

Fundamentos e aplicações do *Allium cepa* L. como bioindicador de mutagenicidade e citotoxicidade de plantas medicinais.

Luciana Rodrigues Lessa

Graduada em Licenciatura em Química pela Universidade Salgado de Oliveira e graduada em Farmácia Industrial pela Universidade Federal Fluminense. Mestre em Ciências Ambientais. Professora da Universidade Estácio de Sá

Mateus Curty Cariello da Silva

Aluno da Faculdade de farmácia UNESA/Nova Friburgo. Bolsista PIBIC/UNESA.

Fernanda de Melo Regazio Cariello

Aluna da Faculdade de farmácia UNESA/Nova Friburgo. Bolsista PIBIC/UNESA.

Registro DOI: <http://dx.doi.org/10.22280/revintervol10ed3.294>

Resumo

O uso de plantas medicinais é muito difundido no Brasil, este meio terapêutico pode ser muito eficiente, contudo sua administração deve ser realizada com cautela. Todos os dias, pessoas procuram auxílio médico com sintomas de intoxicação por ingestão de compostos provenientes de ervas consideradas curativas e não são raros os casos de óbito relacionados ao uso dessas substâncias. Para garantir o uso seguro das plantas medicinais deve-se submetê-las a testes de citotoxicidade e mutagenicidade, porém pouco foi estudado nesse sentido. Comumente para realizar essa testagem, os pesquisadores lançam mão de bioindicadores que podem ser bactérias, microcrustáceos, insetos e vegetais como é o caso do Sistema Teste *Allium cepa* L. Este é um sistema considerado pela literatura como o bioindicador ideal da citogenotoxicidade de infusões de plantas medicinais, pois possui confiabilidade comprovada através de certificado em órgãos internacionais, é um item universal, de baixo custo, cultivável o ano todo, possui rápido desenvolvimento de células e cromossomos grandes. A metodologia do Sistema Teste *Allium cepa* é simples e de fácil execução. Essas características o elegem como o instrumento preferido pela comunidade científica para um primeiro *screening* da citogenotoxicidade de infusões de plantas medicinais.

Palavras-chave: Intoxicação. Plantas Medicinais. Prevenção.

Foundations and applications of *Allium cepa* as a bioindicator of mutagenicity and cytotoxicity of medicinal plants

Abstract

The use of medicinal plants is very widespread in Brazil, this therapeutic medium can be very efficient, however its administration must be carried out with caution. Every day people seek medical help with symptoms of intoxication from ingestion of herbal compounds considered curative and cases of death related to the use of these substances are not uncommon. In order to guarantee the safe use of medicinal plants, they should be submitted to cytotoxicity and mutagenicity tests, but little has been studied in this regard. Commonly to carry out this testing, the researchers use bioindicators that can be bacteria, microcrustaceans, insects and vegetables, as in the case of the *Allium cepa* Linnaeus Test. This is a system considered by the literature as the ideal bioindicator of the cytotoxicity of herbal infusions, since it has proven reliability through certification in International organ, it is a universal, low cost item, cultivable all year long, has a rapid development of cells and Large chromosomes. The methodology of the *Allium cepa* Test is simple and easy to perform. These characteristics elect it as the instrument preferred by the scientific community for a first screening of the cytotoxicity of herbal infusions.

Keywords: Intoxication. Medical Plants. Prevention.

Recebido em 21/02/2017 Aceito em 08/05/2017

Introdução

No Brasil diversos sintomas são tratados pelo uso de plantas medicinais. Estima-se que 60 a 80% da população dos países em desenvolvimento fazem uso de plantas para cuidar de sua saúde. Esses vegetais são comercializados em feiras livres, mercados populares e cultivados residencialmente (PASTORI et al, 2014; BAGATINI et al, 2007; PINHO et al, 2010).

O uso de plantas medicinais com finalidade terapêutica pode ser muito eficiente, contudo alguns compostos presentes em determinadas espécies podem causar efeitos deletérios. Com certa frequência, pessoas procuram atendimento hospitalar com sintomas de intoxicação por uso dessas substâncias e não são raros os casos de óbito. Por conta disso é necessário investigar através de testes biológicos se as drogas vegetais possuem caráter citogenotóxico, ou seja, se ela é capaz de alterar o ciclo celular humano ou danificar seu material genético (PINHO et al, 2010; NEVES, 2013).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, apesar da imensa variedade de espécies vegetais, estima-se que apenas 15 a 17% têm sido cientificamente estudadas para a avaliação de suas qualidades, segurança e eficácia. Pessoas podem estar ingerindo substâncias tóxicas sem saber e por vezes os efeitos colaterais e o dano podem ser irreversíveis (BAGATINI et al, 2007; PASTORI et al, 2007).

O sistema *Allium cepa* é um excelente bioindicador para identificação de características citogenotóxicas de extratos de plantas medicinais. Ele permite identificar se nas raízes da cebola ocorre aumento do número basal de aberrações cromossômicas como quebras cromatídicas, pontes anafásicas, formação de micronúcleo, ou mesmo a destruição total do cromossomo, além de alterações no processo de divisão celular (PINHO et al, 2010; SILVA et al, 2013).

Existem vários indicadores biológicos de citogenotoxicidade de extratos de plantas medicinais utilizados em laboratório, dentre eles podemos citar o uso de bactérias, insetos, peixes, poliquetas, anfíbios, roedores, humanos e espécies vegetais, como o *Vicia faba* L. e o Sistema *Allium cepa* considerado o mais utilizado pela comunidade científica, outro exemplo é um microcrustáceo marinho o *Artemia salina*, que é uma espécie utilizada em ensaios biológicos também para avaliação de toxicidade pré-clínica em infusões de plantas medicinais (NEVES, 2013; BUENO, PIOVEZAN, 2015).

As vantagens de se utilizar o Sistema *Allium cepa* são seu baixo custo, confiabilidade e equivalência com os mais conceituados testes de citogenotoxicidade. Ele é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, WHO) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), tido como instrumento de extrema eficiência para o monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias químicas (FACHINETTO et al, 2004).

O teste *Allium cepa* é intitulado como um bioindicador ideal para o primeiro *screening* da citogenotoxicidade de infusões de plantas medicinais pela sua sensibilidade e exatidão. Assim há uma crescente adoção da comunidade científica pelo método. O intuito é atuar na prevenção de possíveis enfermidades que venham acometer seres humanos por ingestão de substâncias nocivas advindas de plantas que até então eram consideradas pela população como curativas (BAGATINI et al, 2007).

A cebola (*Allium cepa*) é um item universal, sempre disponível, cultivável em qualquer época do ano, possui desenvolvimento rápido, suas raízes são macias e com meristema abundante, suas células e cromossomos são grandes, o que permite a observação por microscópio óptico que é encontrado na maioria dos laboratórios universitários. O *Allium cepa* apresenta cromossomos maiores e em número reduzido ($2n = 16$) (POLETTO et al, 2011; ALMEIDA, 2014).

Outra grande vantagem do *Allium cepa* é que o processo de divisão celular de suas raízes assemelha-se em muito ao processo de divisão celular humano. A execução do teste em infusões de plantas medicinais é bem simples e não exige equipamento sofisticado. (CORREIA et al, 2014; POLETTO et al, 2011; GALEMBECK et al, 2010).

O objetivo deste trabalho é conhecer as diferentes metodologias utilizadas no teste *Allium cepa*, descrever os principais resultados obtidos em ensaios realizados com extratos vegetais e atestar sua eficiência como um primeiro *screening* da citogenotoxicidade de infusões de plantas medicinais.

Metodologia

Foi realizada uma busca dos artigos relacionados à temática de interesse, publicados em revistas indexadas nas bases de dados do Google Acadêmico e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*), com a utilização de limites temporais, do ano de 2007 a 2016. Na estratégia para a captura de publicações, foi utilizado o seguinte descritor em português: “*Allium cepa*, bioindicador, mutagenicidade, citotoxicidade e plantas medicinais”. Os critérios de busca foram aplicados para os títulos e resumos. Foram considerados os artigos publicados em português. Após a

leitura do título e resumos foram excluídos os estudos não relacionados ao tema e os artigos em duplicidade nas bases de dados.

Resultados e Discussões

Os dezessete artigos selecionados afirmam que o sistema *Allium cepa* é um teste de baixo custo, de confiabilidade reconhecida e auxilia na prevenção de riscos à saúde no uso de plantas medicinais que são amplamente utilizadas pela população.

A execução do teste em infusões de plantas medicinais é simples, não exige equipamento sofisticado e possui pequenas diferenças quanto à metodologia utilizada.

Em grande parte dos trabalhos selecionados a técnica inicia-se pela retirada de raízes dos remanescentes das cebolas com auxílio de uma lâmina de barbear ou tesoura. Após isso uma quantidade pré-determinada de bulbos é colocada em recipientes contendo água purificada (controle negativo) e o restante dos bulbos é colocado em recipientes contendo a infusão da planta medicinal (controle positivo), após 7 (sete) dias em contato, faz-se a medição do comprimento das raízes em cada tratamento, caso haja disparidade entre o desenvolvimento radicular de um tratamento para outro, fica caracterizada a toxicidade. Retira-se a parte apical das raízes com auxílio de objeto cortante, após isso, as raízes são fixadas, coradas em orceína acética (1%) postas em lâminas e submetidas à observação por microscopia óptica utilizando a lente objetiva em óleo de imersão para alcançar um aumento de 1000x permitindo assim medir-se o índice de proliferação das células radiculares (análise citotóxica) e incidência de aberrações cromossômicas (análise genotóxica) (CORREIA et al., 2014; POLETTTO et al., 2011; GALEMBECK et al., 2010).

Outra técnica importante de preparo pode ser aplicada, em que os bulbos inicialmente são lavados em água corrente e escarificados (cortados superficialmente). Os bulbos do controle negativo permanecem por 120 horas em água destilada em temperatura ambiente e os bulbos do controle positivo são expostos aos extratos também permanecendo por 120 horas. Posteriormente, as raízes são lavadas, retiradas e esmagadas para a aplicação da orceína acética para coloração dos núcleos. Neste caso, as lâminas podem ser analisadas no aumento de 400x no microscópio óptico (SILVA et al.; 2012).

HISTER (2015) recomenda que após o período de aplicação dos tratamentos, as radículas com aproximadamente 5 mm sejam coletadas, fixadas em etanol : ácido acético (3:1) por 24 horas e armazenadas em etanol 70% sob refrigeração que para posteriormente faça análise do ciclo celular. Na confecção das lâminas, antes da coloração com orceína acética 2% as pontas das raízes devem ser hidrolisadas em ácido clorídrico (HCl) 1N por 5 minutos, e lavadas em água destilada. Nos ensaios de PORTIS et al. (2016) as raízes foram hidrolisadas em HCl a 5N por um período de 10 min para em seguida serem coradas em orceína acética a 1% por 10 minutos.

A reação de Feulgen (BAGATINI et al., 2007) e o kit panótipo rápido LB (POLETTTO et al., 2011) também podem ser utilizados para coloração dos cromossomos das raízes de *Allium cepa*.

A secagem da droga vegetal para a produção do extrato pode ser feita de forma natural (PINHO et al., 2008; PASTORI et al., 2015) ou em estufa (POLLETO et al., 2011).

As infusões são feitas a partir de imersão da droga vegetal em água fervente, ficando cobertas por 10 a 15 min (PINHO et al., 2008; PASTORI et al., 2015). Outros solventes como o metanol (POLLETO et al., 2011) e o ciclohexano (CORREIA et al., 2014) são utilizados a fim de permitir a extração de um maior número de compostos tendo em vista suas polaridades. ALMEIDA (2014) procedeu a maceração em nitrogênio líquido para obtenção de um pó fino para o preparo dos extratos aquosos e etanólicos. As concentrações dos extratos variam conforme as espécies estudadas desde a concentração de 500 µg/mL no extrato das partes aéreas de *Richardia brasiliensis* Gomes (DORNELLES, 2015) até a concentração de 2,4g/mL no caso da *Polygonum punctatum* Elliott (PASTORI et al., 2015).

A água deionizada pode ser utilizada como controle negativo (PORTIS et al., 2016; DORNELLES, 2015; KUHN, 2015; FACHINETTO, 2007). Como controle positivo, pode ser utilizado o herbicida glifosato 1% (DORNELLES, 2015) ou o paracetamol 800 mg/L (PORTIS et al., 2016) .

A partir da Tabela 1 pode-se observar a utilização do sistema teste vegetal de *Allium cepa* como bioindicador e os resultados obtidos nos estudos identificados pela pesquisa.

Tabela1- Tabela de resultados encontrados utilizando o bioindicador *Allium cepa*.

Ano	Título	Autor	Resultados
2007	Uso do Sistema Teste de <i>Allium cepa</i> Como Bioindicador de Genotoxicidade de Infusões de Plantas Medicinais.	Bagatini et al.	Validação do método de forma conjunta com teste animal in vitro e estudos realizados com sistema teste de mamíferos.
2007	Efeito Anti-proliferativo das Infusões de <i>Achyrocline satureioides</i> DC (Asteraceae) Sobre o Ciclo Celular de <i>Allium cepa</i> .	Fachinetto et al.	Comprova a capacidade citotóxica mas não a mutagênica.
2008	Avaliação da Atividade Mutagênica da Infusão de <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC. em Teste de <i>Allium cepa</i> e Teste de Aberrações Cromossômicas em Linfócitos Humanos.	Pinho et al.	Comprova o efeito mutagênico em células vegetais e em células humanas cultivadas.
2009	Avaliação Genotóxica e Mutagênica do Óleo Essencial de <i>Schinus terebinthifolius</i> e Estudo de Sua Ação Antifúngica Contra <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> in vitro e in vivo.	Grippa, G. A.	Ausência de genotoxicidade e mutagenicidade do óleo essencial.
2011	Análise da Mutagenicidade do Extrato Hidrossolúvel de <i>Derris rariflora</i> (MART. EX BENTH. J. F. MACBR: FABACEAE), Timbó Amazônico, Através do Teste de Micronúcleo em <i>Allium cepa</i> .	Poletto et al.	Encontrado alto índice de alteração mutagênica.
2012	Estudos dos Efeitos do Chá do (cogumelo do sol) no Índice Mitótico das Células Meristemáticas do <i>Allium cepa</i> .	Silva et al.	Os resultados mostraram redução significativa do comprimento e do índice mitótico.
2013	Sistema Teste de <i>Allium cepa</i> Como Bioindicador de Citotoxicidade de Substâncias Usadas na Conserva de <i>Olea europaea</i> Linnaeus.	Silva et al	O conservante usado em altas concentrações é potencialmente citotóxico.
2014	Potencial Enotóxico do Extrato Foliare do Látex de Pinhão-Roxo <i>Jatropha gossypifolia</i> Linnaeus.	Almeida, P. M.	Os testes realizados indicaram toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade.
2014	Avaliação da Citotoxicidade do Extrato Hídrico da Erva Doce (<i>Pimpinella anisum</i> L.) Através do Teste em <i>Allium cepa</i> Linnaeus.	Figueiredo, D. R.	Concluiu-se que o extrato aquoso não possui atividade citotóxica.
2014	Avaliação do Potencial Tóxico, Citotóxico e Genotóxico do Extrato Foliar de <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan por Meio o Sistema Teste <i>Allium cepa</i> L..	Correia et al	Confirmada a atividade tóxica em todas as concentrações e a atividade genotóxica na concentração de 3,125 mg/mL.
2015	Genotoxicidade, Citotoxicidade, Compostos Fenólicos e Viabilidade Polínica de <i>Psidium cattleianum sabine</i> (myrtaceae)	Hister C. A. L.	Conclui-se que o suco de araçá possui efeito proliferativo, genotóxico e antimitótico.

2015	Viabilidade Polínica, Genotoxicidade, Efeito Antiproliferativo e Compostos Fenólicos de <i>Peltodon longipes</i> Kunth ex Benth.	Kuhn, A. W.	Os extratos demonstraram potencial genotóxico e antiproliferativo.
2015	Potencial Antiproliferativo, Genotóxico e Fitoquímica de <i>Richardia brasiliensis</i> Gomes.	Dornelles, R. C.	Foram constatados efeitos genotóxicos, potencial antiproliferativo (500 µg/mL) e alterações cromossômicas.
2015	Avaliação das Atividades Genotóxica e Antioxidante da Periderme do Caule de Chichuá (<i>Maytenus guianensis klotzsch</i>).	<i>Hurtado et al.</i>	Detectou baixa atividade genotóxica e significativa atividade antiproliferativa.
2015	Ação Genotóxica e Antiproliferativa de <i>Polygonum punctatum</i> Elliott (Polygonaceae) Sobre o Ciclo Celular de <i>Allium cepa</i> L.	Pastori et al.	Confirmada a capacidade antiproliferativa, mutagênica e genotóxica.
2015	Estudo Alelopático, Fitoquímico e Genotóxico de Extratos Aquosos de <i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart. e <i>Combretum leprosum</i> Mart. EM <i>Allium cepa</i> .	Pereira, J. C. S.	A citotoxicidade foi confirmada.
2016	Bioensaio Citogenético para a Caracterização da Mutagenicidade e Citotoxicidade da Espécie <i>Chochlospermum regium</i>	<i>Portis et al.</i>	Não foi constatado efeitos citotóxicos e mutagênicos.

Fonte: o autor (2017)

Conclusão

Foi confirmado êxito do sistema *Allium cepa* em testes preliminares nos estudos apresentados para a determinação de toxicidade de extratos de plantas medicinais através da observação dos efeitos mutagênicos, genotóxicos e citotóxicos dos extratos sobre suas raízes. O sistema *Allium cepa* é claramente reconhecido como uma metodologia eficaz e sensível às variações possíveis que podem ser evidenciadas, além de ser um teste de baixo custo, fácil execução e de confiabilidade reconhecida. É necessário salientar que novas análises devem ser realizadas para fins de comparação e complementação dos resultados.

Agradecimentos

Os autores agradecem Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) da Universidade Estácio de Sá pelo apoio ao projeto.

Referências

- ALMEIDA, P. M.; **Potencial Genotóxico do Extrato Foliar e do Látex de Pinhão-Roxo (*Jatropha gossypifolia* L.)**. Universidade Federal de Pernambuco. 2014. Disponível em: <<http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/12336>> Acesso em: 31 mar. 2017.
- BAY-HURTADO, F.; LIMA, R. A.; AZEVEDO, M. S.; FACUNDO, V. A.; **Avaliação das atividades genotóxica e antioxidante da periderme do caule de chichuá (*Maytenus guianensis* Klotzsch)**. Revista Scientia Plena, v. 11, num 07. 2015. Disponível em: <<https://scientiaplenua.emnuvens.com.br/sp/article/view/070202/1323>> Acesso em: 31 mar. 2017.
- BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B.; **Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais**. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n3/18.pdf>> Acesso em: 15 dez. 2016.
- BUENO, A. C.; PIOVEZAN, M.; **Bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina*: fatores envolvidos em sua eficácia**. Instituto Federal de Santa Catarina. 2015. Disponível em: <<http://docente.ifsc.edu.br/michael.nunes/MaterialDidatico/Analises%20Quimicas/TCC%20II/TCC%202015%202/Ariele.pdf>> Acesso em: 15 dez. 2016.
- CORREIA, D. S.; SIQUEIRA, E. A.; ARAÚJO, S. S.; SILVA, C. M. A.; SILVA, M. V.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; **Avaliação do potencial tóxico, citotóxico e genotóxico do extrato foliar de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan por meio o sistema teste *Allium cepa* L.** UFPE, Recife, PE. 2014. Disponível em: <<file:///C:/Documents%20and%20Settings/Geral/Meus%20documentos/Downloads/2549-7333-1-PB.pdf>> Acesso em: 15 dez. 2016.
- DORNELLES, R. C.; **Potencial antiproliferativo, genotóxico e fitoquímica de *Richardia brasiliensis* gomes**. Universidade Estadual de Santa Maria. 2015. Disponível em: <http://w3.ufsm.br/ppgagrobio/Rafaela_Dornelles.pdf> Acesso em: 31 mar. 2017.
- FACHINETTO, J. M.; BAGATINI, M. D.; DURIGON, J.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B.; **Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (*Asteraceae*) sobre o ciclo celular de *Allium cepa***. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n1/a11v17n1.pdf>> Acesso em: 15 dez. 2016.

FIGUEIREDO, D. R.; **Avaliação da citotoxicidade do extrato hídrico da erva doce (*Pimpinella anisum L.*) através do teste em *Allium cepa L.*** Universidade Estadual da Paraíba. 2014. Disponível em: <<http://dspace.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/123456789/3872>> Acesso em: 31 mar. 2017.

GALEMBECK, E.; SANTORO, C. E.; ; KIMURA, E. K.; TAMASHIRO, J. Y.; GUERREIRO S. M. **Laminário virtual: Células vegetais.** Projeto Embrião - Universidade Estadual de Campinas. 2010. Disponível em: <<http://mecdb3.c3sl.ufpr.br:8080/xmlui/handle/123456789/17493> > Acesso em: 05 mai. 2017.

GRIPPA, G. A.; **Avaliação genotóxica e mutagênica do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* e estudo de sua ação antifúngica contra *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro e in vivo.** Universidade Federal do Espírito Santo. 2009. Disponível em: <http://portais4.ufes.br/posgrad/teses/tese_4393_Disserta%E7%E3o%20Gabriela%20de%20Almeida%20Grippa20130704-125811.pdf> Acesso em: 31 mar. 2017.

HISTER, C. A. L.; **Genotoxicidade, citotoxicidade, compostos fenólicos e viabilidade polínica de *Psidium cattleianum Sabine* (MYRTACEAE).** Universidade Federal de Santa Maria. 2015. Disponível em: <<http://w3.ufsm.br/ppgagrobio/Carmine.pdf>> Acesso em: 31 mar. 2017.

HURTADO, F. B.; LIMA, R. A.; AZEVEDO, M. S.; FACUNDO, V.A. **Avaliação das atividades genotóxica e antioxidante da periderme do caule de chichuá (*Maytenus Guianensis Klotzsch*).** Scientia Plena. V. 11, n. 7, 2015. Disponível em: <<https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/070202>> Acesso em: 05 mai. 2017.

KUHN, A. W.; **Viabilidade polínica, genotoxicidade, efeito antiproliferativo e compostos fenólicos de *Peltodon longipes* KUNTH EX BENTH. (LAMIACEAE).** Universidade Federal de Santa Maria. 2015. Disponível em: <<http://w3.ufsm.br/ppgagrobio/Andrielle.pdf>> Acesso em: 31 mar. 2017.

NEVES, C. S.; ***Pfaffia glomerata Spreng. Pedersen* (Ginseng brasileiro): Citogenotoxicidade no ensaio de *Allium cepa L.*** Universidade Federal de Juiz de Fora/ JF. 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/988> > Acesso em: 15 dez. 2016.

PASTORI, T.; KUHN, A. W.; TEDESCO, M.; HOFFMANN, C. E.; NEVES, L. A. S.; CANTO-DOROW, T. S.; TEDESCO, S. B.; **Ação genotóxica e antiproliferativa de *Polygonum punctatum* Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2015. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v17n2/1516-0572-rbpm-17-2-0186.pdf> > Acesso em: 15 dez. 2016.

PEREIRA, J. C. S.; **Estudo alelopático, fitoquímico e genotóxico de extratos aquosos de *Aspidosperma pyrifolium* MART. E *Combretum leprosum* MART. EM *Allium cepa*.** Universidade Federal Rural do Semi- Árido. Mossoró/RN. 2015. Disponível em: < <https://ppgpa.ufersa.edu.br/wp-content/uploads/sites/60/2014/10/DISSERTA%C3%87%C3%83O-JOS%C3%89-CARLOS-DA-SILVEIRA-PEREIRA.pdf> > Acesso em: 31 mar. 2017.

PINHO, D. S.; STURBELLE, R. T.; ROTH, M. G. M.; GARCIAS, G. L.; **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. 2008. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n2/a05v20n2.pdf> > Acesso em: 15 dez. 2016.

POLETTI, P. O.; DINIZ, A. P.; BERNARDON, B.; ZAN, R. A.; RAMOS, L. J.; MENEGUETTI, D. U. O.; **Análise da mutagenicidade do extrato hidrossolúvel de *Derris rariflora* (MART. EX BENTH. J. F. MACBR: FABACEAE), Timbó amazônico, através do teste de micronúcleo em *Allium cepa*.** Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA/Ariquemes/RO. 2011. Disponível em: < <http://www.periodicos.unir.br/index.php/propesq/article/viewFile/402/433> > Acesso em: 15 dez. 2016.

PORTIS, I. G.; FIGUEIREDO, F. R. G.; PENA, R. V.; HANUSCH, A. L.; SOUSA, L. P.; MACHADO, R. C.; SILVA, C. C.; CRUZ, A. D.; **Bioensaio citogenético para a caracterização da mutagenicidade e citotoxicidade da espécie *Choclospermum regium*.** Revista Eletrônica da Faculdade de CERES. 2016. Disponível em: <<http://ceres.facer.edu.br/revista/index.php/refacer/article/view/96>> Acesso em: 31 mar. 2017.

SILVA, B. M.; NISHIMUTA, H. A.; SANTOS, E. T. B.; COSTA, C. D. N. G.; ROSSI, A. A. B.; **Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de citotoxicidade de substâncias usadas na conserva de *Olea europaea* L.** UNEMAT/AF. 2013. Disponível em: < <http://portal.unemat.br/media/files/SISTEMA%20TESTE%20DE%20Allium%20cepa%20COMO%20BIOINDICADOR%20DE%20CITOTOXIDADE%20DE%20SUBSTANCIAS%20USADAS%20NA%20CONSERVA%20%20DE%20Olea%20europaea%20L.pdf> > Acesso em: 15 dez. 2016.

SILVA, A. A.; BOHM, F. M. L. Z.; **Estudos dos efeitos do chá do *Agaricus blazei* (Cogumelo do sol) no índice mitótico das células meristemáticas do *Allium cepa* (Cebola)**. Revista Diálogos & Saberes, Mandaguari, v. 8, n. 1, p. 25-39, 2012.

Disponível em:

<<http://www.fafiman.br/seer/index.php/dialogosesaberes/article/view/267/259>>

Acesso em: 31 mar. 2017.