

## **Análise do potencial mutagênico do extrato metanólico do fruto de *Caesalpinia ferrea* Mart (Jucá).**

Edilaine Alves de Souza<sup>1</sup>, Elaine Scheidegger de Castro<sup>2\*</sup>, Bruna Ribeiro Fontes<sup>2</sup> Pablo Júnior Hudziak<sup>2</sup>, Gisleive Góes da Silva Correia<sup>3</sup>, Francisco Carlos da Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná (CEULJI/ULBRA), Ji-Paraná/RO, Brasil.

<sup>5</sup> Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná (UniSL), Ji-Paraná/RO, Brasil.

<sup>3</sup> Secretaria de Estado da Educação de Mato Grosso (Escola Estadual 13 de Maio), Porto Esperidião, MT, Brasil.

<sup>4</sup> Docente do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná (UniSL), Ji-Paraná/RO, Brasil.

\***Autor correspondente:** Elaine Scheidegger de Castro, graduanda em Ciências Biológicas, Centro Universitário São Lucas, Ji-paraná, RO, Brasil, Av. Maringá, 2105 Ji-Paraná/RO – Brasil – Tel.: +55 69 99240-5191. E-mail: elainescheidegger41@gmail.com

**Recebido:** 09/05/2021; **Aceito:** 28/07/2021.

### **Resumo**

A utilização de plantas com fins alimentares, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. No entanto, é importante saber que as plantas, assim como os fármacos (químicos), podem levar a intoxicação, genotoxicidade e até mesmo lesões multagênicas por acúmulo de princípio ativo e desenvolver doenças em órgãos como fígado e rins. O objetivo do estudo foi avaliar o potencial mutagênico do extrato metanólico de *Caesalpinia ferrea* (Fabaceae), Jucá, através do teste micronúcleo em *Allium cepa*. Análise realizada segundo a metodologia de Meneguetti et al, 2012, adaptada a partir de Fiskejö (1985). Em cada experimento foram utilizados dez bulbos de *Allium cepa*. O extrato de *C. ferrea* testado foi de: amostra 1 (0,1mL/1L), amostra 2 (0,5mL/1L), amostra 3 (1mL/1L), além do controle negativo. Cada dose do extrato foi diluída em 1 L de água destilada. Para a análise estatística utilizou-se variância ANOVA, teste não-paramétrico TUKEY, utilizando o Software Graphad PRISM 5.0. Houve diferença significativa no crescimento dos meristemas das amostras 2 e 3, quando comparadas ao controle negativo. Com relação ao índice mitótico, não se observou diferença significativa comparado ao controle negativo. O teste de mutagenicidade, quando utilizado a concentração de 1mL, resultou em um alto índice de micronúcleo em relação ao controle negativo, evidenciando um potencial mutagênico do extrato nesta concentração. Diante disso, conclui-se que outros testes deverão ser feitos para melhor compreensão dos efeitos mutagênicos desse extrato vegetal, já que o mesmo vem sendo utilizado pela população como um fitoterápico.

**Palavras-chave:** *Allium cepa*. Micronúcleo. Jucá.

### **Abstract**

The use of plants for food, healing and disease prevention is one of the oldest forms of medical practice of mankind. However, it is important to know that plants, like the drugs (chemicals), can lead to poisoning, genotoxicity and even injuries multagênicas by accumulation of active disease and develop in organs such as liver and kidneys. The aim of this study was to evaluate the mutagenic potential of the methanol extract of *Caesalpinia ferrea* (Fabaceae), Jucá by micronucleus test in *Allium cepa*. The analysis was performed according to the methodology of Meneguetti et al, 2012, adapted from Fiskejö (1985). In each experiment were used ten bulbs of *Allium cepa*. The extract of *C. ferrea* tested was: sample 1 (0.1 ml/1L), sample 2 (0.5 ml/1L), sample 3 (1ml/1L), and negative control. Each dose of the extract were diluted in 1 L of distilled water. For statistical analysis we used ANOVA, non-parametric test TUKEY using the Software Graphad PRISM 5.0. According to the results, significant difference in growth of meristems of samples 2 and 3, when compared to the negative control. Regarding the mitotic index, no significant difference was observed in any sample compared to the negative control. The test for mutagenicity when using 1mL concentration resulted in a high rate of micronuclei compared to the negative control, indicating a mutagenic potential of the extract at this concentration. Therefore, it is concluded that further tests should be done to better understand the mutagenic effects of plant extracts, since it has been used by the population as a herbal medicine.

**Key words:** *Allium cepa*, micronucleus, Jucá.

### **1. Introdução**

O uso de ervas para tratamento medicinal é conhecido e praticado desde as

antigas civilizações. Mas isso não exclui o fato de que para esta prática, quando recomendada, precisa estar alicerçada no

conhecimento e na experiência dos profissionais da saúde<sup>1</sup>. Este hábito era comum na Idade Média, mas os primeiros registros remontam há milênios. As plantas medicinais propagadas por usuários e comerciantes em algumas regiões, são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas<sup>12</sup>. No entanto, na medicina popular, a cura por meio das plantas e seus produtos tem resistido às inovações ocorridas no decorrer dos tempos e, após milênios, as ervas continuam a sustentar importância e confiança dos povos atuais. É importante ressaltar que, mesmo diante dos progressos tecnológicos, existem locais em que a fitoterapia representa o único recurso de tratamento, no entanto é frequente a comercialização errada dessas plantas em feiras livres ou em fundos de quintais<sup>3</sup>.

A família Fabaceae (Leguminosae) possui cerca de 727 gêneros e 19.325 espécies, com ampla distribuição mundial (cosmopolitas)<sup>4</sup>. São encontradas em campos, matas, desertos, neves, brejos, dentre outros. O sistema radicular embrionário adquire, geralmente, grande desenvolvimento predominando uma raiz pivotante que pode penetrar vários metros de profundidade no solo como o exemplo da alfafa. Existem as raízes adventícias que predominam nas espécies herbáceas<sup>4</sup>.

Algumas espécies são conhecidas como pau-ferro por ser mais densa do que a água e não flutuar. O nome popular deriva da cor de brasa da resina vermelha contida na madeira<sup>5</sup>.

Algumas árvores desta família alcançam de dez a quinze metros de altura e possui tronco reto, com casca cor cinza-escuro, coberta de acúleos, especialmente nos ramos mais jovens. As folhas são compostas

bipinadas, de cor verde médio, brilhantes. As flores nascem em racemos eretos próximo ao ápico dos ramos. Nas flores possuem quatro pétalas amarelas e uma menor vermelha<sup>23</sup>.

Quanto a sua importância ecológica, são muito utilizadas em paisagismo, como as cássias, acácias, eritrinas e mulungus. Também numerosas são as que fornecem boa madeira para dormentes e construções, como o pau-ferro<sup>4</sup>. Algumas são recomendadas para arborização de praças, parques, canteiros centrais de vias públicas e estacionamentos<sup>17</sup>.

Estão incluídas na lista do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA), como espécies ameaçadas de extinção na categoria vulnerável. Em relação a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), pertence à categoria em perigo<sup>5</sup>.

*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul., espécie pertencente à família Fabaceae, é uma leguminosa arbórea tropical que ocorre na região amazônica, sendo muito utilizada como planta medicinal e também na arborização e paisagismo urbano<sup>32</sup>. É uma planta perenifólia ou semi-decídua, de ampla dispersão e baixa densidade populacional, tendo importante uso na ornamentação, construção civil e marcenaria. Por ser uma espécie tolerante a áreas abertas, pode ser utilizada em programas de reflorestamento de áreas degradadas<sup>33</sup>.

Diabéticos utilizam a baga da mesma, para diminuir o volume da urina e sede. É utilizado também como anti-inflamatória, afecção catarral, amídalas, cólica intestinal, disenteria, garganta, gota, hemorragia, reumatismo, sífilis, tosse, hemorroidas, problemas cardíacos, como expectorante, febrífuga, fraqueza geral, afecções pulmonares<sup>6</sup>. Algumas de suas propriedades

terapêuticas têm sido descritas, incluindo o tratamento de feridas, contusões, tosse crônica e asma<sup>7</sup>. O fruto é utilizado para o tratamento de diabéticos<sup>11</sup>, o jucá também possui atividade antifúngica e antibacteriana<sup>18</sup>. O extrato bruto tem efeito anti-úlceras gástricas, e a uma atividade anti-inflamatória e analgésica<sup>9</sup>.

Um dos maiores problemas para utilização terapêutica no tratamento convencional das diversas doenças é a falta de dados científicos que comprovem a eficácia e a segurança dos medicamentos preparados a partir das plantas medicinais<sup>25</sup>.

Algumas plantas apresentam propriedades medicinais que podem conter substâncias tóxicas, o que torna errado o conceito de que plantas são medicamentos naturais, portanto livres de efeitos tóxicos<sup>13</sup>. Diante disso, são necessários estudos de toxicidade e mutagenicidade contribuindo para sua utilização segura e eficaz<sup>19</sup>.

É de grande importância a aplicação de testes que detecta distúrbios celulares causados por acúmulos de bioativos, devido a frequente utilização de produtos naturais como as plantas na busca de novos fármacos. Os principais metabólitos secundários de interesse farmacológico produzidos pelas plantas são distribuídos em classes químicas como alcalóides, terpenos, cumarinas, lignanas, flavonóides, benzenóides, quinóides, xantonas, lactonas, esteróides, óleos voláteis, quinonas, saponinas e taninos<sup>24</sup>. Nas vagens de Jucá, no entanto, são encontrados os seguintes princípios ativos: taninos, alcalóides, terpenos e lactonas<sup>25</sup>. Determinadas substâncias, diante do seu índice de concentração no organismo, podem se tornar mutagênicas<sup>22</sup>.

As substâncias mutagênicas podem causar danos celulares aos organismos vivos que estão frequentemente expostos as

mesmas. Danos que geralmente são induzidos por agentes físicos, químicos ou biológicos que acabam afetando processos como a transcrição, duplicação gênica e alterações cromossômicas, o que leva a processos carcinogênicos e morte celular<sup>22</sup>.

É importante lembrar que tanto em toxicologia e em estudos in vivo da genotoxicidade, o uso de plantas modelo como *Allium cepa* tem várias vantagens<sup>28</sup>, além de serem recomendado como ensaios citogenético para analisar efeitos genotóxicos<sup>27</sup>. O presente estudo objetivou realizar uma análise da mutagenicidade do extrato metanólico de *C. ferrea*, através do teste micronúcleo em *Allium cepa*.

## 2. Materiais e métodos

### Material Vegetal

As amostras de frutos in natura foram coletadas no Município de Teixeiraópolis no estado de Rondônia, 10°22'4.69"S 62°22'57.57"W. Partes aéreas, flores e gemas também foram coletadas e fixadas em exsiccata e depositadas no Herbário Central do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná CEULJI/ULBRA, sob o número 244/2012. As amostras do fruto foram armazenadas em temperatura ambiente até o momento das análises.

Os frutos de *C. ferrea* foram expostas para secagem em estufa por 72 horas a 37 °C até total perda de umidade, sendo posteriormente trituradas para se obter uma maior superfície de contato (Figura 1).



**Figura 1:** Frutos de *C. férrea* desidratados.

O álcool metílico foi utilizado como solvente extrator devido as suas características de polaridade, o que permite a extração de um maior número de compostos. As amostras ficaram em contato com o solvente por 48 horas em recipiente fechado e escuro (frasco âmbar) até ensaios posteriores. Depois de retirado o solvente (Álcool metílico), com o uso de evaporador rotativo (Q344B-QUIMIS), a uma temperatura constante de 60 °C, sendo esse processo repetido por duas vezes para obter o máximo possível de extrato puro. O líquido viscoso obtido após a rotaevaporação foi de cor marrom escuro.

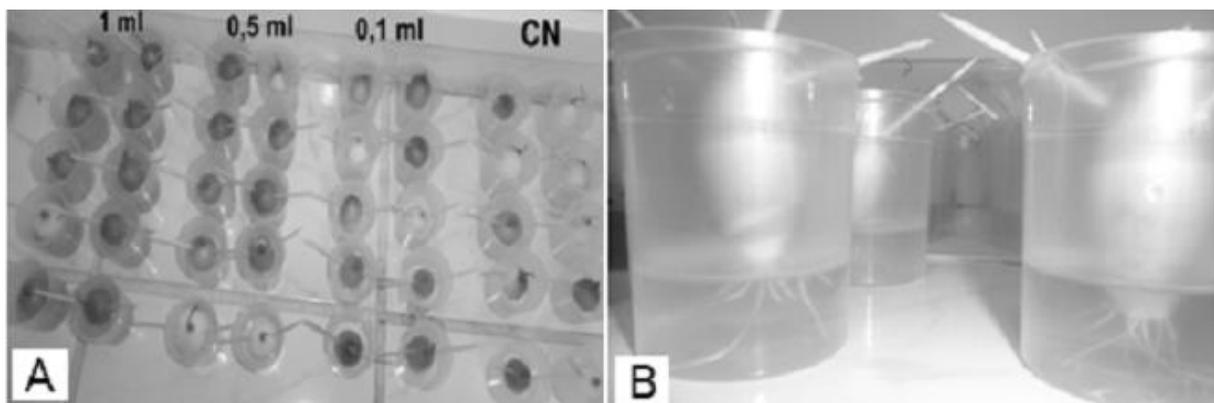
A análise da Toxicidade foi realizada pela medição do comprimento dos meristemas. Os bulbos foram retirados dos

potes e com um paquímetro foi determinado o comprimento do meristema por bulbo. Assim, as medidas dos meristemas do controle negativo foram comparadas com as medidas das amostras em estudo para analisar se houve diferenças no tamanho e alterações morfológicas.

A análise do potencial mutagênico foi realizada segundo a metodologia de Meneguetti et al, (2012), adaptada a partir de Fiskejö (1985).

Os exemplares de *A. cepa* utilizados foram adquiridos no comércio local, sendo estes exemplares de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinados e saudáveis (Figura 2).

Os bulbos foram colocados para germinar, por um período de três dias à temperatura de 24 °C, em frascos apropriados, com a parte inferior mergulhada em solução contendo o extrato vegetal diluído em 50mL de água destilada em três concentrações diferentes, com 10 repetições cada. A primeira amostra, apenas água destilada (controle negativo) = A1, as seguintes amostras foram de 0,1mL = A1, 0,5mL = A2 e 1mL = A3 de extrato da planta diluídos em 1 L de água destilada. (Figura 2).



**Figura 2:** Bulbos de *A. cepa* em germinação no extrato de *C. férrea*.

Após os três dias de germinação em que os meristemas atingiram o comprimento de 0,5 a 3cm, foram coletados para análise de micronúcleos e lavados com água destilada, posteriormente sendo hidrolisados com Ácido Clorídrico (HCL) a 1mol/L por 8 minutos em banho-maria a 60 °C e submetidos novamente a lavagem em água destilada.

Em seguida as lâminas foram produzidas em duplicata de amostras, sendo coradas com o Kit Panótico Rápido LB que é composto de três reagentes: o primeiro com triarilmetano a 0,1%, o segundo com xantenos a 0,1% e o terceiro com tiazinas a 0,1%, em cada lâmina foram colocadas duas gotas de cada corante, totalizando seis gotas ao final e deixado em ação por 10 minutos, posteriormente foi feito o método squash nas lâminas de cada bulbo. Após a secagem em temperatura ambiente foi feito a montagem definitiva das lâminas com Entellan®.

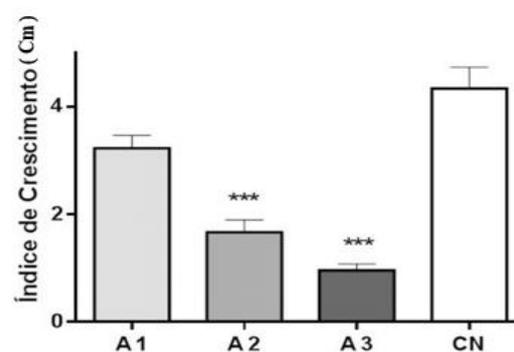
A avaliação das lâminas consistiu na observação da presença de micronúcleos em 1.000 células em interfase por bulbo em microscopia óptica, com objetiva de 100x e ocular de 10x tendo um aumento de 1000x. Para a avaliação das lâminas foram observados os seguintes parâmetros: índice mitótico e micronúcleos.

Para a análise estatística foi feito o teste não-paramétrico (ANOVA), teste TUKEY, utilizando o Software Graphad PRISM 5.0.

### 3. Resultados e Discussões

Após três dias de germinação, os meristemas foram medidos e avaliados, afim de, determinar o potencial de toxicidade das diferentes concentrações do extrato de *C. ferrea*. Os resultados obtidos demonstraram que, o crescimento dos meristemas das

amostras (A2) e (A3) expostas a 0,5mL e 1mL, respectivamente, do extrato metanólico de Jucá foi inferior ao observado na amostra A1 e controle negativo,  $p < 0,0001$ . Dessa forma, o número de células que apresentaram divisões celulares foram baixos. Considerando a análise de anormalidades, o número total de anormalidades foi significativamente maior nas amostras A2 e A3, em relação ao controle negativo (Figura 3). Os resultados permitiram identificar uma certa inibição do crescimento meristemático, quando utilizado extratos de maior concentração.



**Figura 3:** Índice de comprimento da raiz (n=10) de *Allium cepa* por amostras analisadas \*\*\* $p < 0,0001$  em relação ao controle negativo (C -). ANOVA, Tukey test.

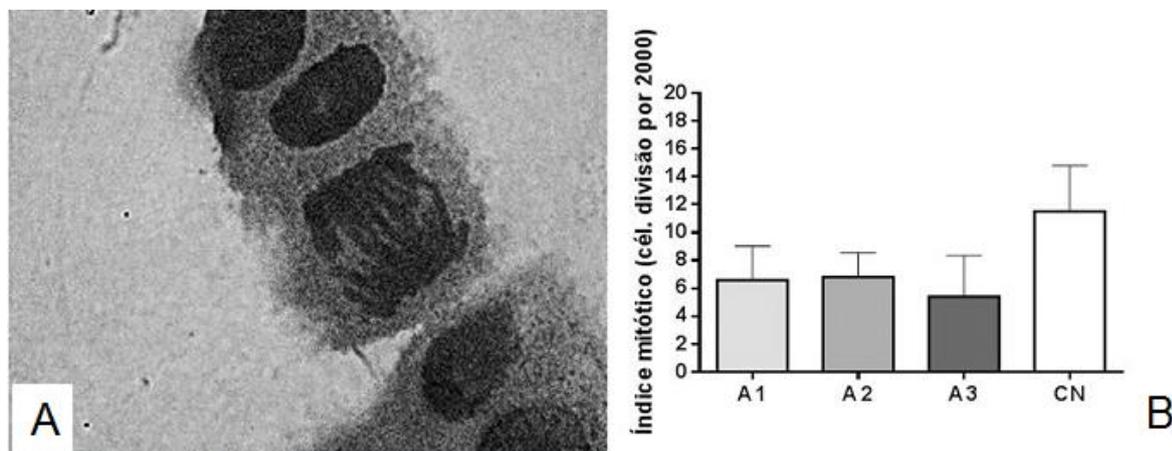
Segundo Fachineto et al (2006)<sup>18</sup>, a atividade de inibição enzimática pode ser atribuída à presença de taninos que é o responsável pela inibição da divisão celular em células meristemáticas de *Allium cepa*.

Compostos químicos derivados do metabolismo secundário dos vegetais apresentam diversos efeitos terapêuticos, muito embora possam causar efeitos genotóxicos e mutagênicos por meio de interação em processos bioquímicos em diferentes organismos eucarióticos, impedindo o processo de multiplicação celular<sup>36</sup>.

Em relação ao índice mitótico (Figura 4), não foi observado diferença significativa

em nenhuma amostra quando comparado ao controle negativo, embora tenha registrado menor índice mitótico nas amostras submetidas ao extrato de maior concentração. A redução do índice mitótico pode ser um reflexo secundário dos efeitos causados por aleloquímicos a nível molecular como, por exemplo, a ativação de enzimas. A perda da

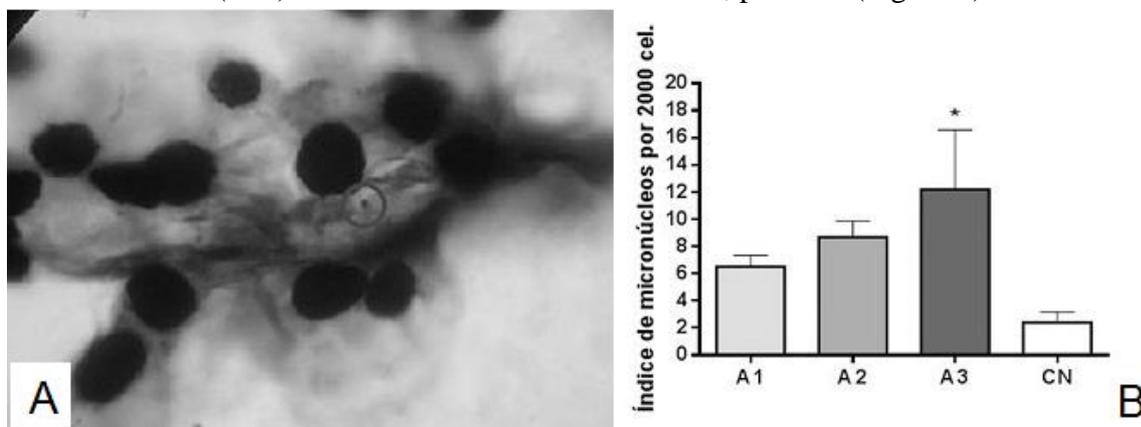
eficiência na reprodução celular nas amostras submetidas ao extrato de maior concentração, pode estar relacionada com o fenômeno da apoptose, morte celular programada, que elimina células com comprometimento funcional e, conseqüentemente, reduz o número de células em divisão<sup>31</sup>.



**Figura 4:** A) Célula de *Allium cepa* em divisão mitótica. B) Índice mitótico em 2000 células (n=10) de *Allium cepa* por amostra analisada. \* $p < 0.005$  em relação ao controle negativo (C-). ANOVA, Tukey test.

Os resultados obtidos por meio da análise mutagênica com o extrato metanólico de *C. férrea* demonstraram que o número de micronúcleos (MN) em 2.000 células

analisadas (Figura 5), foram significativamente maior nos bulbos que foram submetidos ao extrato de concentração 1mL/L,  $p < 0.05$  (Figura 5).



**Figura 5:** A) Micronúcleo em Célula de *Allium cepa* exposta (ocular: 10x, objetiva 40x). B) Índice de micronúcleos encontrado em 2000 células (n=10) de *Allium cepa* por amostra analisada. \* $p < 0.05$  em relação ao controle negativo (C-). ANOVA, Tukey test (B).

As amostras A1 e A2, apesar de terem apresentado micronúcleos não demonstrou significância estatística em relação ao

controle negativo, ou seja, não demonstrou probabilidade de ocorrer mutagenicidade no uso das respectivas concentrações. Conforme

Bagatini et al 2007<sup>20</sup>, o aparecimento de micronúcleos acontece devido a quebra cromossômica, evidenciando a manifestação de distúrbios do processo mitótico.

Para Pesnya (2012)<sup>27</sup>, alterações no DNA em células somáticas são um dos principais eventos no processo de carcinogênese e qualquer agente genotóxico tem atividade suspeita de ser cancerígeno.

Na pesquisa de Fão et al (2012)<sup>12</sup> utilizando a seiva da casca de *Croton lechleri* (Müll. Arg), o resultado demonstrou alto índice de mutagenicidade. A mesma planta demonstrou potencial mutagênico em um estudo realizado por meio do teste Salmonella/microsoma, em que foi detectado mutações do tipo: substituição de pares de base, reversões e frameshift<sup>30</sup>.

Os resultados obtidos deste trabalho com o extrato metanólico de *C. ferrea* apresentaram alta significância estatística em relação ao controle negativo quando testado em células eucarióticas numa concentração de 1mL/L, o que demonstra alto potencial mutagênico da mesma, evidenciando assim que ela possui metabólitos secundários a serem diagnosticados que podem provocar lesões irreversíveis ao DNA.

Mediante o exposto, o sistema de ativação metabólica em plantas vem sendo realizados há anos, e a capacidade de vegetais superiores ativarem promutágenos em mutágenos já foi demonstrada por vários pesquisadores<sup>25</sup>.

Além disso, Silva (1999)<sup>29</sup> relata que, os polifenóis de leguminosas e cereais são predominantemente taninos de origem flavonóide, que fenóis comuns em plantas não são considerados tóxicos em quantidades e condições normais, com exceção dos fenóis poliméricos denominados taninos, que possuem a habilidade de complexar e precipitar proteínas de soluções aquosas. Ou

seja, a presença excessiva de MN na A3 em relação as outras amostras e ao CN, podem estar relacionadas a esses metabólitos.

#### 4. Conclusões

O extrato metanólico do fruto de *Caesalpinia ferrea*, Jucá, em concentrações de 0,1mL e 0,5mL, para 1L de água destilada, não apresentaram ação mutagênica. Entretanto os bulbos de *Allium cepa*, que foram submetidos ao extrato na concentração de 1mL/L, apresentaram alto índice de micronúcleos, o que evidenciou um potencial mutagênico do extrato. Portanto, conclui-se que, células eucarióticas quando expostas ao extrato metanólico do fruto desta espécie de planta medicinal, numa concentração mais elevada, pode sofrer alterações no DNA e induzir o aparecimento dos principais eventos que ativam o processo de carcinogênese. Entretanto, são necessários estudos mais aprofundados que avaliem os riscos-benefícios da utilização do extrato de *C. ferrea* em célula animal, para uma melhor compreensão dos seus efeitos mutagênicos.

#### 5. Declaração de conflito de interesse

Nada a declarar.

#### 6. Referências

1. SILVA, J. ERDTMANN, B. H. PÊGAS, J. A. **Genética Toxicológica**. Ed. Alcance. Porto Alegre, RS. p. 424, 2003.
2. CAVALHEIRO, G. M. FARIAS, F. D. FERNANDES, S. G. NUNES, P. E. CAVALCANTI, S. F. VASCONCELOS, M. I. MELO, M. M. V. CARVALHO, U. F. A. **Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae**. Revista brasileira farmacognosia. vol.19 no.2b João Pessoa Abr./Jun., 2009
3. RODRIGUES, B. V. L. N. **Teste de Toxicidade aguda através de bioensaios no extrato solubilizado dos resíduos classe II A-não inertes e classe II B-**

- inertes. Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, 2005.
4. PAULINO, E. OLIVEIRA, Arquimedes. LOPES, S. Ivangleison. ALVES, Ronaldo. QUEIROGA, L. Vinícius. **Família Fabaceae**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Dois Irmãos Recife – PE, 2010.
5. MURGEL, J. M. T. **O Pau Brasil: Suas Lendas e Seus Mitos**. Enciclopédia Botânica. Brasil, 2009.
6. SAYS, M. C. **Baga e Semente De Jucá**. Caixa de Anotações, 2008.
7. CAVALHEIRO, M. G. FARIAS, D. F. FERNANDES, G. S. NUNES, E. P. CAVALCANTI, F. S. VASCONCELOS, I. M. MELO, V. M. M. CARVALHO, A.F.U. **Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae**. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2009.
9. SOUZA, A. B. SILVA, L.M.S. CARVALHO, J.C.T. MAISTRO, E.L. **No clastogenic activity of *Caesalpinia ferrea* Mart. (Leguminosae) extract on bone marrow cells of Wistar rats**. Genetics and Molecular Biology, 2006.
10. VEIGA, F. J. Valdir. PINTO, C. Angelo. MACIEL, M.M. **Aparecida. Plantas medicinais: cura segura?** Revista Química Nova, Ed. Nova. São Paulo, SP, 2005.
11. POLETTO, P.O. DINIZ, P.A. BERNADON, B. ZAN, A.R. RAMOS, J.L. MENEGUETTI, O. U. D. **Análise da Mutagenicidade do Extrato Hidrossolúvel de *Derris Rariflora* (Mart. Ex benth. J. F. Macbr: Fabaceae), Timbó Amazônico, Através do Teste Micronúcleo em *Allium Cepa***. Pesquisa & Criação. Vol. 10. Num. 01, Jan./Jun., 2011.
12. FÃO, F. ZAN, André. BRONDANI, M.M.F. Ramos, J. L. MENEGUETTI, O. U. D. **Análise do potencial mutagênico da seiva da casca de *Croton lechleri* (Müll. Arg), no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental**. SaBios: Revista Saúde e Biol., v.7, n.1, p.91-98, jan./abr. Barbosa Ferraz, Paraná, 2012.
13. SILVA, F. C. BARROS, M.A.B. VIANA, R.R. ROMÃO, N.F. OLIVEIRA, M.S. MENEGUETTI, D.U. **Avaliação de metagênese provocada por sulfato de ferro através do teste de micronúcleo em células da medula óssea de camundongos**. Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente (FAEMA), 2011.
14. LIMA, D. J. ALMEIDA, C. C. DANTAS, V. A. V. SILVA, S. M. B. MORAES, S. W. **Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. Ex Tul. (Leguminosae, Caesapinoideae)**. Ver. Árvore co. 30 n° 4 Viçosa, 2006.
15. FILHO, M. S. SILVA, P. A. M. FILHA, S. C. E. M. **Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Caesalpinia ferrea* Mart. Ex Tul var. *ferrea* em casa de vegetação e germinador**. Revista Ciência Agronômica, vol. 36, núm. 2, mayo-agosto, pp. 203-208. Universidade Federal do Ceará. Ceará, Brasil, 2005.
16. MACHADO, B. R. R. MEUNIER, J. M. I. SILVA, A. A. J. CASTRO, F. J. A. A. **Árvores nativas para a arborização de Teresina, Piauí**. Revista da sociedade Brasileira de Aeborização Urbana, Volume 1, Número 1, 2006.
17. OLIVEIRA, F. A. BATISTA, J.S. PAIVA, E. S. FARIAS, Y. J. M. D. DAMASCENO, C. A. R. BRITO, P. D. QUEIROZ, S. A. C. RODRIGUES, C. M. F. FREITAS, C. I. A. **Avaliação da Atividade de cicatrização da *Caesalpinia ferrea* (tul.) Martius (Jucá) em lesões cutâneas de caprinos**. Universidade Federal Rural do Semi-arido - Ufersa . Mossoró – RN, 2008.
18. FACHINETTO, M. J. BAGATINI, D. M. DURIGON, J. SILVA, F. C. A. TEDESCO, B. S. **Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre ciclo celular de *Allium cepa***. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2006.
19. NETO, G. L. LOPES, P. N. **Plantas Medicinais: Fatores de Influência no conteúdo de metabólitos secundários**. Departamento de Física e Química, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, Brasil, 2006.
20. BAGATINI, D. M. SILVA, F. C. A. TEDESCO, B. S. **Uso do sistema de teste de *Allium cepa* como**

- bioindicador de infusões de plantas medicinais.** Revista farmacognosia, 2007.
21. ZECCA, Adriana G. D. **Botânica sistemática.** Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2009.
22. SILVA, F.C. **Estudo das atividades toxicológicas dos frutos do camu-camu *Myrciaria dúbia* H. B. K. (McVough).** Universidade Luterana do Brasil, Programa de Pós- Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, Canoas, 2011.
23. SOUZA, W.J.M. OLIVEIRA, F.F.O NICOLETE, R. **Plantas medicinais com potencial atividade anti-inflamatória utilizadas pela população: um guia pratico e ilustrativo.** Revista Florence, São Luis/MA, 2011.
24. NETO, L.G. LOPES, N.P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários.** Revista Quimica Nova, 2007.
25. KRUGER, R. A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa*.** Centro Universitário Feevale. Novo Hamburgo, 2009.
26. QIN, R. JIANG, W. LIU, D. **Aluminum can induce alterations in the cellular localization and expression of three major nucleolar proteins in root tip cells of *Allium cepa* var. *Agrogarum* L.** College of life Scienses, Tianjin Normal University. Revista Elsevier, China, 2012.
27. PESNYA, D. S. ROMANOVSKY, A. V. **Comparison of cytotoxic and genotoxic of plutonium-239 alpha particles and mobile phone GSM 900 radiation in the *Allium cepa* Test.** I.D. Papanin Institute for Biology of Irland Waters, Russian Academy of Scienses, Yaroslavi region, Russia, 2012.
28. ROA, O. YEBER, M.C. and VENEGAS W. **Genotoxicity and toxicity evaluations os ECF cellulose bleaching effluents using the *Allium cepa* L. Test.** Faculty of Science, Universidad Católica de la Santissima Concepción, Chile, 2012.
29. SILVA, M. R. PEREIRA, M.A.A.S. **Aspectos nutricionais de fitatos e taninos.** Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goias, 1999.
30. LOPES, M.I.; SAFFI, J.; ECHEVERRIGARAY, S.; HENRIQUES, J.A.; SALVADOR, M. **Mutagenic and antioxidant activities of *Cronton lechleri* sap in biological systems.** Journal of Ethnopharmacology, v. 95, p. 437-445, 2004.
31. PATRÍCIO, J. A. G., MOREIRA, L. M. A. **Efeito do Metotrexato na inibição da divisão celular em grandes longevos.** R. Ci. méd. biol., Salvador, v. 2, n. 2, p. 185-191, jul./dez, 2003.
32. DOMINGUES, J.L. ALMEIDA, C.A.C. DANTAS, S.A.A. SILVA, B.M.S. MORAES, W.S. **Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae).** Revista árvore. Viçosa, 2006.
33. MEDEIROS, S.F. SILVA, M.A.P. SANTOS, M.E.C.F. **Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul var. *ferrea* em casa de vegetação e germinador.** Revista Ciência Agronômica, vol. 36, n°. 2, maio/agosto, pp. 203-208. Universidade Federal do Ceará. Ceará, Brasil, 2005.
34. MENEGUETTI, D.U.O. SILVA, F.C. ZAN, R.A. RAMOS, L.J. **Adaptation of the Micronucleus Technique in *Allium Cepa*, For Mutagenicity Analysis of the Jamari River Valley, Western Amazon, Brazil.** Environmental & Analytical Toxicology, 2012.
35. FISKESJO G. **The *Allium* test as a standard in environmental monitoring.** Revist. Hereditas, 102, 99–112. Institute of Genetics, University of Lund, Sweden , 1985.
36. COSTA, R.M.A. MENK, C.F.M. **Biomonitoramento de mutagênese ambiental.** Biotecnologia: ciência e desenvolvimento 3: 24-26, 2000.