.R, MONTEIRO M.R, CALDEIRA-DE-ARAÚJO A, BEZERRA R.J.A.C 2004. Absence of mutagenic and citotoxic potentiality of senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) evaluated by microbiological tests. *Rev Bras Farmacogn 14(Supl. 1):* 1-3.

SIMIC, D. VUKOVIC-GACIC, B.; KNECEVIC-VUKCEVIC, J. Detection of natural bioantimutagens and their mechanisms of action with bacterial assay-system. **Mutat Res**, v.402, p.52-57, 1998.

SOUZA,T.M.; FARIAS, D.F.; SOARES,B.M.; VIANA,M.P.; LIMA, G.P.G.; MACHADO, L. K.A.; MORAIS, S.M.; AND CARVALHO, A.F.U. Toxicity of Brazilian plant seed Extracts to two strains of *aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and Nontarget Animals. **Journal of Medical Entomology**, v.48(4), p.846-851.

STURBELLE, R. T.; PINHO, D. S.; RESTANI, G. R.; OLIVEIRA, G. R.; GARCIAS, G. L. & ROTH, M. G. M. **Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleos em linfócitos humanos binucleados.** *Rev. Brasileira de Farmacognosia* 20(3): 409-415, jun/jul. 2010.

TEIXEIRA RO, CAMPAROTO ML, MANTOVANI MS, VICENTINI VEP 2003. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in in vivo assays. *Genet Mol Biol* 26: 551-555.

VALENTE, P.P.; AMORIN,J.M.; CASTILHO,R.O.; RIBEIRO,M.F. *In vitro* acaricidality efficacy of plant extracts Brazilian flora and isolated substances against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) **Parasitol Res**, 113(1): 417, 2014.

VEIGA, V. F. J. **Estudo do consumo de plantas medicinais na região Centro-Norte do Estado do rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população.** *Revista brasileira de Farmacognosia. Scielo Brasil.* Vol.18, n.2, João Pessoa, abr/jun. 2008.

VEIGA Jr, V. F.; PINTO, A. C. & MACIEL, M. A. M. 2005. **Plantas Mediciniais: cura segura?** *Quim Nova* 28: 24-26.

Vicentini VEP, Camparoto ML, Teixeira RO, Mantovani MS 2001. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. *Acta Scientiarum* 23: 593-598.

VON BORSTEL, R.C. The relation of activation and inactivation to antimutagenic process. In: Shankel , D.M.; Hatman, P.E.; Kada, T.; Hollaender, A.(Ed) Antimutagenis and anticarcinogenesis mechanisms. **New York: Plenum Press**, p.39-45, 1996.

WATERS, M.D.; BRADY,A.L.; STACK, H.F.E.; BROCKMAN,H.E. Antimutagenicity profiles for some model compounds. **Mutat Res.**, v.238, p.57-85, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Monographs on selected medicinal plants**: 1999. Geneva, v.01. Disponível em: <<http://whqlibdoc.who.int/publications/1999/9241545178.pdf>>. Acesso em: 12 de fevereiro 2014.