

Análise do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato hidroalcolóico das folhas da Morus nigra L. Através do bioensaio Allium cepa

Analysis of the cytotoxic, genotoxic and mutagenic potential of the hydroalcoholic extract of Morus nigra L. Leaves through the bioassay Allium cepa

Análisis del potencial citotóxico, genotóxico y mutagénico del extracto hidroalcohólico de hojas de Morus nigra L. Através del bioensayo Allium cepa

Recebido: 25/02/2020 | Revisado: 02/03/2020 | Aceito: 11/03/2020 | Publicado: 22/03/2020

Patrícia Nunes dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7173-2116>

Centro Universitário Santo Agostinho-UNIFSA, Brasil

E-mail: pattynunessantos@hotmail.com

Francisco Adalberto do Nascimento Paz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6697-1705>

Centro Universitário Santo Agostinho-UNIFSA, Brasil

Email: pazadalberto19@hotmail.com

Elanne Nunes dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7118-6979>

Universidade Federal do Piauí – UFPI, Brasil

E-mail: elanne_santos@hotmail.com

Nelson Jorge Carvalho Batista

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8326-1510>

Centro Universitário Santo Agostinho-UNIFSA, Brasil

E-mail: professornelsonjorge@gmail.com

Tássio Mascarenhas de Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7416-919X>

Universidade Federal do Piauí – UFPI, Brasil

Email: tassiocarvalho87@gmail.com

Charllyton Luis Sena da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0207-7688>

Centro Universitário Santo Agostinho-UNIFSA, Brasil

Email: charllyton@gmail.com

Resumo

O consumo de produtos e substâncias de origem vegetal é prática comum em populações de todo planeta. A *Morus nigra* L.(amoreira-preta) é uma planta medicinal bastante utilizada na medicina popular ,e possui vários princípios ativos com ação terapêutica, como por exemplo, atividade antioxidante, antinoceptiva, hipoglicemiante e anti-inflamatória. O objetivo do presente estudo foi analisar as possíveis atividades citotóxicas, genotóxicas e mutagênicas das folhas da *Morus nigra* L. através do teste *Allium cepa*. Para preparação do extrato foram utilizadas folhas da amora, coletada na cidade de Agricolândia-PI. Foram utilizados três concentrações diferentes (0,007 mg/mL, 0,07 mg/mL e 0,7mg/mL), além do controle negativo e positivo. Para cada concentração do extrato utilizou-se 10 bulbos de cebola, que ficaram expostos para germinação. Após o crescimento as raízes foram medidas com o auxílio de régua, cortadas e seguiu-se o procedimento de preparo das lâminas, que foram visualizadas em microscópio óptico em um aumento de 100x e analisadas quali quantitativamente quanto à presença de danos genéticos. A análise estatística foi feita através do sistema ANOVA da média dos resultados das amostras. Após análise dos dados foi observado que, o tamanho dos meristemas de raízes indicaram ausência de toxicidade, os índices mitóticos das células de *A. cepa* expostas nessas concentrações também não foram estatisticamente diferentes do controle negativo. As aberrações cromossômicas encontrados não foram significantes ($P < 0,05$) nas concentrações utilizadas e micronúcleos e células binucleadas não mostraram variações significativas quando comparados aos resultados do controle negativo. Desta forma, com base nos resultados o uso das folhas da *Morus nigra* mostra-se seguro nas concentrações em estudo, porém alguns estudos podem ser realizados no sentido de confirmação dos resultados e sugerir maior confiabilidade no uso dessa planta pela população de forma segura.

Palavras-chave: *Morus nigra* L; Planta; *Allium cepa*.

Abstract

Consumption of products and substances of plant origin is common practice in populations all over the planet. *Morus nigra* L. (blackberry) is a medicinal plant widely used in folk medicine, and has several active ingredients with therapeutic action, such as antioxidant, antinoceptive, hypoglycemic and anti-inflammatory activity. The aim of the present study was to analyze the possible cytotoxic, genotoxic and mutagenic activities of *Morus nigra* L. leaves through the *Allium cepa* test. For preparation of the extract were used blackberry leaves,

collected in the city of Agricolândia-PI. Three different concentrations (0.007 mg / mL, 0.07 mg / mL and 0.7 mg / mL) were used, in addition to the negative and positive controls. For each extract concentration, 10 onion bulbs were used, which were exposed for germination. After growth, the roots were measured with the help of a ruler, cut and followed by the slide preparation procedure, which were visualized under a light microscope at 100x magnification and analyzed qualitatively for the presence of genetic damage. Statistical analysis was performed using the ANOVA system of mean sample results. After data analysis, it was observed that the size of root meristems indicated no toxicity, the mitotic indexes of *A. cepa* cells exposed at these concentrations were not statistically different from the negative control. The chromosomal aberrations found were not significant ($P < 0.05$) in the concentrations used and micronuclei and binucleated cells did not show significant variations when compared to the negative control results. Thus, based on the results, the use of *Morus nigra* leaves is safe at the concentrations studied, but some studies can be performed to confirm the results and suggest greater reliability in the use of this plant by the population safely.

Keywords: *Morus nigra* L; Plant; *Allium* strain.

Resumen

El consumo de productos y sustancias de origen vegetal es una práctica común en poblaciones de todo el planeta. *Morus nigra* L. (mora) es una planta medicinal ampliamente utilizada en medicina popular, y tiene varios ingredientes activos con acción terapéutica, como actividad antioxidante, antinoceptiva, hipoglucémica y antiinflamatoria. El objetivo del presente estudio fue analizar las posibles actividades citotóxicas, genotóxicas y mutagénicas de las hojas de *Morus nigra* L. a través de la prueba *Allium cepa*. Para la preparación del extracto se utilizaron hojas de mora, recolectadas en la ciudad de Agricolândia-PI. Se utilizaron tres concentraciones diferentes (0,007 mg / ml, 0,07 mg / ml y 0,7 mg / ml), además de los controles negativos y positivos. Para cada concentración de extracto, se utilizaron 10 bulbos de cebolla, que fueron expuestos para la germinación. Después del crecimiento, las raíces se midieron con la ayuda de una regla, se cortaron y luego se realizó el procedimiento de preparación del portaobjetos, que se visualizó bajo un microscopio óptico con un aumento de 100x y se analizó cualitativamente la presencia de daño genético. El análisis estadístico se realizó utilizando el sistema ANOVA de resultados de muestras medias. Después del análisis de los datos, se observó que el tamaño de los meristemos de la raíz no indicaba toxicidad, los índices mitóticos de las células de *A. cepa* expuestas a estas concentraciones no eran

estadísticamente diferentes del control negativo. Las aberraciones cromosómicas encontradas no fueron significativas ($P < 0.05$) en las concentraciones utilizadas y los micronúcleos y las células binucleadas no mostraron variaciones significativas en comparación con los resultados del control negativo. Por lo tanto, según los resultados, el uso de hojas de *Morus nigra* es seguro a las concentraciones estudiadas, pero se pueden realizar algunos estudios para confirmar los resultados y sugerir una mayor confiabilidad en el uso de esta planta por parte de la población de manera segura.

Palabras clave: *Morus nigra* L. Planta. *Allium cepa*.

1. Introdução

O consumo de produtos e substâncias de origem vegetal é prática comum em populações de todo planeta, ao se tratar de plantas medicinais é ampla a lista de espécies que servem rotineiramente para necessidades das mais variadas ordens (Oliveira, et al., 2010). As plantas medicinais são definidas como aquelas capazes de produzir princípios ativos que possam alterar o funcionamento de órgãos e sistemas, restaurando o equilíbrio orgânico (Lima, et al., 2014).

Os estudos científicos a partir dessas plantas, são de extrema importância para a indústria farmacêutica, pois vêm sendo a base da descoberta de novas moléculas protótipo, novos fármacos e até de outras propriedades além daquelas já conhecidas (Franzotti, 2006)

Uma planta medicinal bastante utilizada na medicina popular é a *Morus nigra* L., conhecida popularmente como amoreira-preta. Essa espécie pertence ao gênero *Morus* e a família *Moraceae*, teve sua origem no continente asiático, e é perfeitamente cultivável no clima brasileiro (Padilha, et al., 2010)

Segundo Franzotti (2006), a amoreira preta possui vários princípios ativos com ação terapêutica, como por exemplo, atividade antioxidante, antinoceptiva, hipoglicemiante, anti-inflamatória, entre outras. Os frutos, cascas, raízes e folhas, são largamente utilizados na medicina popular.

As folhas desse vegetal se mostram bastantes eficientes no tratamento de dores de dente, quando utilizados em bochechos na forma de suco. (Vanoni, 2006). De acordo com Franzotti (2006), as folhas dessa planta podem ser utilizadas como antídoto para envenenamento causado por picadas de animais peçonhentos. E estudos mais recentes revelam que o chá das folhas da amoreira-preta, é indicado para mulheres no tratamento de

alguns transtornos da menopausa, também é indicado como terapia de reposição hormonal, e para o alívio dos sintomas de cefaléia e irritação que ocorrem no período pré-menstrual.

No entanto, a maioria das plantas medicinais não foi suficientemente estudada, no que se refere ao seu potencial tóxico, o qual pode ser monitorado pelo uso do sistema teste de *Allium cepa* (teste da cebola), que serve para avaliar o potencial citotóxico e genotóxico de substâncias a serem avaliadas conforme a observação das células meristemáticas da raiz da cebola. (Figueiredo, 2014).

O teste *Allium cepa* é o mais antigo na literatura (Lucio Neto, 2011) tendo seu uso registrado desde a década de 1930, embora só tenha sido padronizado sua realização em um protocolo publicado por Fiskesjo em 1985.

Para Nunes (2014), o teste de *Allium cepa* tem sido bastante utilizado e sugerido pela literatura, pois, através dele é possível avaliar simultaneamente aberrações cromossômicas, formação de micronúcleo e alterações no ciclo mitótico. Esse teste realiza análise de células meristemáticas proveniente de raízes tratadas com infusões medicinais (chás), ou até mesmos com óleos, unguentos de origem vegetal e compostos químicos. Além disso, o conhecimento dos parâmetros analisados no teste em espécimes vegetais através da análise do ciclo celular serve como um indicativo de segurança para a população que utiliza extratos vegetais como alternativa para cuidados de saúde (Pesnya & Romanovsky, 2013).

Assim, o objetivo do presente estudo foi analisar as possíveis atividades citotóxicas, genotóxicas e mutagênicas das folhas de *Morus nigra* L. através do teste *Allium cepa*, avaliando se o uso das folhas no tratamento das enfermidades possuem risco ou oferece segurança para a população.

2. Metodologia

2.1 Caracterização do estudo

O trabalho é enquadrado como pesquisa de caráter experimental, baseado na concepção da análise do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato hidroalcoólico das folhas *Morus nigra* L. através do teste *A. cepa*, por meio de abordagem qualitativa observacional em células eucarióticas.

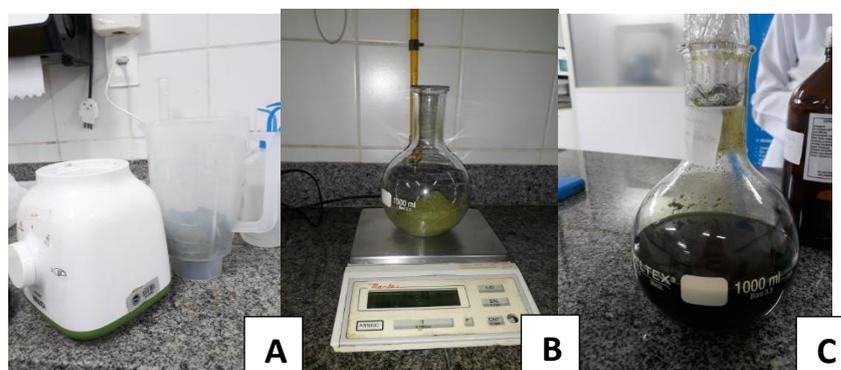
2.2 Amostra do estudo

Foram utilizadas folhas da *Morus nigra* L. conhecida como amoreira-preta, a coleta se procedeu na cidade de Agricolândia, Piauí, com localização via GPS 5°47'55.6"S

42°40'08.7"W, em maio 2018. Após isso foram confeccionadas as exsicatas e enviadas ao Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí (UFPI) para identificação. Feita a colheita, as folhas foram submetidas ao processamento vegetal. As amostras foram secas a temperatura ambiente de 24°C a 40°C ao abrigo do sol direto durante 07 (sete) dias.

Para o preparo do extrato, triturou-se as folhas secas em moinho de facas e foram pesadas, o método de extração realizado foi a maceração. Assim o material obtido por intermédio da trituração, foi transferido para um balão de fundo chato, onde se adicionou etanol para iniciar o processo de extração. O líquido extrator (álcool etílico PA) ficou em contato com o material triturado durante 07 (sete) dias com agitações intermitentes a cada 24 horas para não haver saturação, após esse período foi feita a filtração em papel filtro procurando-se separar a parte sólida da solução. A parte sólida foi submetida a outra extração ao ser adicionado mais solvente. E na sequência foi removido o etanol da solução por meio do evaporador rotativo obtendo assim o extrato seco. No total foram realizadas 05(cinco) extrações até a obtenção do extrato bruto que obteve o valor de 12,32 gramas, utilizado para posterior preparo das concentrações.

Figura 1- (A) Trituração no moinho de facas (B) Pesagem das folhas secas após a trituração (C) Folhas trituradas em contato com o solvente (etanol) no balão de fundo chato.



Fonte: SANTOS, PN. 2019

Figura 2 – (D) Filtração do extrato para separação da parte sólida **(E)** Remoção do etanol através do rotaevaporador **(F)** Extrato bruto.



Fonte: SANTOS, PN. 2019

A quantidade de extrações a serem feitas foi determinada a partir do resíduo seco. Para essa determinação 1 mL de cada extrato foi medido e transferidos para recipientes previamente tarados e identificados. Os recipientes ficaram a temperatura ambiente, até a secura e peso constate. Esses recipientes foram pesados novamente para calcular o teor de sólidos.

O extrato bruto foi utilizado para produzir três extratos, de concentrações diferentes. As concentrações 0,007 mg/mL, 0,07 mg/mL e 0,7mg/mL definidas para a pesquisa, foram estabelecidas através do estudo intitulado: Uso do sistema teste de *Allium cepa* com o bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais, de Bagatini 2007.

2.3 Procedimento de coleta

Para o bioensaio *A. cepa* L. foram utilizados bulbos de cebolas da espécie *A. cepa* L. de tamanho pequeno e uniforme de mesma origem, não germinadas e saudáveis, mantidas em locais livres de umidade e ao abrigo de luz.

Todas as cebolas foram lavadas em água corrente, por cerca de 2 horas para que se reduzam os efeitos de possíveis inibidores do brotamento. Para cada concentração do extrato (0,007 mg/mL, 0,07 mg/mL e 0,7mg/mL), controle positivo (sulfato de cobre) e controle negativo (água sem cloro), utilizou-se 10 bulbos de cebola, que ficarão expostos para germinação em recipientes apropriados, mantidas por 24 horas no escuro a cerca de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ em água de poço, logo após foi substituída a água de poço pelas concentrações por 72 horas.

Após o tempo de 72 horas de exposição, as raízes foram medidas com o auxílio de régua, cortadas de 1,5 a 2,0 cm do ápice das raízes, as mesmas foram fixadas em uma solução

Carnoy (3:1- etanol: ácido acético v/v) durante 24 h, depois estocadas em etanol a 70%, conservando-se em refrigeração até o momento da preparação histológica das lâminas.

Figura 3 – (G) Réplicas das cebolas imersas na água de poço (H) Bulbos com crescimento das raízes em suas respectivas concentrações (I) Medição e corte das raízes.



Fonte: SANTOS, PN. 2019

Para a preparação das lâminas, os meristemas foram lavados em água destilada (3 banhos de 5 minutos) seguida de hidrólise com HCL 1N por 11 min a 60°C, seguido de um novo banho de água destilada a temperatura ambiente. Em seguida, as raízes foram transferidas para frascos escuros contendo o reagente Schiff por aproximadamente 2 h. Logo após, as raízes foram lavadas em água corrente até a total retirada do corante. Posteriormente as raízes foram colocadas sobre uma lâmina e adicionado sobre os materiais, uma gota de Fast Green que foram coberto com lamínulas e feito o esmagamento assim conservadas para posterior análise. Foram preparadas 10 lâminas por tratamento, totalizando 5000 células para cada concentração. As lâminas foram visualizadas em microscópio óptico em um aumento de 100x e analisadas quali quantitativamente quanto à presença de danos genéticos.

Figura 4 – (J) Preparo do HCL 1N por 11 min a 60°C (L) Lavagem para retirada do reativo de Schiff (M) Preparo da lâmina.



Fonte: SANTOS, PN. 2019

O Índice Mitótico (IM), que corresponde à relação do número de células em divisão e total de células observadas, em porcentagem, sendo analisada a presença de metáfase, anáfase e telófase. Para a análise de aberrações cromossômicas (AC) vários tipos de aberrações foram considerados (fragmentos cromossômicos, perdas de cromossomos, pontes, atrasos, entre outros) nas diferentes fases de divisão celular (metáfase, anáfase e telófase), sendo todos os registros reunidos em uma só categoria para possibilitar a avaliação das AC como um único "endpoint". A avaliação da toxicidade foi realizada pela medição do comprimento das raízes média. Foi realizado a análise estatística através do sistema ANOVA da média dos resultados das amostras.

2.4 Aspectos éticos e legais

Por tratar-se de um trabalho realizado de maneira experimental/observacional, sem o envolvimento de seres humanos e animais, a pesquisa não apresenta nenhuma implicação de natureza ética/legal. Sendo assim, não houve necessidade de submissão do projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Santo Agostinho (CEP/UNIFSA), de acordo com a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (CNS/MS).

2.5 Análise dos dados

O comprimento das raízes foi utilizado para avaliação do índice de toxicidade, cada tratamento foi comparado com o controle negativo e a ocorrência de toxicidade (inibição do crescimento) foi considerada quando a diferença entre tratamento e controle negativo foi estatisticamente significativa. Foi realizado a análise estatística através do sistema ANOVA da média dos resultados das amostras.

3. Resultados e Discussão

As plantas são fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos, mais diversificados constituintes químicos possíveis, muitos dos quais são utilizados para a produção de um grande número de fármacos, e outros nem estudados (Belcavelo, et al, 2012).

O Teste de bioensaio *Allium cepa* fornece dois tipos de toxicidade. Os parâmetros macroscópicos que podem ser observados consistem em formação de tumores, avaliação de crescimento de raízes e raízes torcidas, entre outros. Já os parâmetros microscópicos, correspondem ao índice mitótico, que analisa a taxa de divisão celular, aberrações cromossômicas, como: cromossomos em anel, pontes cromossômicas, cromossomos pegajosos, retardos cromossômicos, que ocorrem principalmente nas fases de metáfase e anáfase e formação de micronúcleos, como indicadores de anormalidades no DNA (Cuchiara, 2012).

A Tabela 1 mostra o resultados de toxicidade com base na análise do tamanho das raízes e a citotoxicidade em relação aos índices mitóticos. Foi utilizado além do controle negativo (água sem cloro) e do controle positivo (sulfato de cobre 0,0002 mg/mL), extrato das folhas da *Morus nigra* nas concentrações de 0,7; 0,07, 0,007mg/ML.

Tabela 1 – Índices mitóticos e crescimento da raiz em *Allium cepa* expostos à diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico das folhas da *Morus nigra*.

Grupo	Índice mitótico (células em divisão/2000)	Comprimento da raiz (cm)
Controle Negativo ^a	445,6 ± 1,62	7,62 ± 1,26
C - 0,007	42,1 ± 17,78	2,64 ± 1,42
C - 0,07	52,40 ± 31,46	4,43 ± 1,72
C - 0,7	60,80 ± 12,24	5,36 ± 1,34
Controle Positivo ^b	76,20 ± 14,3*	1,88 ± 1,2*

^aControle Negativo= água de poço; ^b Controle positivo= sulfato de cobre (0.0002 g/L); * Diferença significativamente diferente do controle negativo ao nível de P<0,05 (ANOVA);

O tamanho dos meristemas de raízes de *A. cepa* indicam ausência de toxicidade, pois as doses não apresentaram redução significativa do crescimento de raízes, em comparação ao controle negativo (CN).

Segundo Figueiredo (2014), a citotoxicidade é basicamente medida pela taxa de crescimento celular, podendo estar aumentada ou diminuída e pode ser observada macroscopicamente. E de acordo com Belcavello (2012), o índice mitótico (IM) é calculado por meio da proporção entre o número de células em divisão e o número total de células analisadas. Os IM quando significativamente menores que aqueles do controle negativo(CN) podem indicar alterações provenientes da ação de substâncias químicas no crescimento e desenvolvimento dos organismos expostos e quando os IM são maiores que o CN resulta do aumento na divisão celular, podendo ser prejudicial às células, levando a proliferação celular desordenada e eventualmente, a formação de tumores (Leme & Marin-Morales, 2009).

No estudo em questão, os resultados analisados de cada concentração do extrato das folhas da *Amora* não foram estatisticamente diferentes do CN mostrando que o extrato em estudo não interferiu na divisão celular.

As aberrações cromossômicas (AC) (Tabela 2) são reconhecidas como importantes consequências de ações genotóxicas de agentes químicos (Natarajan, 2002). Segundo Machado (2013), a mutagenicidade é o efeito tóxico que danifica, especificamente, o material genético presente na célula, acarretando uma mudança no DNA ou no próprio cromossomo. Nessa pesquisa foram consideradas as seguintes AC: pontes anafásicas, fragmentos cromossômicos, atrasos anafásicos e C-metáfase, em análise não foi encontrado nenhum resultado significativo sobre o crescimento dos meristemas de raízes de *A. cepa*.

Tabela 2 – Aberrações cromossômicas da raiz em *Allium cepa* expostos à diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico das folhas da *Morus nigra*.

ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS				
GRUPOS	Pontes Anafásicas	Fragmentos Cromossômicos	Atrasos Anafásicos	C-metáfases
Controle Negativo ^a	0,20 ± 0,30	0,26 ± 0,54	0,80 ± 0,21	0,12 ± 0,28
C - 0,007	0,60 ± 1,42	0,80 ± 0,42	0,92 ± 0,43	0,30 ± 0,82
C - 0,07	1,80 ± 1,21	1,10 ± 0,5*#	1,40 ± 1,26	0,60 ± 0,42
C - 0,7	2,82 ± 0,24	1,62 ± 0,32	1,56 ± 1,21	0,83 ± 0,23
Controle Positivo ^b	3,60 ± 0,42*	2,90 ± 0,10*	2,30 ± 0,72*	0,90 ± 0,41

^aControle Negativo= água de poço; ^b Controle positivo= sulfato de cobre (0.0002 g/L); * Diferença significativamente diferente do controle negativo ao nível de P<0,05 (ANOVA);

Os micronúcleos são umas das alterações mutagênicas visíveis em microscopia óptica, estes são definidos como pequenos corpos contendo DNA e localizados no citoplasma. Os mesmos são originados de fragmentos cromossômicos acêntricos, resultantes de quebras isocromatídicas, cromatídicas, ou de disfunções do fuso mitótico, podendo, em cada célula, aparecer mais de uma vez (Ribeiro, et al., 2003).

Conforme Lucio Neto (2011), a ocorrência dos micronúcleos está diretamente ligada a uma resposta integrada de instabilidade de cromossomos, fenótipos e alterações celulares causadas por defeitos genéticos e ou exposição exógena a agentes genotóxicos, refletindo inúmeras alterações cromossômicas importantes para a carcinogênese.

Na Tabela 3, são apresentadas o resultado dos micronúcleos e células binucleadas encontradas.

Tabela 3 –Micronúcleos e células binucleadas da raiz em *Allium cepa* expostos à diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico das folhas da *Morus nigra*.

	MN/ 2000	Binucleadas/ 2000
Controle Negativo ^a	0,23 ± 0,47	0,26 ± 0,42
C - 0,007	1,20 ± 0,67	1,25 ± 0,33
C - 0,07	1,80 ± 0,24	1,92 ± 0,34
C - 0,7	2,65 ± 0,56	0,74 ± 0,32
Controle Positivo ^b	6,40 ± 0,62*	1,70 ± 0,32*

^aControle Negativo= água de poço; ^b Controle positivo= sulfato de cobre (0.0002 g/L); * Diferença significativamente diferente do controle negativo ao nível de P<0,05 (ANOVA);

Neste teste com extrato das folhas da *Morus nigra* não houve aumento relevante do número micronúcleos, sugerindo assim ausência de efeitos mutagênicos em meristemas de *A. cepa* nas diferentes concentrações do extratos.

Desta forma obteve-se ausência de toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas da *Morus nigra* nas concentrações utilizadas, através do teste *Allium cepa*.

4. Conclusão

Conforme a análise dos dados, conclui-se que o extrato hidroalcoólico das folhas da *Morus nigra* nas concentrações de 0,7; 0,07, 0,007mg/mL, não apresentaram resultados significantes na toxicidade, ou seja, tamanho das raízes, índice mitótico, genotoxicidade e mutagenicidade, quando comparados aos resultados do controle negativo.

Desta forma, com base nos resultados o uso das folhas da *Morus nigra* mostra-se seguro nas concentrações em estudo, porém alguns estudos podem ser realizados no sentido de confirmação dos resultados e sugerir maior confiabilidade no uso dessa planta pela população de forma segura.

Referências

Bagatini, MD, Silva, ACF, Tedesco, SB (2007). Uso de sistema de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(3), 44-447.

Belcavello, L., Cunha, M. R. H., Andrade, M. A., & Batitucci, M. D. C. P. (2012). Citotoxicidade e danos ao DNA induzidos pelo extrato de *Zornia diphylla*, uma planta medicinal. *Natureza on line*, 10(3), 140-145.

Cuchiara, C. C., BORGES, C. D., & BOBROWSKI, V. L. (2012). Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. *Tecnologia Ciência Agropecuária*, 6(1), 33-38.

Figueiredo, D. R. D. (2014). Avaliação da citotoxicidade do extrato hídrico da erva doce (*Pimpinella anisum* L.) através do teste em *Allium cepa* L.

Franzotti, E. M. (2006). Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L., *Plectranthus ornatus* Codd., *Ipomoea cairica* (L) Sweet e *Pouteria torta* (Mart.) Radlk.

Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 682(1), 71-81.

Lima, C. M. P., Soares, R. P. F., Bastos, I. V. G. A., Grangeiro, A. R. S., Gurgel, A. P. A. D., Silva, A. C. P., ... & Souza, I. A. (2014). Avaliação da toxicidade aguda do extrato das cascas de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(4), 832-838.

Lucio Neto, M. P. (2011). Avaliação Tóxica, Citotóxica, Genotóxica e Mutagênica do Composto 3-(2-cloro-6-fluorobenzil)-imidazolidina-2, 4-diona em Células Eucarióticas. Teresina (PI): Universidade Federal do Piauí, Departamento de Farmácia.

Machado, A. T. (2013). Avaliação do potencial mutagênico do efluente do Terminal Petroquímico Almirante Soares Dutra (Osório-RS-Brasil) através do sistema teste de *Allium cepa*.

Nunes, N.M.F.(2014). Avaliação do potencial genotóxico da *Rosmarinus officinalis* L. através do bioensaio *Allium cepa*. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Piauí(UFPI). Piauí.

Oliveira, F. C. S., Barros, R. F. M., & Moita Neto, J. M. (2010). Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 12(3), 282-301.

Padilha, M. M., Moreira, L. Q., Moraes, F. F., Araújo, T., & Alves-da-Silva, G. (2010). Estudo farmacobotânico das folhas de amoreira-preta, *Morus nigra* L., Moraceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(4), 621-626.

Pesnya, D. S., & Romanovsky, A. V. (2013). Comparison of cytotoxic and genotoxic effects of plutonium-239 alpha particles and mobile phone GSM 900 radiation in the *Allium cepa* test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 750(1-2), 27-33.

Ribeiro, M. L. G., Silva, J. D., Dantas, M. O., Costa, F. G. P., Oliveira, S. D., Jordão Filho, J., & Silva, E. D. (2003). Exigências nutricionais de lisina para codornas durante a fase de

postura, em função do nível de proteína da ração. Revista Brasileira de Zootecnia, 32(1), 156-161.

Tedesco, SB e Laughinghouse IV, HD (2012). Bioindicador de genotoxicidade: o teste *Allium cepa*. Em contaminação ambiental . IntechOpen.

Vanoni, A. P. N. B. (2006). Avaliação da atividade fitoestrogênica do extrato hidroalcoólico e da infusão das folhas de *Morus nigra* L.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Patrícia Nunes dos Santos - 30 %

Francisco Adalberto do Nascimento Paz - 25%

Elanne Nunes dos Santos- 10 %

Nelson Jorge Carvalho Batista - 15 %

Tássio Mascarenhas de Carvalho- 10 %

Charllyton Luis Sena da Costa-10 %