EFEITO CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DE *Paullinia cupana* (Kunth)

Larissa Lemes dos Santos¹; Aurivania Lemes dos Santos²; Auana Vicente Tiago³;
Jean Carlos Silva⁴; Ana Aparecida Bandini Rossi⁵

¹Graduanda do Curso de Ciências Biológicas da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. E-mail: larissalemes_97@outlook.com.

^{2,4}Graduada (o) em Ciências Biológicas - Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil.

³Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede Bionorte. Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular - Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil.

⁵Doutora em Genética e Melhoramento. Professora da Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias; PPGBioAgro; PGMP; PPGBioNorte. Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular - Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil.

Recebido em: 06/04/2018 – Aprovado em: 10/06/2018 – Publicado em: 20/06/2018
DOI: 10.18677/EnciBio_2018A88

RESUMO

O guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) em pó é utilizado pela população por suas propriedades estimulantes. A utilização de plantas medicinais é uma prática antiga, que nos últimos anos tem apresentado um significativo crescimento. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito genotóxico e citotóxico do extrato aquoso do pó da semente de *Paullinia cupana*. O organismo teste utilizado foi bulbos de *Allium cepa*. Foram preparados dois tipos de extratos com o guaraná em pó, um sob a forma de suco e outro de infusão. A partir do extrato de 100% foram realizadas três diluições com água destilada, 50%; 25% e 12,5%, constituindo quatro concentrações. Também foi utilizado um tratamento controle com água destilada. Os resultados demonstraram que ocorreram inibições em todas as fases da mitose das células meristemáticas da raiz da cebola em todas as concentrações avaliadas, diferindo-se do controle. O Índice mitótico das células da cebola, submetidas aos tratamentos com os extratos, foi reduzido em mais 50% quando comparados ao controle, demonstrando assim o potencial citotóxico dos extratos. Após 72h de recuperação em água destilada o IM foi restabelecido em todos os tratamentos com exceção da concentração de 100%, revelando que nesta concentração o efeito citotóxico é irreversível. As divisões celulares resultantes do processo de recuperação apresentaram maior quantidade de aberrações cromossômicas. Em todos os tratamentos houve citotoxicidade e mesmo depois da recuperação ocorreu o surgimento de aberrações cromossômicas demonstrando a citotoxicidade e genotoxicidade do extrato aquoso do guaraná em pó nas condições avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: Guaraná em pó, Índice Mitótico e Aberrações Cromossômicas.

CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECT OF *Paullinia cupana* (Kunth)

ABSTRACT

Guaraná powder is used by the population for its stimulating properties. The use of medicinal plants is an old practice, which in recent years has presented a significant growth. The present work aimed to evaluate the genotoxic and cytotoxic effect of the

aqueous extract of the seed powder of *Paullinia cupana* (Kunth). The test organism used was *Allium cepa* bulbs. Two types of extracts were prepared with guarana powder, one in the form of juice and another one of infusion. From the 100% extract, three dilutions were carried out with 50% distilled water; 25% and 12.5%, constituting four concentrations. A control treatment with distilled water was also used. The results demonstrated that inhibitions occurred in all phases of the meristematic root mitosis at all concentrations of the extract evaluated, differing from the control. The mitotic index of the onion cells, submitted to the treatments with the extracts, was reduced by another 50% when compared to the control, thus demonstrating the cytotoxic potential of the extracts. After 72 hours of recovery in distilled water the IM was reestablished in all treatments except for the 100% concentration, revealing that at this concentration the cytotoxic effect is irreversible. The cellular divisions resulting from the recovery process had a greater amount of chromosomal aberrations. In all treatments there was cytotoxicity and even after recovery IM showed the appearance of chromosomal aberrations demonstrating the cytotoxicity and genotoxicity of the aqueous extract of guaraná powder under the conditions evaluated.

KEYWORDS: Chromosomal Aberrations, Guarana Powder, Mitotic Index.

INTRODUÇÃO

Paullinia cupana Kunth ex H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, pertence ao gênero *Paullinia* e a família Sapindaceae, possui cerca de 136 gêneros e 1900 espécies (Buerki et al. 2012), dos quais 27 gêneros e 419 espécies ocorrem no Brasil e 12 gêneros e 63 espécies no estado do Paraná. Sapindaceae apresenta distribuição nos trópicos e subtropicais. Dentre estas espécies, algumas são mais conhecidas, como *Paullinia cupana* (guaraná) e *Sapindus saponaria* L. (sabonete-de-soldado) (SOMNER et al., 2015).

É um arbusto trepador nativo da região amazônica, podendo atingir até 12 metros de altura prendendo-se às árvores vizinhas, vive em torno de 35 anos, atinge sua maturidade aos 5 anos e a partir do terceiro ano começa a produzir frutos. Cada fruto produz de 4 a 9 sementes, mas apenas uma se desenvolve por completa (MIRANDA; METZNER, 2010).

O Brasil é o maior produtor mundial de guaraná, atendendo o comércio nacional e internacional, com produção entre as regiões norte, nordeste e centro-oeste (CONAB, 2015). Além do destaque na economia, apresenta importância socioeconômica para as comunidades Amazônicas, utilizado na forma de consórcio com outras culturas e ao seu valor nutricional, características de interesse devido às suas propriedades medicinais e estimulantes (SANTOS, 2007).

Durante séculos, a espécie, foi empregada pelas civilizações indígenas, em virtude de suas características estimulantes e medicinais. Utilizada para o alívio da fome por produzir uma ligeira anestesia nas fibras gástricas e como estimulante do sistema nervoso, tirando o sono e o cansaço dos guerreiros (MIRANDA e METZNER, 2010). O percentual de cafeína presente nas sementes do guaraná varia de 3,2 a 7%, sendo cerca de 6 vezes superior ao encontrado nas sementes do café (PAGLIARUSSI et al., 2002).

O uso de plantas medicinais é uma prática antiga, que nos últimos anos tem apresentado um significativo crescimento, por serem produtos naturais livres de produtos químicos, pela facilidade de acesso (feiras livres, mercados populares e cultivo no próprio quintal), por fazer parte da cultura da maioria da população, além de ser considerada uma alternativa econômica (GELATTI et al., 2016; VALGAS; QUEIROZ, 2017; STEFANELLO et al., 2018). Em uma pesquisa realizada por

Gonçalves et al. (2017) destaca-se que 80,65% dos domicílios visitados, faz uso de plantas medicinais associadas a outros medicamentos. Apesar dos benefícios encontrados nas plantas, vale lembrar que muitas delas quando habitualmente utilizadas apresentam substâncias capazes de exercer ação tóxica (VON POSER, 2017), mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas (VERRI et al., 2017).

A utilização dos produtos advindos da semente do guaraná desencadeia interesse em relação a sua qualidade, devido sua estrutura química ser predominantemente insaturada, sujeita a oxidação, afetando a propriedade do alimento (PINHEIRO DA SILVA et al., 2015).

As implicações das infusões com plantas medicinais sobre o ciclo celular de *Allium cepa* têm sido descritos por vários autores (CARDOSO et al., 2014; SILVA et al., 2015a; HISTER et al., 2017; LESSA et al., 2017; FERNANDES et al., 2018). Deste modo o sistema *Allium cepa*, é um bioindicador de possíveis efeitos adversos, permitindo observar o 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, demonstrado bons resultados em estudos de genotoxicidade e citotoxicidade dos extratos de várias plantas de uso medicinal, permitindo observar as alterações cromossômicas e divisões celulares de raízes de cebola, com finalidade de advertir a população sobre o consumo de determinado produto (PINHO et al., 2010; SOUZA et al., 2005), além de ser um sistema de baixo custo, de fácil manuseio e de confiabilidade (SILVA et al., 2015b).

A genotoxicidade consiste da análise e monitoramento *in situ* de substâncias ambientais e os produtos provenientes do metabolismo secundário de algumas plantas, através do índice mitótico (IM) e da presença de aberrações cromossômicas (AC) (SILVA et al., 2003). A genética Toxicológica é uma área específica e fundamental que detecta e entende a ação das substâncias denominadas genotóxicas ou mais precisamente sua ação sobre os ácidos nucleicos. Os efeitos dessas substâncias podem ser tanto em células somáticas como germinativas, podendo causar danos no indivíduo ou nos seus descendentes (BALBACH, 1974).

As alterações no índice mitótico são analisadas como parâmetros citotóxicos que permitem estimar o nível de citotoxicidade na amostra estudada. Este parâmetro permite avaliar a frequência da divisão celular e pode ser correlacionado com o padrão de crescimento da raiz, portanto, a inibição do crescimento da raiz é resultado da inibição de células em divisão celular induzindo à diminuição do índice mitótico (MARCANO et al., 2004).

Diante do exposto, este trabalho objetivou avaliar o efeito genotóxico e citotóxico do extrato aquoso do pó da semente de *Paullinia cupana* (Kunth) comercializado na região de Alta Floresta, MT, por meio do sistema teste *Allium cepa*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório Didático I e no laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular na Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Campus de Alta Floresta.

O organismo teste utilizado foi bulbos de *Allium cepa* (cebola) e o produto testado foi o guaraná em pó industrializado na região, adquirido na Empresa Agroindustrial LTDA CAÍABI.

Extratos aquosos

Foram preparados dois tipos de extratos: 1) Em forma de suco – Onde o guaraná em pó foi diluído em água fria; 2) Em forma de infusão - Onde o guaraná em pó foi diluído em água quente. Para o preparo do suco e da infusão foram utilizados 25 g do guaraná em pó para 500 mL de água destilada, que foram os extratos considerados na proporção de 100%. A partir deste extrato (100%) foram realizadas três diluições com água destilada, sendo: 50%; 25% e 12,5%, constituindo assim quatro concentrações (tratamentos). Também foi utilizado um tratamento controle com água destilada.

Bioensaio

O experimento consistiu de cinco tratamentos (100%; 50%; 25% 12,5% e um controle), com cinco repetições (bulbo) por tratamento, totalizando 25 bulbos por tipo de extrato (suco e infusão).

Primeiramente os bulbos de cebola foram colocados para enraizar em água destilada, à temperatura ambiente (Figura 1A), até obtenção de raízes com cerca de 1 a 1,5 cm de comprimento (Figura 1B). Posteriormente os bulbos foram transferidos para os extratos (suco e infusão) (Figura 1C e D). Para o controle foram coletadas raízes dos bulbos antes de serem submetidos aos extratos.

Os bulbos de cebola enraizados foram submetidos a cada tratamento por 72h, em seguida foram coletadas raízes de cada tratamento. Posteriormente os bulbos foram lavados e transferidos para a água destilada, para a recuperação por mais 72h, sendo posteriormente coletadas raízes de cada tratamento. Todas as raízes coletadas foram fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético) por um período de 24 horas à temperatura ambiente e em seguida armazenadas em etanol 70% a -4°C.

Estimativa da Citotoxicidade e Genotoxicidade

A análise da citotoxicidade foi obtida utilizando-se do índice mitótico, através da técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002). A preparação do material constituiu de água destilada por 5 minutos; HCl 1N por 15 minutos em temperatura ambiente; água destilada por 5 minutos. As radículas foram transferidas para lâmina, onde a coifa foi extraída com auxílio de bisturi para a obtenção do meristema apical, em seguida, adicionou-se uma gota orceína acética 2% ao material, para a coloração.

As lâminas foram observadas em microscópio óptico. Foram analisadas 2.000 células para cada um dos tratamentos, registrando o número de células em cada fase da mitose. O índice mitótico (IM) foi obtido através da seguinte equação (PRATES et al., 2001):

$$IM = \left(\frac{m}{T} \right) * 100$$

Sendo que m= número de células em mitose; T =número total de células.

A genotoxicidade foi estimada através das alterações cromossômicas, como quebras cromatídicas, pontes anafásicas, perda de cromossomos inteiros ou formação de micronúcleos, obtidos pela contagem das células nas fases da mitose, sendo analisadas em nível qualitativo.

FIGURA 1. Detalhe do bioensaio realizado. A) Bulbos de cebola submetidos a água destilada para enraizamento. B) Bulbos de cebolas com radículas após 72 horas e exposição em água. C) Bulbos de cebolas submetidos aos tratamentos nos dois tipos de extratos (infusão e suco). D) Detalhe da coloração do tratamento 12,5% nos dois tipos de extratos.

Delineamento e análise estatística

O delineamento experimental adotado para o trabalho foi o inteiramente casualizado, consistindo de fatorial (2x5) com dois tipos de extratos (infusão e suco) e cinco concentrações do extrato (tratamentos: 0%; 12,5%; 25%; 50%; 100%).

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar quais tratamentos foram significativos, em seguida as médias de cada concentração foram comparadas pelo teste de Tukey 5% de probabilidade, e então os resultados foram analisados verificando quais concentração teriam maior e menor efeito citotóxico e genotóxico. Todas as análises foram realizadas pelo programa SISVAR 4.6 (FERREIRA, 2003), onde o valor de $p < 0.05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na figura 2 revelaram que as fases da mitose das células meristemáticas da raiz da cebola foram inibidas pelo extrato da infusão do pó do guaraná em todas as concentrações, diferindo-se estatisticamente do controle, consequentemente um maior número de células na interfase foi encontrado. No entanto, houve uma recuperação em todas as fases da divisão celular, após 72h de exposição na água destilada (Figura 3). Resultados diferentes foram observados em outros trabalhos. Souza et al. (2005), quando analisou o efeito citotóxico dos extratos aquosos de capim cidreira e estêvia, observaram que as diferentes concentrações sobre as células meristemáticas de alface, acarretaram um efeito citotóxico, ou seja, levando a redução da divisão celular, nas concentrações de 20 mg e 100 mg. Santos et al. (2017), ao estudar atividade genotóxica, citotóxica e

antimicrobiana da infusão das folhas de *Spondias purpurea*, não encontrou diferenças significativas para o índice mitótico, porém foi observado alterações nas frequências da anáfase nas concentrações de 25 mg e 50 mg quando comparadas com o controle. Portanto sendo confirmado que o sistema *Allium cepa* nos estudos apresentados são eficientes na determinação de toxicidade de extratos de plantas medicinais através da observação genotóxicos e citotóxicos dos extratos sobre suas raízes.

FIGURA 2. Médias das fases da mitose em diferentes concentrações de infusão do pó da semente do guaraná. Tratamento com o extrato por 72h. I= Interfase; P= Prófase; M= Metáfase; A= Anáfase; T= Telófase; IM= Índice Mitótico.

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

FIGURA 3. Médias das fases da mitose em diferentes concentrações de infusão do pó da semente do guaraná. Recuperação com água destilada por 72h. I= Interfase; P= Prófase; M= Metáfase; A= Anáfase; T= Telófase; IM= Índice Mitótico.

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Após 72h de recuperação em água destilada o IM foi restabelecido em todos os tratamentos com exceção da concentração de 100%, quando comparado ao controle (Figura 2), revelando assim que o efeito citotóxico nesta concentração é irreversível. No trabalho de Fagundes et al. (2017), na análise de citotoxicidade de três plantas medicinais, também foi observado que as infusões em maiores concentrações apresentam efeito citotóxico nas células de cebola. De Paula (2015), trabalhando com *Aristolochia elegans* analisando a citotoxicidade e a genotoxicidade através de *Allium cepa*, submetidas aos tratamentos de 24, 48 e 72 horas de recuperação em cinco concentrações, houve alterações significativas nos índices mitóticos e notou-se também uma redução do IM com o aumento das concentrações com o decorrer do tempo.

O extrato do pó da semente do guaraná em forma de suco, em todas as concentrações testadas, também inibiu as fases da divisão celular nas células meristemáticas da cebola, assim como o índice mitótico (Figura 4), revelando que as duas formas de preparo do extrato (infusão e suco) possuem efeito citotóxico no organismo testado. Observa-se na figura 4 que todas as médias, de todas as concentrações, afetaram negativamente as fases da divisão celular e o IM, diferenciando-se estatisticamente do controle. Os bulbos de cebola submetidos à recuperação por 72h, logo após os tratamentos com o extrato preparado em forma de suco, só restabeleceu o IM no tratamento de 50%, revelando que os efeitos ocasionados no organismo nas demais concentrações foram mais severos (Figura 5). Resultado semelhante foi encontrado por Louvatel et al. (2014) em estudo de avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade dos extratos de *Stachys byzantina*, através do sistema teste *A. Cepa*, verificando que o índice mitótico do tratado esteve abaixo do controle, mesmo depois de realizar uma recuperação.

Assim os resultados obtidos nesta pesquisa, como em outros trabalhos, demonstram a importância dos estudos realizados em relação a toxicidade e genotoxicidade, para compreensão dos efeitos biológicos decorrente do uso de plantas medicinais quando ingeridos de forma inadequada.

FIGURA 4. Médias das fases da mitose nas células das raízes de cebola sob diferentes concentrações do suco do pó da semente do guaraná. Tratamento com o extrato por 72h. I= interfase; P= prófase; M= metáfase; A= anáfase; T= telófase; IM= índice mitótico.

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

FIGURA 5. Médias das fases da mitose nas células das raízes de cebola sob diferentes concentrações do suco do pó da semente do guaraná. Recuperação com água destilada por 72h. I= interfase; P= prófase; M= metáfase; A= anáfase; T= telófase; IM= índice mitótico.

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na figura 6 observa-se a redução da média do índice mitótico em mais de 50% em todos os tratamentos do extrato preparado em forma de suco e em forma de infusão com o pó da semente do guaraná, quando comparados com a média do IM do controle. Esse fato pode estar correlacionado à capacidade dos compostos químicos, presentes no guaraná, em reduzir o IM e impedir parcialmente as fases subsequentes da divisão celular nas concentrações analisadas neste estudo. O índice mitótico mede a dimensão das células na fase de mitose do ciclo celular, e a inibição pode ser interpretada como a morte celular ou um atraso na cinética de proliferação, bem como seu decaimento em mais de 50% em relação ao controle pode acarretar um efeito letal ao organismo (GREENWOOD et al., 2004), fato este observado neste estudo.

As células expostas às concentrações de 50% e 100% dos extratos aquosos do pó do guaraná por 72h, na forma de suco, apresentaram aberrações cromossômicas durante a divisão celular (Figura 7), evidenciando assim uma atividade genotóxica dos extratos. Ao contrário do senso comum, que acreditam que as plantas medicinais por serem naturais são isentas de reações adversas, observa-se, assim como neste trabalho, que podem apresentar vários agravos à saúde humana, incluindo reações alérgicas, tóxicas, interações medicamentosas e efeitos mutagênicos (SILVA et al., 2015b).

FIGURA 6. Porcentagem do índice mitótico de raízes de *Allium cepa* obtidos através de cinco concentrações de extratos aquosos de *Paullinia cupana* submetidos a dois tratamentos.

FIGURA 7. Porcentagens de aberrações cromossômicas em células meristemáticas de *Allium cepa* a diferentes concentrações de extratos de guaraná em pó preparados na forma de infusão e suco.

Porém as divisões celulares resultantes do processo de recuperação apresentaram maior quantidade de aberrações cromossômicas, sendo as porcentagens de mutações de 0,15% a 3,25% nas células expostas ao extrato do tipo infusão e de 0,05% a 3,8% quando submetidas ao extrato preparado na forma de suco (Figura 8). Esses dados evidenciam que apesar do organismo restabelecer as divisões mitóticas durante o processo de recuperação, como observado nas tabelas 1 e 2, são prejudicados pelo aparecimento de aberrações cromossômicas, ou seja, sofrem o efeito genotóxico dos extratos do pó do guaraná.

As aberrações cromossômicas observadas com maior frequência foram às anáfases com pontes e com cromossomos isolados (Figura 9). De acordo com Bezerra et al. (2016), analisando os possíveis efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos da infuso de folhas do *Plectranthus barbatus* sobre o teste do *Allium cepa*, observou-se que pelo menos as duas maiores concentrações do infuso mostraram-se indutoras de genotoxicidade devido ao aumento da frequência de aberrações cromossômicas, evidenciando que em seu uso crônico, podem sim, causar danos ao DNA celular. Essas alterações quando possui índices elevados podem prejudicar processos vitais das células levando a morte celular ou alterações cromossômicas, sendo chamados genotóxicos (FRANKE et al., 2003). Portanto as plantas que possuem propriedades mutagênicas requerem precauções quanto sua utilização (PORTIS et al., 2016)

FIGURA 8. Porcentagens de aberrações cromossômicas encontradas, após exposição a diversas concentrações de guaraná em pó preparados na forma de infusão e suco.

FIGURA 9: Células de *Allium cepa* em divisão celular, tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso do guaraná em pó. A) Anáfase com ponte e cromossomo isolado; B) Anáfase com cromossomo isolado; C) Anáfase com ponte; D) Anáfase com ponte; E) Anáfase com cromossomo isolado; F) Metáfase irregular. Barra = 1 nm.

CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o extrato aquoso do pó do guaraná revelou potencial citotóxico sobre as células meristemáticas da cebola, em todos os tratamentos avaliados, indicando seu potencial para alteração no ciclo celular. Portanto os dados deste estudo poderão auxiliar em futuras pesquisas de prevenção de danos à saúde humana, pois contribuirá para um maior conhecimento e orientação da população a respeito do uso de plantas medicinais no tratamento das doenças.

REFERÊNCIAS

- BALBACH, A. **A flora nacional na medicina doméstica**. São Paulo: Edel, 1974.
- BEZERRA, C. M.; DINELLY, C. M. N.; OLIVEIRA, M. A. S. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso de Malva-Santa (*Plectranthus barbatus*-Lamiaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 13, n. 4, p. 220-228, 2016. DOI: 10.5216/ref.v13i4.36887.
- BUERKI, S.; FOREST, F.; CALLMANDER, M. W.; LOWRY, I. I.; PORTER, P, et al. Phylogenetic inference of New Caledonian lineages of Sapindaceae: molecular evidence requires a reassessment of generic circumscriptions. **Taxon**, v. 61, n. 1 p. 109-119, 2012. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/23210318>>. Acesso em: 20 mai. 2018.

CARDOSO, G. H. S.; DANTAS, E. B. S.; SOUSA, F. R. C.; PERON, A. Cytotoxicity of aqueous extracts of *Rosmarinus officinalis* L.(Labiatae) in plant test system. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 4, p. 886-889, 2014. DOI: 10.1590/1519-6984.07313.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Guaraná**. 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_15_15_20_48_guarana_marco2015.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2018.

DE PAULA, R.P; BUENO, S.S.S; SCHMITT, K.F.M; TIAGO, A.V; ROSSI, A.A.B. Sistema teste de *allium cepa* como bioindicador de citotoxicidade e genotoxicidade em *aristolochia elegans* mast. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 11 n. 21 p. 1751-1753, 2015. Disponível em:<<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015b/agrarias/sistema%20teste%20de%20allium%20cepa.pdf>>. Acesso em: 04 abr. 2018.

FAGUNDES, P. A. S.; SANTOS, J. S.; COCHEV, J. S.; ZORTÉA, K. E. M.; ROSSI, A. A. B. Avaliação da citotoxicidade de três plantas medicinais Encontradas em quintais urbanos no município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 14 n. 26, p. 806-815, 2017. DOI: 10.18677/EnciBio_2017B70.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 6 Sistema de Análises Estatísticas**. Lavras: UFLA, 2003.

FERNANDES, J. F. D. N.; SILVA, B. S. D. S.; FONTES, R. M. S.; CÂNDIDO, W. P.; MALAVASI, N. V. Avaliação do potencial citotóxico e mutagênico/genotóxico do látex de janaúba (*Synadenium grantii* Hook. f., Euphorbiaceae). **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 9, n. 1, p. 59-65, 2018. DOI: 10.5123/S2176-62232018000100008.

FRANKE, I. R.; BOEIRA, J. M.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. Genotoxicidade dos agentes sintéticos e naturais. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003. p. 309-317.

GELATTI, G. T.; OLIVEIRA, K. R.; COLET, C. F. Potenciais interações relacionadas ao uso de medicamentos, plantas medicinais e fitoterápicos em mulheres no período do climatério. **Revista de Pesquisa: Cuidado é Fundamental Online**, v. 8, n. 2, p. 4328-4346, 2016. Disponível em: <<http://www.seer.unirio.br/index.php/cuidadofundamental/article/view/4401>>. Acesso em: 03 mar. 2018.

GONÇALVES, R. N.; GONÇALVES, J. R. D. S. N.; BUFFON, M. D. C. M.; NEGRELLE, R. R. B. Plantas medicinais: relacionando conhecimento popular e científico na atenção primária à saúde. **Visão Acadêmica**, v. 18, n. 4, p. 25-65, 2018. DOI: 10.5380/acd.v18i4.56123.

GREENWOOD, S. K.; HILL, R. B.; SUN, J. T.; ARMSTRONG, M. J.; JOHNSON, T, et al. Population Doubling: A Simple and More Accurate Estimation of Cell Growth

Suppression in the In Vitro Assay for Chromosomal Aberrations That Reduces Irrelevant Positive Results. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 3, n. 1, p. 36-44, 2004. DOI: 10.1002/em.10207.

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. São Paulo: Funpec, 2002, p. 131.

HISTER, C. A. L.; PASQUALLI, M.; TRAPP, K. C.; STEFANELLO, R.; BOLIGON, A. A, et al. Atividade antiproliferativa e determinação dos compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus* sp.) pelo sistema teste *in vivo* de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 15, n. 1, 2017. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3811/1352>>. Acesso em: 05 abr. 2018.

LESSA, L. R.; SILVA, M. C. C.; CARIELLO, F. D. M. R. Fundamentos e aplicações do *Allium cepa* como bioindicador de mutagenicidade e citotoxicidade de plantas medicinais. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 10, n. 3, 2017. DOI: 10.22280/revintervol10ed3.294.

LOUVATEL, K; ZAIONS, M. I. M.; ARENHART, A. R. Avaliação da Citotoxicidade e Genotoxicidade dos Extratos de *Stachys Byzantina* C. Koch. (Pulmonária) e *Tropaeolum Majus* L. (Capuchinha), utilizando o sistema Teste *Allium Cepa*. **Unoesc & Ciência – ACBS**, v. 5, p. 23-28, 2014. Disponível em: <<https://editora.unoesc.edu.br/index.php/acbs/article/view/4539>>. Acesso em: 19 mai. 2018.

MARCANO, L.; CARRUYO, I.; CAMPO, A. D.; Montiel X. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. **Environ. Research**, v. 94, n. 2, p. 221-226, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(03\)00121-X](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(03)00121-X).

MIRANDA, M. V.; METZNER, B. S.; *Paullinia cupana*: revisão da matéria médica. **Revista de Homeopatia**, v. 73, n. 1/2, p. 1-17, 2010. Disponível em: <<http://revista.aph.org.br/index.php/aph/article/view/38/60>>. Acesso em: 05 abr. 2018.

PAGLIARUSSI, R. S.; FREITAS, L. A. P.; BASTOS, J. K. A quantitative method for the analysis of xanthine alkaloids in *Paullinia cupana* (guarana) by capillary column

gas chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 25, n. 5-6, 2002. DOI:

10.1002/1615-9314(20020401)25:5/6<371::AID-JSSC371>3.0.CO;2-9.

PINHEIRO DA SILVA, A. E.; MOURA, J. W. M.; NETO, M. P. L. Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica da *turnera ulmifolia* L. (chanana) em células eucarióticas. **Saúde em foco**, v. 2, n. 1, p. 25-48, 2015. Disponível em: <<http://www4.fsnet.com.br/revista/index.php/saudeemfoco/article/view/694/842>>. Acesso em: 05 abr. 2018.

PINHO, D. S.; STURBELLE, R. T.; ROTH, M. G. M.; GARCIAS, G. L. Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharistrimera* (Less.) DC. em teste de *Allium* cepa e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 165-170, 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n2/a05v20n2>>. Acesso em: 28 mar. 2018.

PORTIS, I. G.; FIGUEREIDO, F. R. G.; PENA, R. V.; HANUSCH, A. L.; SOUSA, L. P, et al. Bioensaio citogenético para a caracterização da mutagenicidade e citotoxicidade da espécie *chochlospermum regium*. **REFACER-Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 5, n. 1, p. 1-22, 2016. Disponível em: <<http://ceres.facer.edu.br/revista/index.php/refacer/article/view/96>>. Acesso em: 20 mai. 2018.

PRATES, H.T.; PAES, J. M. V.; PIRES, N. M.; PEREIRA, I. A.; MAGALHÃES, P. C. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 909-914, 2001. DOI: 10.1590/S0100-204X2000000500007.

SANTOS, J. D. **Guaraná**. In: Proposta de preço mínimo Safra 2006/2007. CONAB. Brasília, DF. p. 165-171. 2007. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/precos_minimos/proposta_de_precos_minimos_safra_2006_07.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2018.

SANTOS, R. S.; SANTOS, R. X.; MARISCO, G. Avaliação da atividade genotóxica, citotóxica e antimicrobiana da infusão das folhas de *Spondias purpurea* L. **Scientia Plena**, v. 13, n. 3, 2017. DOI: 10.14808/sci.plena.2017.039901.

SILVA, A. K. P.; MOURA, J. W. M.; NETO, M. P. L. Avaliação Tóxica, Citotóxica, Genotóxica e Mutagênica da *turnera Ulmifolia* L. (Chanana) em Células Eucarióticas. **Revista Saúde em Foco**, v. 2, n. 1, p. 25-48, 2015. Disponível em: <<http://189.43.21.151/revista/index.php/saudeemfoco/article/view/694/842>>. Acesso em: 19 mai. 2018.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.

SILVA, W. G.; ROVELLINI, P.; FUSARI, P.; VENTURINI, S. Guaraná-*Paullinia cupana*, (HBK): Estudo da oxidação das formas em pó e em bastões defumados. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 2, p. 117-123, 2015. Disponível em: <<http://200.19.105.203/index.php/agroveterinaria/article/view/5637/4589>>. Acesso em: 05 abr. 2018.

SOMNER, G. V.; FERRUCCI, M.S.; ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P.; MEDEIROS, H. *Paullinia* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB24714>>. Acesso em 20 mar. 2018.

SOUZA, S. A. M.; STEIN, V. C.; CATTELAN, L. V.; BOBROWSKI, V. L.; ROCHA, B. H. G. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para

avaliação de efeitos citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revistas de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 1, p. 1-8, 2005. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=50050101>> Acesso em: 28 mar. 2018.

STEFANELLO, S.; KOZERA, C.; RUPPELT, B. M.; FUMAGALLI, D.; CAMARGO, M. P, et al. Levantamento do uso de plantas medicinais na universidade federal do Paraná, Palotina–PR, Brasil. **Extensão em Foco**, v. 1, n. 15, p. 15-27, 2018. DOI: 10.5380/ef.v1i15.52776.

VALGAS, P.; QUEIROZ, F. Utilização de plantas medicinais e fitoterápicos como emagrecedores por mulheres de um projeto social em sete Lagoas/MG. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 5, n. 1, p. 1-28, 2017. Disponível em: <<http://jornal.faculdadecienciasdavid.com.br/index.php/RBCV/article/view/237>>. Acesso em: 26 mar. 2018.

VERRI, A. M.; MOURA, A. A.; MOURA, V. M. Testes Citogenéticos na Avaliação da Genotoxicidade de Produtos Naturais Provindos de Plantas Medicinais. **Revista UNINGÁ Review**, v. 30, n. 1, p. 55-61, 2017. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1997>>. Acesso em: 19 mai. 2018.

VON POSER, G. L. A quimiotaxonomia na sistemática dos seres vivos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 23-28.