

EFEITOS GENOTÓXICOS E ANTIPROLIFERATIVOS DE *Prunus myrtifolia* (PESSEGUEIRO-DO-MATO) PELO TESTE DE *Allium cepa*.

Kássia Cauana Trapp¹; Viviane Dal-Souto Frescura²; Jéssica Mena Barreto de Freitas¹; Thais Scotti do Canto-Dorow³; Solange Bosio Tedesco⁴.

1. Graduanda em Ciências Biológicas na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.
2. Professora Doutora da Universidade Federal de Santa Maria, Campus Cachoeira do Sul, Cachoeira do Sul, RS, Brasil. (viviane.frescura@ufsm.br).
3. Professora Doutora do Centro Universitário Franciscano, Santa Maria, RS, Brasil.
4. Professora Doutora dos PPGAgrobiologia e PPGAgronomia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Recebido em: 31/03/2015 – Aprovado em: 15/05/2015 – Publicado em: 01/06/2015

RESUMO

O uso de plantas medicinais continua ainda muito presente em nossa população, porém muitas plantas ainda carecem de estudos que analisem seu efeito genotóxico e antiproliferativo. Além disso, há o problema da utilização de extratos preparados com plantas consideradas tóxicas, pelo desconhecimento acerca da natureza da espécie. A espécie *Prunus myrtifolia*, pertencente à família Rosaceae, conhecida popularmente como pessegueiro-do-mato ou coração-negro, é uma árvore de pequeno porte com ampla distribuição no Brasil, e sua principal característica é a presença de um par de glândulas na base das folhas. Dentre os compostos isolados na planta está o ácido cianogênico, que pode causar danos ao organismo animal, pois pode formar gás cianídrico (HCN) no sistema digestivo. Objetivou-se analisar o efeito antiproliferativo e genotóxico de extratos de *Prunus myrtifolia* no sistema teste *Allium cepa*. Para o teste foram coletadas folhas de *P. myrtifolia* em ambiente natural e preparados extratos por infusão durante 15 minutos em água das folhas secas. Além dos controles positivo e negativo, foram analisados os extratos preparados nas concentrações de 2,5 g.L⁻¹, 5 g.L⁻¹, 7,5 g.L⁻¹, 10 g.L⁻¹, 12,5 g.L⁻¹ e 25 g.L⁻¹. Com base nos resultados é possível inferir que os extratos, ao serem comparados com o controle negativo, diminuem o índice mitótico em todas as concentrações e elevam o número de alterações cromossômicas. Assim, a espécie *Prunus myrtifolia* apresenta potencial antiproliferativo e genotóxico.

PALAVRAS-CHAVE: extrato aquoso, genotoxicidade, índice mitótico, potencial antiproliferativo

ANTIPROLIFERATIVE AND GENOTOXIC EFFECTS OF *Prunus myrtifolia* (PESSEGUEIRO-DO-MATO) THROUGH *Allium cepa* TEST.

ABSTRACT

The use of medicinal plants is still present in our population, but many plants still lack studies that analyze their antiproliferative and genotoxic effects. Furthermore, there is the problem of the use of extracts prepared with plants considered toxic because of the lack of knowledge about the nature of the species. Species *Prunus myrtifolia*, belonging to the Rosaceae family and popularly known as pessegueiro-do-mato or

coração-negro, is a small tree with wide distribution in Brazil, and its main feature is the presence of a pair of glands at the leaf's basis. Among the compounds found in the plant, there is the cyanogenic acid, which may cause damage to the animal organism, since it can form hydrocyanic gas (HCN) in the digestive system. This study aimed to analyze the antiproliferative and genotoxic effect of extracts of *Prunus myrtifolia* in *Allium cepa* test system. For the test, leaves of *Prunus myrtifolia* were collected in natural environment and extracts of the dried leaves were prepared by infusion during 15 minutes. In addition to the negative and positive controls, the extracts prepared in concentrations of 2,5 g.L⁻¹, 5 g.L⁻¹, 7,5 g.L⁻¹, 10 g.L⁻¹, 12,5 g.L⁻¹ e 25 g.L⁻¹ were also analyzed. Based on the results, it can be inferred that the extracts, when compared to negative control, decrease the mitotic index in all concentrations and increase the number of chromosomal alterations. Thus, species *Prunus myrtifolia* shows antiproliferative and genotoxic potential.

KEYWORDS: genotoxicity, antiproliferative potential, mitotic index, aqueous extract.

INTRODUÇÃO

Mesmo com o advento da indústria farmacêutica, o uso de plantas com finalidade medicinal continua muito disseminado entre a população. Segundo a Organização Mundial da Saúde, uma planta medicinal deve possuir em alguma parte ou em toda sua estrutura, alguma substância com propriedades terapêuticas (MACIEL et al., 2002). Porém muitas vezes pelo uso indevido, ou seja, sem o conhecimento precisado acabam sendo utilizados extratos preparados com plantas tóxicas. Um exemplo importante entre plantas que apresentam toxicidade a mamíferos é a espécie *Prunus myrtifolia*. Para essa, foram isolados compostos como o glicosídeo cianogênico a partir de extrato de folhas da espécie (MAIA, 1987) e em seus frutos arroxeados (FERNANDES, 1995 *in caput* ESTON et al, 2007). Tal substância é tóxica aos animais devido ao fato de que seu uso pode levar à formação de ácido cianídrico (HCN) no trato digestivo (JONES, 1998; SANTOS, 2005; BARG, 2004).

A espécie *Prunus myrtifolia*, popularmente conhecida como pessegueiro-domato, pessegueiro-bravo ou coração-negro, é uma árvore de pequeno porte com ampla distribuição no Brasil. Uma característica marcante é a presença de um par de glândulas próximas à base da folha (SOUZA & LORENZI, 2012). A ingestão de tal espécie pode causar cólicas, tremores musculares, taquicardia, arritmia cardíaca, convulsão, desequilíbrio (BARG, 2004).

Além da toxicidade, muitas plantas possuem ação genotóxica, a qual pode ser observada a partir de estudos em células de organismos bioindicadores. Assim, apesar de muito utilizadas, as plantas medicinais ainda necessitam de estudos acerca de seus potenciais genotóxico e antiproliferativo. Para tais estudos, testes bioindicadores são importantes apontadores dos efeitos causados pelas infusões destes vegetais (SILVA et al., 2003). Apesar de diferenças entre os sistemas animal e vegetal, ambos apresentam semelhanças sendo possível uma boa correlação entre estes testes (BAGATINI et al., 2007; FISKESJÖ, 85; TEIXEIRA et al., 2003).

Assim, o sistema teste, utilizando como organismo alvo a espécie *Allium cepa*, tem sido amplamente utilizado para análise da genotoxicidade e do efeito antiproliferativo (TEIXEIRA et al., 2003; FACHINETTO et al., 2007). Além disso, o teste é bem aceito para tais estudos, pois suas raízes ficam em contato direto com a substância testada (COELHO, 2013). A análise de mutações cromossômicas em raízes de *A. cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química

(IPCS, WHO) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999).

Objetivou-se com o presente estudo analisar a existência de ação genotóxica e antiproliferativa dos extratos de *P. myrtifolia* (pessegueiro-do-mato) em diferentes concentrações pelo sistema teste de *A. cepa*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para análise da genotoxicidade e do efeito antiproliferativo da espécie *P. myrtifolia* foram coletadas folhas de uma população, representada por um indivíduo do Campus da Universidade Federal de Santa Maria, situada no município de Santa Maria, no estado do Rio Grande do Sul. As folhas coletadas para o preparo das infusões foram secadas à temperatura ambiente por um período de aproximadamente 14 dias. Os bulbos de cebola do tipo comercial utilizados para a análise das infusões foram previamente testados e usados quando não apresentaram alterações cromossômicas.

O preparo dos extratos aquosos foi realizado por infusão das folhas secas por 15 minutos com água destilada. Os extratos foram coados e após estarem em temperatura ambiente foram usados no teste *A. cepa*. Para instalação do experimento foram utilizados quatro bulbos de *A. cepa*, enraizados em água destilada, por tratamento. Após um período de quatro dias os bulbos já enraizados foram colocados em contato com os tratamentos durante um período de 24 horas. Os tratamentos utilizados foram: T1-água destilada (controle negativo), T2-glifosato 2,5% (controle positivo). T3-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 2,5 g.L⁻¹, T4-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 5,0 g.L⁻¹, T5-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 7,5 g.L⁻¹, T6-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 10,0 g.L⁻¹, T7-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 12,5 g.L⁻¹, T8-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 25,0 g.L⁻¹.

Foi utilizado glifosato para o controle positivo, pois já ficou comprovado que este apresenta ação indutora de alterações cromossômicas e inibitória para a divisão celular em *A. cepa* (SOUZA et al., 2010).

Após este período de contato com os tratamentos, as raízes foram coletadas e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) durante 24 horas em temperatura ambiente. Posteriormente foram colocadas em álcool 70% e armazenadas em geladeira para posterior análise.

Para montagem das lâminas as raízes foram lavadas em água destilada, hidrolisadas em HCl 1N por 5 minutos em temperatura ambiente e lavadas novamente em água destilada. Posteriormente foram coradas pela técnica de esmagamento com corante orceína acética 2% (adaptada de GUERRA & SOUZA, 2002). Para cada bulbo foram feitas duas lâminas e analisadas 500 células em cada uma delas, totalizando 4000 células por tratamento. Para análise das células levou-se em consideração o ciclo celular, observando-se as células durante a interfase e divisão celular (considerando prófase, metáfase, anáfase e telófase), verificando se as mesmas apresentavam algum tipo de irregularidade durante esse período. As irregularidades observadas foram classificadas como quebras cromossômicas, cromossomos perdidos, pontes anafásicas e ou telofásicas, além de células binucleadas.

Após a análise das células, os resultados foram comparados utilizando o teste estatístico qui-quadrado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir das células analisadas de *A. cepa*, depois de submetidas aos distintos tratamentos, foram observados em número de células durante a interfase e nos diferentes estágios de divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase) e então calculados os valores dos índices mitóticos (IM) (Tabela 1).

TABELA 1: Número de células em interfase, divisão celular e índice mitótico das células de pontas de raízes de *Allium cepa*, submetidas aos extratos aquosos de *Prunus myrtifolia*

Tratamentos	Total de células analisadas	Total de células em interfase	Total de células em divisão	Índice Mitótico %
T1	4000	3807	193	4,83 ^a
T2	4000	3920	80	2,00 ^e
T3	4000	3936	64	1,60 ^f
T4	4000	3953	47	1,18 ^g
T5	4000	3869	131	3,28 ^b
T6	4000	3884	116	2,95 ^c
T7	4000	3967	33	0,60 ^h
T8	4000	3896	104	2,60 ^d

T1-água destilada (controle negativo), T2-glifosato 2,5% (controle positivo). T3-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 2,5 g.L⁻¹, T4-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 5,0 g.L⁻¹, T5-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 7,5 g.L⁻¹, T6-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 10,0 g.L⁻¹, T7-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 12,5 g.L⁻¹, T8-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 25,0 g.L⁻¹. *Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste χ^2 em nível de 5%. *IM= índice mitótico

Pode-se observar que os valores referentes aos valores dos índices mitóticos das células apresentados na Tabela 1, foram de 4,83% para o controle negativo (água); 2,0% para o controle positivo (glifosato 15%); 1,6% para o extrato de 2,5g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*; 1,18% para 5g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*; 3,28% para 7,5g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*; 2,95% para 10g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*; 0,6 para 12,5g.L⁻¹ de *P. myrtifolia* e 2,6% para 25g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*.

Todas as concentrações levaram ao decréscimo dos valores dos índices mitóticos, quando comparadas ao controle negativo. Esses resultados da inibição da divisão celular estão indicando que essa espécie possui potencial antiproliferativo, o qual tem sido observado em outras espécies de plantas medicinais, tais como *Mentha pulegium* L. (TEDESCO et al., 2012) e *Echinodorus longiscapus* Arech (COELHO, 2013) Os resultados diferiram significativamente entre os controles e os tratamentos ($\chi^2 = 216.316$). Os controles também diferiram entre si (T1xT2, $\chi^2 = 48.425$), exibindo valores de 4,83% e 2,0% respectivamente para o controle negativo e positivo, o que mostra o decréscimo dos valores dos índices mitóticos. O tratamento de maior concentração, (T8), 25g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*, diferiu dos controles positivo e negativo ($\chi^2 = 27.698$ e $\chi^2 = 3.204$, respectivamente), este também diferiu do tratamento de menor concentração (T8XT3, $\chi^2 = 9.728$).

O tratamento de maior concentração teve IM= 2,6%, o que comprova o aumento do valor do IM em relação ao de menor concentração, T3, cujo IM= 1,6%,. Segundo DIAS et al. (2014), extratos de *Mikania cordifolia* (L. F.) Willd também apresentaram potencial antiproliferativo, onde quando comparados, o extrato de maior concentração apresentou índice mitótico maior do que o de menor concentração.

Houve um decréscimo do índice mitótico de todos os tratamentos quando comparados com o controle negativo, sendo a maior diferença encontrada para a concentração de 12,5g.L⁻¹ de *P. myrtifolia* (T1XT7, χ^2 =135.287), que também inibiu a divisão celular quando comparado ao controle positivo (χ^2 =30.551).

Para a espécie *P. myrtifolia*, houve um aumento significativo da divisão celular na concentração de 7,5g.L⁻¹ (T5) em relação ao tratamento com maior e menor concentração, 25g.L⁻¹ (T8) e 2,5 g.L⁻¹ (T3), onde χ^2 =3.423 e χ^2 = 24.184, respectivamente.

O extrato na concentração de 2,5g.L⁻¹ teve seu valor de índice mitótico quando comparados ao controle negativo e positivo reduzido (χ^2 =66.900 e χ^2 =1.810). Tal concentração também diminuiu a divisão celular quando comparado ao tratamento 4 (χ^2 = 2.640) e aumentou o valor do índice mitótico confrontados com os valores apresentados pelos tratamentos T6 (10g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*) e T7 (12,5g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*), χ^2 = 16.395 e χ^2 = 18.384.

O índice mitótico apresentado pelo controle negativo é superior aos encontrados nas concentrações de 5g. L⁻¹ (T4), 7,5g.L⁻¹(T5) e 10g. L⁻¹ (T6) de *P. myrtifolia* (χ^2 =91.564, χ^2 = 11.934 e χ^2 = 18.818, respectivamente). Em comparação com o controle positivo tais concentrações aumentaram o índice de divisão celular encontrado (T2XT4, χ^2 = 8.713; T2XT5, χ^2 =13.102 e T2XT6, χ^2 =7.478).

O tratamento de concentração intermediária, T7 12,5g.L⁻¹ de *P. myrtifolia*, apresentou divisão celular menor quando comparado a todos os demais tratamentos, correlacionando seus dados com os tratamentos T4, T5 E T6 e T8, apresenta valores de significância, χ^2 =7.517, χ^2 =76.256, χ^2 =63.350 e χ^2 = 50.813.

O extrato de *P. myrtifolia* na concentração de 10g. L⁻¹ apresentou um aumento na divisão celular quando comparado as concentrações de 5g. L⁻¹, 7,5g. L⁻¹ e 2,5g. L⁻¹, com diferenças significativas de χ^2 = 31.195, χ^2 = 0.809 e χ^2 = 0.908.

Quando comparado aos valores do índice mitótico encontrados nas concentrações de 7,5g.L⁻¹ e 25g.L⁻¹ *P. myrtifolia*, a concentração de 5g.L⁻¹ proporciona uma diminuição de valores (χ^2 = 41.287 e χ^2 =21.930, respectivamente).

Os extratos de *P. myrtifolia* em todas concentrações analisadas apresentaram alterações cromossômicas sobre a divisão celular de *Allium cepa* (Tabela 2). Os resultados mostraram que as alterações observadas para o controle negativo e o positivo diferiram entre si (χ^2 = 50.869). Tanto o controle negativo, como o positivo diferiram dos demais tratamentos (χ^2 = 215.214).

TABELA 2: Número de células em divisão e alterações cromossômicas.

Tratamentos	Células em divisão	Pontes	Quebras	Binucleadas	Total de irregulares	%AC
T1	193	0	1	0	1	0,5 ^g
T2	80	0	4	4	8	10,0 ^e
T3	64	2	8	3	13	20,3 ^a
T4	47	0	6	3	9	19,1 ^b
T5	131	0	18	1	19	14,5 ^c
T6	116	0	10	2	12	10,3 ^d
T7	33	0	1	1	2	6,1 ^f
T8	104	3	8	0	11	10,5 ^d

T1-água destilada (controle negativo), T2-glifosato 2,5% (controle positivo). T3-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 2,5 g.L⁻¹, T4-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 5,0 g.L⁻¹, T5-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 7,5 g.L⁻¹, T6-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 10,0 g.L⁻¹, T7-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 12,5 g.L⁻¹, T8-extrato aquoso de *P. myrtifolia* 25,0 g.L⁻¹*Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste χ^2 em nível de 5%. *CI= Células *AC=alterações cromossômicas

Para espécies como *Mikania glomerata* (DALLA NORA et al., 2010), *Mikania cordifolia* (DIAS et al., 2014) e *Baccharis trimera* (PINHO et al., 2010) o efeito genotóxico também ficou comprovado pelo teste de *Allium cepa*. Apenas os extratos nas concentrações de 25 g. L⁻¹ e 10 g. L⁻¹ não diferiram entre si quando comparados ($\chi^2 = 0.678$). Outros pesquisadores como FRESCURA et al., (2012) não encontraram ação genotóxica de extratos de folhas e cascas de *Luehea divaricata* através do teste de *Allium cepa*. Para a espécie *Sagittaria montevidensis*, na concentração de 6g/L, também foram encontradas tais alterações (KUHN et al., 2012)

As alterações cromossômicas (AC) variaram de 0,51% no controle em água a 20,3% no extrato de *P. myrtifolia* na concentração de 2,5 g.L, mostrando que na água esse valor é não é muito relevante, pois significa apenas 01 única alteração cromossômica observada quando comparado com os demais tratamentos (Tabela 2). Apenas os extratos nas concentrações de 25 g. L⁻¹ e 10 g. L⁻¹ não diferiram entre si quando comparados ($\chi^2 = 0.678$).

As principais AC encontradas no estudo foram quebras cromossômicas, como as encontradas nos tratamentos T5 (Figura 1-a e 1-d), T8 (Figura 1-B) e T6 (Figura 1-c).

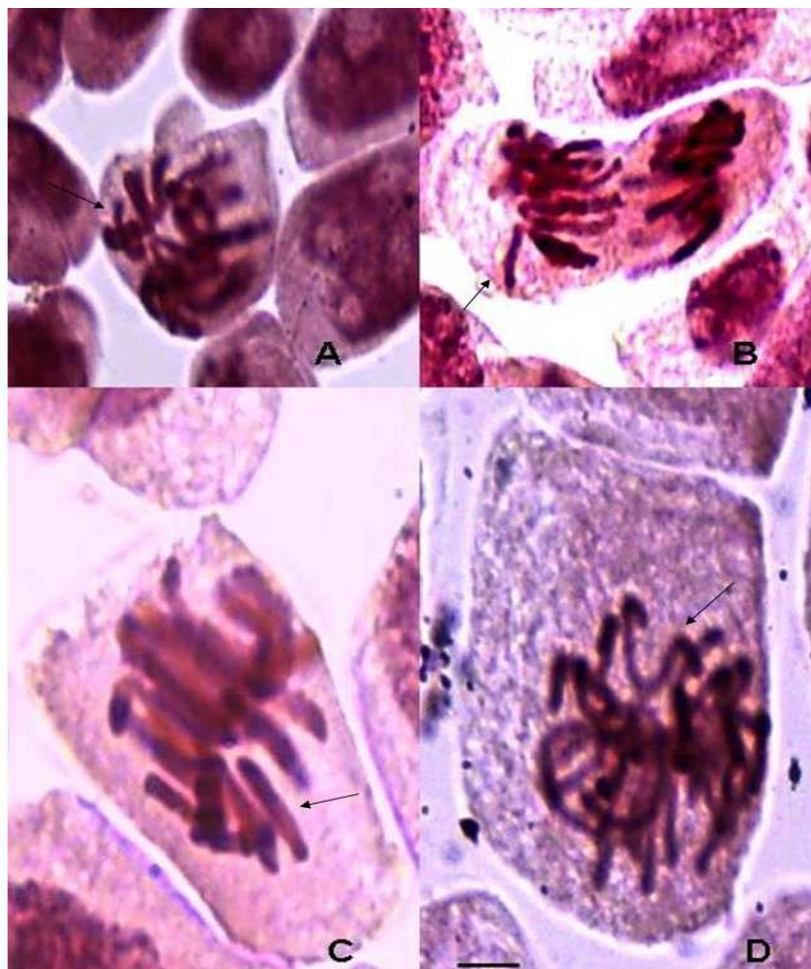


FIGURA 1: Alterações cromossômicas. A- Metáfase desorganizada com quebra cromossômica do tratamento com *P. myrtifolia* 7,5 g. L⁻¹ (T5); B- Anáfase com quebra cromossômica no tratamento de *P. myrtifolia* 25 g. L⁻¹. (T8); C- Quebra cromossômica em metáfase no tratamento com *P. myrtifolia* 10 g. L⁻¹ (T6); D- Metáfase com quebra cromossômica do tratamento com *P. myrtifolia* 7,5 g. L⁻¹ (T5). Escala= 10µm. Seta indicando quebra cromossômica.

Fonte: Autoria própria

KUHN et al., (2015) e COELHO (2013), encontraram tais alterações em seus estudos utilizando o mesmo sistema teste para avaliação de genotoxicidade das plantas, *Eugenia uniflora* e *Sagittaria montevidensis* Cham. & Schlecht, respectivamente.

Baseando-se nos resultados encontrados, além de apresentar ação genotóxica, tem-se que essa espécie possui potencial antiproliferativo, pois teve a capacidade de inibir a divisão celular de *Allium cepa* em todas as concentrações, quando comparada ao controle negativo em água. Estudos feitos a partir de ritidoma de *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá-do-cerrado) sobre as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, LACERDA et al., (2014) verificaram que os extratos brutos apresentaram ação antiproliferativa significativa sobre o ciclo celular da cebola. ROSSATO et al., (2010) avaliaram o efeito antiproliferativo de infusões de *Pluchea sagittalis* utilizando o mesmo sistema teste, onde analisaram o efeito de infusões em três concentrações (2,5, 5 e 25g dm⁻³) de folhas cultivadas em três ambientes (*in vitro*, sala de crescimento climatizada e em campo), e concluíram que a infusão de folhas de *P. sagittalis* cultivadas em campo possui grande atividade antiproliferativa, bem como o sistema de cultivo de plantas influencia este potencial.

CONCLUSÃO

Conclui-se que os extratos aquosos das folhas preparados por infusão de *P. myrtifolia* coletados em ambiente natural possuem efeitos antiproliferativo e genotóxico sobre a divisão celular de *Allium*.

REFERENCIAS

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira Farmacognosia** v. 17, n. 3, p. 444-447, 2007.

BARG, D. G. Plantas Tóxicas. **Trabalho apresentado para créditos em Metodologia Científica no Curso de Fitoterapiano IBEHE / FACIS**. Faculdade de Ciências da Saúde de São Paulo, SP, 2004.

CABRERA, G. L., RODRIGUEZ, D.M.G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutat Research**. v.426, p. 211-214, 1999.

COELHO, A. P. D. **Potencial genotóxico e antiproliferativo dos extratos de *Echinodorus grandiflorus* e *Sagittaria montevidensis* (Alismataceae)**. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia)-Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2013.

COELHO, A. P. D.; FRESCURA, V. D.; MAMBRI, A. P.; BOLIGON, A. A.; TEDESCO, S. B. Avaliação dos compostos fenólicos e potencial genotóxico e antiproliferativo do extrato de *Echinodorus longiscapus* Arech. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.16, 2698-2709. 2013.

DALLA NORA, G.; PASTORI, T.; LAUGHINGHOUSE, H. D.; CANTO-DOROW, T. S.;

TEDESCO, S.B. Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikania glomerata* (Asteraceae). **Biocell**, v.34, n.3, p. 95-101, 2010.

DIAS, M. G.; CANTO-DOROW, T. S.; COELHO, A. P. D.; TEDESCO, S. B. Efeito genotóxico e antiproliferativo de *Mikania cordifolia* (L. F.) Willd. (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. **Revista brasileira de Plantas Medicinais**, v.16, n.2, p.202-208, 2014.

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 Farmacognosia**, v.17, p. 49-54. 2007.

FERNANDES, A. Noções de toxicologia e plantas tóxicas. 2. ed. Fortaleza: BNB, 1975. 1987 p.(Monografias, 20) *in caput* ESTON, M. R.; VALLILO, M. I.; GARBELOTTI, M. L.; STARZYNSKI, R.; SANTOS, A. S. R. Aspectos Químicos dos frutos de *Prunus myrtifolia* (L.) Urban, (ROSACEAE) – Alimento de algumas aves silvestres. **Rev. Inst. Flor**, v. 19, n. 1, p. 13-18, 2007.

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

FRESCURA, V. D.; LAUGHINGHOUSE, H. D.; TEDESCO, S. B. Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Luehea divaricata* on the *Allium Cepa* cell cycle. **Caryologia**, v. 65, n.1, p. 27-33, 2012

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002, 131p.
JONES, A. D. Why are so many food plants cyanogenic? **Phytochemistry**, v. 47 n. 2, p. 155-162, 1998.

KUHN, A. W.; TEDESCO, S. B.; COELHO, A. P. D., CANTO-DOROW, T.; SILVA, A. C. F. Análise do efeito genotóxico do extrato aquoso da espécie *Sagittaria montevidensis* Cham. & Schlecht. (Alismataceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae). **Anais da Jornada Acadêmica Integrada, UFSM**. 2012

KUHN, A. W; TEDESCO, M.; LAUGHINGHOUSE, H. D.; FLORES, F. C.; SILVA, C. B.; CANTO-DOROW, T. S.; TEDESCO, S. B. Mutagenic and antimutagenic effects of *Eugenia uniflora* L. by the *Allium cepa* L. test. **Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics**. DOI: 10.1080/00087114.2014.998525.

LACERDA, L. P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A. P. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.86, n.3, p.1147-1150, 2014

MAIA, J. G. S. Cyanogenesis in *Prunus Myrtifolia*, **Revista Latinoamericana de Quimica**, v. 18, n. 2, 1987.

MACIEL, M. A. M; PINTO, A. C.; VEIGA JR. V F.; GRYNBERG, N, F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

PINHO, D. S.; STURBELLE, R. T.; MARTINO-ROTH, M.G., 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**, v. 20(2): 165-170, 2010.

ROSSATO, L. V.; TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, H. D.; FARIAS, J. G.; NICOLOSO, F. T. Alterations in the mitotic index of *Allium cepa* induced by infusions of *Pluchea sagittalis* submitted to three different cultivation systems. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol.82, n.4, p. 857-860, 2010.

SANTOS, L. A. Estudo químico e das atividades citotóxica, antioxidante e antifúngica de *Prunus myrtifolia* L. (Urban.) (ROSACEAE). **Dissertação** (Doutorado em Química)- Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista, SP, 2005.

SILVA J.; ERDTMANN B.; HENRIQUES J. A. P. **Genética toxicológica**. Porto Alegre, Alcançe, 422p, 2003

SOUZA, L.F.; IV LAUGHINGHOUSE, H.D.; PASTORI, P.; TEDESCO, M.T.; KUHN, A.W.; CANTO-DOROW, T.S.; TEDESCO, S. B. Genotoxic potential of aqueous extracts of *Artemisia verlotorum* on the cell cycle of *Allium cepa*. **International Journal of Environmental Studies**, v.67, p. 871-877, 2010

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGIII. 3. Ed. Nova Odessa, São Paulo, 2012, 768p.

TEDESCO, M.; KUHN, A. W.; AGUIAR, A. R.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO S. B. Potencial antiproliferativo de extratos aquosos de *Mentha pulegium* L. pelo teste de *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.8, n.15; p. 1913, 2012.

TEIXEIRA, R. O.; CAMPAROTO, M. L.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. *in vivo* assays. **Genet Mol Biol**, v. 26, p. 551-555. 2003.