

USO DO TESTE *Allium cepa* NA AVALIAÇÃO DA CITOGENOTOXICIDADE DE INFUSÕES *IN NATURA* DE *Maytenus ilicifolia* E *Zingiber officinale*

Junilson Augusto de Paula Silva^{1*} (IC), Rayssa Rocha e Silva¹ (IC), Débora de Jesus Pires² (PQ)

¹Graduandos em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Goiás. *Campus Morrinhos* <junilsomaugusto@gmail.com>

²Docente do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Goiás. *Campus Morrinhos*.

Resumo: A fitoterapia no Brasil permite estudos no vasto campo científico, visto a biodiversidade existente no país. Os fitoterápicos são medicamentos preparados exclusivamente com plantas ou partes de plantas medicinais. Dentre as plantas medicinais que têm sido usadas para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, temos o Gengibre e a Espinheira-Santa. O objetivo do trabalho é avaliar os efeitos citotóxicos e genotóxicos de infusões *in natura* de *Maytenus ilicifolia* e *Zingiber officinale* em concentrações de 1g, 3g, 5g, 7g e 9 g; nas células meristemáticas de *Allium cepa* L. Os resultados demonstram que a infusão de *Z. officinale* com 3g é a mais preconizada entre as concentrações testadas e para *M. ilicifolia* 1 a 3g. Os efeitos mutagênicos no organismo humano pela automedicação com plantas medicinais são negligenciados uma vez que são usados de forma errada e indiscriminada.

Palavras-chave: Bioensaios. Espinheira-Santa. Gengibre. Mutagênese.

Introdução

A cultura popular detém de conhecimentos tradicionais repassados à gerações que são aplicados na medicina não convencional, na forma complementar e alternativa. A fitoterapia no Brasil permite estudos no vasto campo científico, visto a biodiversidade existente no país.

O uso de fitoterápicos, ou medicamentos cujo efeito terapêutico possui origem em matérias-primas vegetais e em seus extratos, caracteriza uma das terapêuticas mais procuradas atualmente, a fitoterapia (SIMÕES et al., 2000).

De acordo com Ferro (2006) fitoterapia é uma palavra do grego que significa “tratamento com vegetal” e é um ramo da alopatia que utiliza exclusivamente princípios ativos vegetais para tratar enfermidades.

A constatação da existência nas plantas de algo capaz de provocar reações benéficas ao organismo, embora tenha ocorrido de forma lenta e gradual, converteu e ampliou vagarosamente a cultura da utilização de plantas como instrumento terapêutico (JARDIM et al., 2001).

A toxicidade de plantas medicinais traz importantes aspectos sobre os avanços na área de validação de fitoterápicos, pois se compara com a de medicamentos usados nos tratamentos convencionais, já que:

As plantas medicinais constituem fonte imediata e viável de medicamentos para enfermidades com poucos recursos terapêuticos. No entanto, poucos desses produtos são estudados de acordo com protocolos científicos

modernos. A maioria não pode, portanto, ser aceita como medicamento ético de prescrição livre porque, em geral, não possuem eficácia comprovada na espécie humana, sem estudos de eventual toxicidade e sem controle de qualidade apropriado (SIMÕES et al., 2000, p.194).

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada nº. 48/2014 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2014), fitoterápicos são medicamentos preparados exclusivamente com plantas ou partes de plantas medicinais (raízes, cascas, folhas, flores, frutos ou sementes), que possuem propriedades de prevenção, diagnóstico ou tratamento sintomático de doenças, validadas em estudos etnofarmacológicos, documentações tecnocientíficas ou ensaios clínicos.

Dentre as plantas medicinais que têm sido usadas para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, temos o gengibre (*Zingiber officinale*) e a Espinheira-Santa (*Maytenus ilicifolia*) (ALBERTASSE, 2010; AMOROZO, 2002). Estes preparados por infusão ou decocção no tratamento anti-inflamatório, antimicrobiano e antioxidante que é sistematicamente efetiva contra úlceras gástricas (MICKYMARAY et al., 2016; OLIVEIRA et. al., 2014).

Entre os produtos naturais, o Gengibre, planta herbácea da família Zingiberaceae, seus rizomas são indicados como antiemético e antidispéptico (LORENZI; MATOS, 2002). Os componentes biologicamente ativos e de classe química do gengibre possuem propriedades anti-inflamatória, antioxidante, antiulcerogênica, que tem atraído o interesse de cientistas, médicos e nutricionistas em razão de possuir vários compostos com diferentes efeitos terapêuticos (PARK; PEZZUTO, 2002).

As folhas da Espinheira-Santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.ex Reissek), pertencente à família Celastraceae (LORENZI, 2008). Indicado como antidispéptico, antiácido e protetor da mucosa gástrica. Tem um uso popular no tratamento de úlceras gástricas, sendo um fitoterápico isento de prescrição médica (D'IPPOLITO, 2005).

O termo dispepsia engloba uma série de sintomas gastrointestinais tais como dor e inchaço abdominal com ou sem náuseas, arrotos, flatulência e acidez gastrointestinal conhecida popularmente como “queimação” (WHO, 1999).

Contudo, ainda não existe no mercado uma droga que leve à remissão completa das úlceras gastroduodenais. Dados na literatura demonstram a grande variedade de substâncias químicas isoladas de plantas que apresentaram atividade

antiulcerogênica e contra distúrbios do trato gastrointestinal. (HIRUMA-LIMA, et. al., 2000).

Uma série de estudos corrobora a utilização do teste de *Allium cepa* como um ensaio importante na avaliação de extratos e infusões de plantas medicinais (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012). Este é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), sendo, portanto, mundialmente reconhecido como eficaz na análise de monitoramento da genotoxicidade de substâncias ambientais (BAGATINI et al., 2007) e recomendado devido a sua praticidade (fácil manipulação), baixo custo e cromossomos em boas condições para estudo de danos ou distúrbios na divisão celular, além de ser sensível e apresentar boa correlação com outros sistemas-testes. Uma vez que suas raízes crescem diretamente em contato com a substância testada, é possível analisar o efeito de diferentes concentrações (mesmo baixas) sobre o ciclo celular (FISKESJÖ, 1985).

Inúmeros são os agentes ambientais que podem induzir modificações químicas tanto ao nível celular quanto molecular, afetando processos da duplicação e transcrição gênica que podem aumentar e/ou acelerar o processo de aparecimento das mutações (CARVALHO, 2004; STELATO et al., 2007).

Os agentes mutagênicos poderão, então, ser detectados citologicamente pela inibição do ciclo celular, interrupção em metáfases, surgimento de pontes e micronúcleos, indução de alterações cromossômicas numéricas e estruturais, entre outros (SÁ et al., 2005).

O objetivo do trabalho buscou utilizar o teste *Allium cepa* para avaliar os efeitos citotóxicos e genotóxicos das infusões *IN NATURA* de *Maytenus ilicifolia* e *Zingiber officinale* em diferentes concentrações.

Material e Métodos

Os rizomas de Gengibre e as folhas verdes de Espinheira-Santa *in natura* foram obtidos em um pomar/horta particular localizado na zona urbana do município de Goiatuba – GO. Em entrevista com a proprietária o local distribuí e cultiva plantas medicinais que são destinadas para a comunidade e as mesmas são orgânicas e livres de defensivos agrícolas, o que permite a população fazer preparo de chás medicinais. Após a coleta das espécies botânicas, as partes vegetais foram

aconditionadas em caixa de isopor e transportadas para o Laboratório da Universidade Estadual de Goiás – *Campus Morrinhos* no mesmo dia.

Todos os bulbos de *Allium cepa* com diâmetros aproximados foram adquiridos no comércio local do município de Morrinhos – GO, estes vindo de plantações orgânicas da Escola Agrônômica do Instituto Federal – *Campus Morrinhos*.

Para o preparo das infusões: os rizomas e as folhas verdes foram fatiados e pesados na balança de precisão respectivamente e divididos em tratamentos separadamente. As divisões compreendem nas concentrações de (1g) um grama, (3g) três gramas, (5g) cinco gramas, (7g) sete gramas e por último (9g) gramas; segundo metodologia adaptada de Paula, et.al. (2015). Utilizando a chapa aquecedora foram fervidas 150 mL de água destilada, conforme as recomendações do Memento Fitoterápico da ANVISA (BRASIL, 2016), em um béquer, que incorporou as concentrações separadamente e vedou a ebulição, deixando em repouso por 15 minutos.

A infusão é um preparado que consiste em verter água fervente sobre a droga vegetal e, em seguida, tampar ou abafar o recipiente por tempo determinado. Método indicado para partes de drogas vegetais de consistência menos rígida tais como folhas, flores, inflorescências e frutos, ou que contenham substâncias ativas voláteis (PESSUTO et. al., 2009).

Posteriormente ao processo de infusão as soluções foram esfriadas e distribuídas em tubos de ensaio separando os tratamentos utilizando o bioindicador *A. cepa*, e a água destilada como controle negativo. Dos bulbos as escamas externas secas foram retiradas antes do experimento, sem prejuízo da área radicular. Para cada amostra (concentração) foi utilizado dois bulbos, por cinco dias ficaram sobre exposição, visando ter algum efeito toxicológico.

No sexto dia do experimento as pontas das raízes da cebola foram fixadas em álcool acético (3:1) por 12 horas para o preparo das lâminas histológicas dispomos das três maiores pontas das raízes de cada bulbo. Posteriormente, as mesmas foram maceradas em orceína acética 2%. Partindo para a análise microscópica, contagem de 5.000 células para cada tratamento e controles. O cálculo do índice mitótico e as alterações cromossômicas serão determinadas pela presença de pontes, fragmentos, cromossomos retardatários, micronúcleos e anel cromossômico, aderência e distúrbios na anáfase, telófase e os micronúcleos que serão visualizados nas células em divisão (RANK; NIELSEN, 1993), com o uso de um

microscópio óptico da marca Leica. Nas análises estatísticas foi utilizado o teste Qui-Quadrado ($p \leq 0.05$). O cálculo do índice mitótico: $IM = \frac{\text{n}^\circ \text{ de células em mitose} \times 100}{\text{n}^\circ \text{ total de células observadas}}$.

Resultados e Discussão

No Brasil as políticas envolvendo plantas medicinais e fitoterápicos estão sendo implantadas pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), destacando o Anexo I, este que contém 27 medicamentos fitoterápicos, incluindo o Gengibre, e o Anexo II com 16 produtos tradicionais fitoterápicos, que inclui a Espinheira-Santa da Instrução Normativa nº 02/2014. Contudo o Informe Técnico nº 007/2016 traz esclarecimentos sobre a regulamentação de industrialização, manipulação, comercialização e registros de insumos, de medicamentos fitoterápicos e de produtos tradicionais fitoterápicos, visando o uso da planta medicinal fresca, ou seja, a planta in natura o que valida o objetivo deste trabalho que utilizou a matéria-prima vegetal (BRASIL, 2015).

Os resultados das análises para avaliação da citotoxicidade através do crescimento radicular das células meristemáticas e do Índice Mitótico (IM) estão sumarizados na Tabela 1, onde observamos os valores médios do crescimento radicular (CR) de *A. cepa expostas nas concentrações das infusões de Zingiber in natura* (ZN) e *Maynetus in natura* (MN). *Zingiber in natura* em 3g possui o maior crescimento radicular; assim como o percentual do IM em 3g. Já para o MN temos nas concentrações de 1g e 3g, os maiores valores para ambas as variáveis.

Tabela 1: Valores Médios do Crescimento Radicular (CR) em centímetros e dos Valores Percentuais do Índice Mitótico (IM) nos tratamentos e controles negativo das três maiores raízes dos bioensaios de *Zingiber in natura* (ZN) e *Maytenus in natura* (MN).

| CONCENTRAÇÕES | CR (cm) | | IM (%) | |
|-------------------|---------|-----|--------|------|
| | ZN | MN | ZN | MN |
| 1g | 0,6 | 2,2 | 47,3 | 47 |
| 3g | 1,5 | 1,1 | 53,6 | 54,2 |
| 5g | 1,1 | 0,3 | 33,5 | 24,9 |
| 7g | 0,6 | 1 | 43,8 | 25 |
| 9g | 0,7 | 0,9 | 21,6 | 35,2 |
| Controle negativo | 2 | 4,2 | 51,8 | 50,2 |

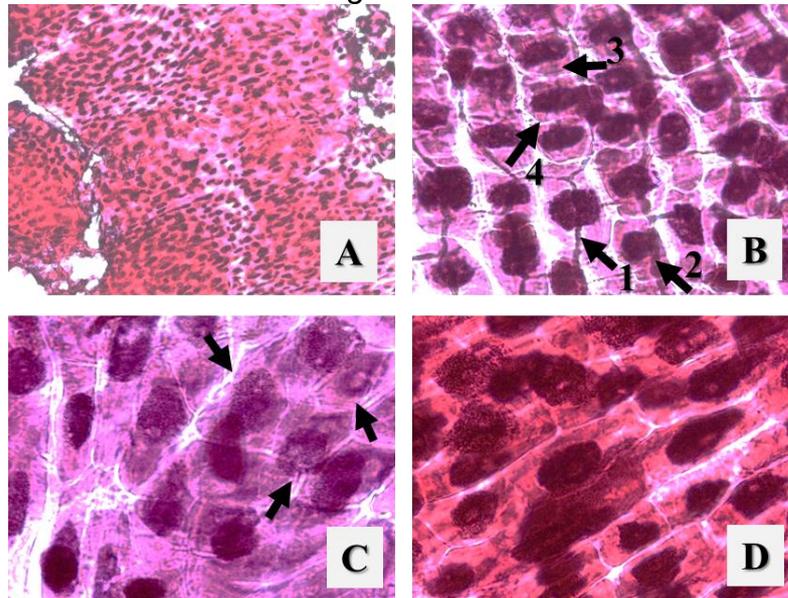
O crescimento das raízes na avaliação da citotoxicidade em infusos de diversas plantas medicinais é abordado por muitos autores, como Bagatini et al. (2007), que relatam queda na capacidade das células tratadas com infusos de

diversas plantas medicinais em iniciar a divisão celular, associada à declínio no crescimento radicular; que pode ser considerada uma forma efetiva e simples de se verificar os efeitos mutagênicos promovidos por substâncias fitoquímicas.

Para a avaliação da genotoxicidade além do cálculo do IM, temos a contagem citológica de 5.000 células para cada tratamento, que pelo teste estatístico Qui-Quadrado, com nível de significância fixado em $p \leq 0.05$; verificamos que não houve diferença significativa das células em mitose comparado com o controle para o bioensaio com ZN e MN; exceto para ZN com concentração de 3g, onde 53,6% das células estavam em divisão com ($X^2 = 1,40$; $GL=1$; $p < 0,05$).

Para o gengibre o aumento da concentração favoreceu o surgimento de anomalias responsáveis pelo efeito genotóxico das infusões visto em maior número na concentração de 7 e 9g (Figura 1), mesmo sem relação com o crescimento radicular, o que no entanto pode interferir acelerando o processo de divisão celular nas células meristemáticas de cebola, conforme Iganci et al., (2006).

Figura 1: Células meristemáticas radiculares de *Allium cepa* em divisão mitótica expostas às infusões de *Zingiber officinale*



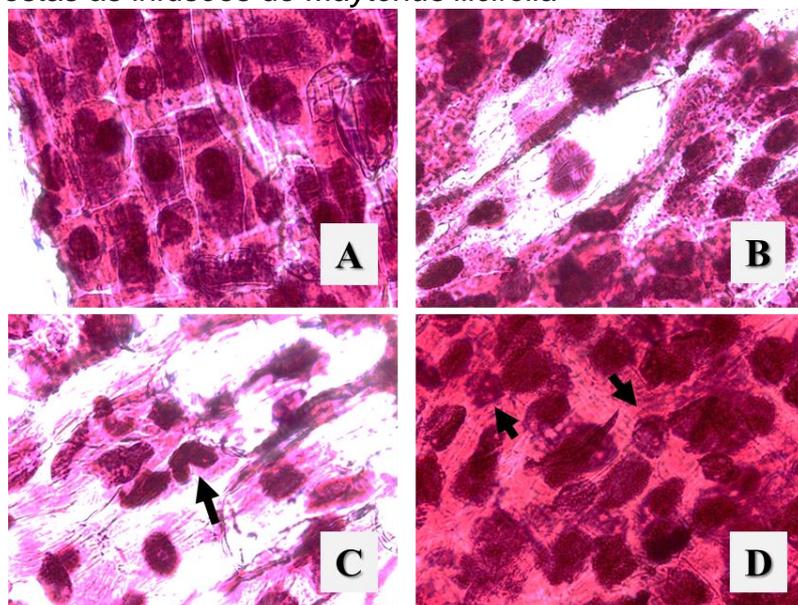
Legenda: **A** – Visão da organização celular do corte histológico do Controle Negativo (aumento: 40x). **B** – Células em divisão celular normal (1. Interfase. 2. Prófase. 3. Metáfase. 4. Telófase) evidentes na concentração de 3g (aumento 100x). **C** – Prófasas com núcleos aderidos (setas) na concentração de 7g (aumento 100x). **D** – Células irregulares em interfase na concentração de 9g (aumento 100x).
Fonte: Autores.

Para Moraes e Oliveira (2008), descrevem os efeitos de desmutagênese e bioantimutagênese do gengibre, com taxas de redução de danos observadas a partir de testes nas concentrações de 0,005, 0,010 e 0,015g/L. Substâncias desmutagênicas são aquelas capazes de impedir a ação dos agentes indutores de

danos, principalmente por adsorção dos mesmos, portanto agem no meio extracelular, preferencialmente. Já os agentes bioantimutagênicos são aqueles capazes de atuar na prevenção da lesão ou no reparo do DNA, agindo no interior da célula (KADA; SHIMOI, 1987). Contudo no trabalho de Carvalho e Rodrigues (2014), que testaram concentrações mais altas, onde com 10g/L, demonstraram efeito citotóxico e dano celular pela presença de alterações no ciclo celular e grande número de células em interfase.

Para Espinheira-Santa o efeito citogenotóxico foi maior entre os dois bioensaios, sendo visto nas concentrações de 5, 7 e 9g (Figura 2), onde houve inibição da divisão celular e muitas células estavam anormais.

Figura 2: Células meristemáticas radiculares de *Allium cepa* em divisão mitótica expostas às infusões de *Maytenus ilicifolia*



Legenda: **A** – Células em divisão celular no corte histológico do Controle Negativo (aumento: 100x). **B** – Anomalia não identificada na concentração de 5g (aumento 100x). **C** – Célula bilobulada (seta) na concentração de 7g (aumento 100x). **D** – Células com micronúcleos (setas) na concentração de 9g (aumento 100x). Fonte: Autores.

No trabalho de Souza et. al. (2005), além do efeito citotóxico o extrato de espinheira-santa na concentração de 40 mg/mL provocou alterações cromossômicas como pontes anafásicas, sugerindo um possível efeito genotóxico. Teixeira e Vicentini (1997), através de ensaio biológico, também verificaram a potencialidade genotóxica de *Maytenus ilicifolia* sobre os discos imaginiais de *Drosophila melanogaster*.

Para correlacionamos os dados obtidos pela análise citogenotípica, realizamos a secagem de 3g do rizoma fresco de gengibre na estufa a 70°C por 12h, a massa seca corresponde a 0,7g. Estes resultados corroboram com as

recomendações da ANVISA, visto que para o Gengibre a infusão dos seus rizomas secos devem ser preparados com cerca de 0,5 a 1 g em 150 mL de água. Para a Espinheira-Santa a infusão de 3 g de folhas secas em 150 mL de água (q.s.p).

Nos intervalos das concentrações de 1 a 3g obtivemos para ambos os bioensaios (ZN e MN) os maiores crescimentos radiculares e os maiores valores do índice mitótico, com células em divisão com os menores valores de células anormais.

Considerações Finais

Os resultados demonstraram que a infusão de *Zingiber officinale* com 3g é a mais preconizada entre as concentrações testadas e para *Maytenus ilicifolia* (1 a 3g), ambos em 150 mL de água (q.s.p). Os efeitos mutagênicos no organismo humano pela automedicação com plantas medicinais são negligenciados uma vez que são usados de forma errada e indiscriminada. E conseqüentemente, seu potencial citotóxico e genotóxico necessita, por exemplo, de estudos moleculares para evidenciar a real ação dos princípios ativos destas plantas sobre o cuidado as células humanas.

Agradecimentos

A Tereza dos Santos, proprietária do Pomar/Horta, onde foram feitas as coletas pela gentileza em ceder o material para pesquisa. A Universidade Estadual de Goiás no Programa de Voluntários de Iniciação Científica a oportunidade de desenvolver o projeto de IC&T.

Referências

ALBERTASSE, P. D. Plantas medicinais e seus usos na comunidade da Barra do Jucu, Vila Velha, ES. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.3, p.250-260, 2010.

AMOROZO, M. C. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.16, n.2, p.189-203, 2002.

ANVISA. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC N° 48, DE 13 DE MAIO DE 2014**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0026_13_05_2014.pdf/d6e5b9d7-dc13-46ce-bfaa-6af74e8a2703>. Acesso em 15 fev 2017.

BAGATINI, M.D. et al. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Memento Fitoterápico**. Farmacopéia Brasileira. 1. ed. Brasília, DF: Anvisa, 2016. 126 p.

BRASIL. **Lei Federal nº 13.123 de 20 de maio de 2015**. Dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2015/Lei/L13123.htm>. Acesso em 15 fev 2017.

CARVALHO, C. S.; RODRIGUES, G. P. Avaliação dos efeitos anticarcinogênicos das propriedades do gengibre e sua atuação na prevenção e tratamento do câncer. **Universidade Federal do Piauí**, 2014.

CARVALHO, J. E. **Toxicidade pré-clínica: fitoterápicos e alimentos com propriedades funcionais ou de saúde**. 2004.

D'IPPOLITO, J. A. C.; ROCHA, L. M.; SILVA, R. F. **Fitorerapia Magistral** – Um guia prático para a manipulação de fitoterápicos. São Paulo: Anfarmag, 2005. 194 p.

FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006.

FISKEJO, G. The *Allium* test. As a standard in environmental monitoring. **Hereditas** (Lund) v.102, p. 99-112, 1985.

HIRUMA-LIMA, C.A.; GRACIOSO, J.S.; RODRIGUEZ, J.A.; HAUN, M.; NUNES, D.S., SOUZA-BRITO, A.R.M. 2000. Gastroprotective Effect of Essential Oil from *Croton cajucara* Benth. (Euphorbiaceae) **Journal of Ethnopharmacology** 69(3): 229-234.

IGANCI, J.R.V.; BOBROWSKI, V.L.; HEIDEN, G.; Stein, V.C.; ROCHA, B.H.G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 79-82, 2006.

JARDIM, M. A. G.; MENDONÇA, L. F. R. de; FERREIRA, M. M. D. Os produtos naturais para o desenvolvimento sustentável e biotecnológico: um estudo sobre plantas antimaláricas no estado do Pará. **Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior**, Brasília, 2001.

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

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.Ed. Nova Odessa, SP: Instituto plantarum, 2002. 512p.

MICKYMARAY, S. MOHAMMAD, S.A.A.; PRADIPTA, K.R; PANNEERSELVAM, A.; THAJUDDIN, N. Screening and antibacterial efficacy of selected Indian medicinal

Plants. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 3, p. 185-191, 2016.

MORAES, D.; OLIVEIRA, M. Avaliação da atividade quimioprotetora do gengibre pelo sistema de *allium cepa*. **Centro Universitário Filadélfia**, 2008.

OLIVEIRA, L. A. R., et al. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v.16, n.1, p. 32-40, 2014.

PARK E. J; PEZZUTO J. M. Botanicals in Cancer Chemoprevention. **Cancer and Metastasis Reviews**, 2002.

PAULA, R. P.; BUENO, S.S.S.; TIAGO, A. V.; SCHMITT, K. F.M.; ROSSI, A.A.B. ROSSISTEMA TESTE DE *Allium cepa* COMO BIOINDICADOR DE CITOTOXICIDADE E GENOTIXICIDADE EM *Aristolochia elegans* Mast **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.21; p. 1749, 2015.

PESSUTO, M. B.; COSTA, I. C.; SOUZA, A. B.; NICOLI, F. M.; MELLO, J. C. P. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, v. 32, p. 412-416, 2009.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, v.18, p.49-53, 1993.

SÁ, U. M. de et al. Avaliação da água do canal São Gonçalo através do teste de *Allium cepa*. In: **XIV Congresso de Iniciação Científica**, 2005, Pelotas.

SIMÕES, C.M.O et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 2. ed. Florianópolis: UFSC, p.194, 2000.

SOUZA, S. A. M.; CATTELAN, L .V.; PIANA, C. F. B.; BOBROWSKI, V. L.; ROCHA, B. H. G. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* mart. Ex reiss.). **Ci. Biol. Saúde**, Ponta Grossa: 7-14, set./dez. 2005.

STELATO, L.M.N. et al. Avaliação do potencial mutagênico de resíduos processados da farinha de mandioca (*Manihot esculenta*) em ratos Wistar. **Arq. Mudi.**, Maringá,

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D. Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test . **INTECH Open Access Publisher**, 2012.

TEIXEIRA, R.O.; VICENTINI, V.E.P. Estudo da mutagenicidade de plantas In. **Congresso Brasileiro de Genética**, 43^o, Ribeirão Preto-SP, 1997. v.11, supl. 1, n.11, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO monographs on selected medicinal plants**. Geneva, Switzerland: World Health Organization, v. 1, p. 277-287, 1999.