

**Ação antiproliferativa e mutagenicidade da infusão das folhas de *Campomanesia sessiliflora* no modelo de *Allium cepa***

**Antiproliferative action and mutagenicity of the infusion of *Campomanesia sessiliflora* leaves in the *Allium cepa* model**

**Acción antiproliferativa y mutagenicidad de la infusión de hojas de *Campomanesia sessiliflora* en el modelo *Allium cepa***

Recebido: 16/05/2020 | Revisado: 16/05/2020 | Aceito: 20/05/2020 | Publicado: 27/05/2020

**Thiago Luis Aguayo de Castro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8127-1990>

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [thiagoaguayo@gmail.com](mailto:thiagoaguayo@gmail.com)

**Lucilene Finoto Viana**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6654-0355>

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [lucilenefinoto@hotmail.com](mailto:lucilenefinoto@hotmail.com)

**Maria Socorro Mascarenhas Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5343-4502>

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [maria\\_mascarenhas@outlook.com](mailto:maria_mascarenhas@outlook.com)

**Claudia Andrea Lima Cardoso**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4907-0056>

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [claudiacardosouems1@gmail.com](mailto:claudiacardosouems1@gmail.com)

**Resumo**

As folhas de *Campomanesia sessiliflora* (conhecida popularmente como guabiroba-verde) são consumidas por infusão pela população, tendo grande importância socioeconômica e cultural, além do impactar a saúde da população local, todavia há poucos estudos em relação as atividades biológicas desta planta, neste sentido objetivou-se analisar a ação antiproliferativa e mutagenicidade em *Allium cepa*, bem como a composição química da infusão das folhas de

*C. sessiliflora*. A infusão das folhas de *C. sessiliflora* apresentou  $106,50 \pm 10,10 \text{ mg g}^{-1}$  de compostos fenólicos,  $47,58 \pm 0,20 \text{ mg g}^{-1}$  de flavonoides e  $0,22 \pm 0,01 \text{ mg g}^{-1}$  de taninos, já no teste em *A. cepa* o extrato não induziu a formação de micronúcleos e morte celular em concentrações igual ou abaixo de  $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ , no entanto com índices significativamente menores que o controle negativo na concentração de  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ . Os resultados obtidos indicam efeito antiproliferativo dependente da concentração do extrato.

**Palavras-chave:** Índice de morte celular; Micronúcleos; Índice mitótico.

### Abstract

The leaves of *Campomanesia sessiliflora* (popularly known as guabiroba-verde) are consumed by infusion by the population, having great socioeconomic and cultural importance, in addition to impacting the health of the local population, however there are few studies regarding the biological activities of this plant, in this sense The objective was to analyze the antiproliferative and mutagenicity action in *Allium cepa*, as well as the chemical composition of the *C. sessiliflora* leaves infusion. The infusion of *C. sessiliflora* leaves showed  $106.50 \pm 10.10 \text{ mg g}^{-1}$  of phenolic compounds,  $47.58 \pm 0.20 \text{ mg g}^{-1}$  of flavonoids and  $0.22 \pm 0.01 \text{ mg g}^{-1}$  of tannins, already in the test in *A. cepa* the extract did not induce the formation of micronuclei and cell death in concentrations equal to or below  $0.5 \text{ mg mL}^{-1}$ , however with significantly lower rates than the negative control at a concentration of  $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$ . The results obtained indicate an antiproliferative effect depending on the concentration of the extract.

**Keywords:** Cell death index; Micronuclei; Mitotic index.

### Resumen

Las hojas de *Campomanesia sessiliflora* (conocida popularmente como guabiroba-verde) son consumidas por infusión por la población, teniendo una gran importancia socioeconómica y cultural, además de afectar la salud de la población local, sin embargo, hay pocos estudios sobre las actividades biológicas de esta planta, en este sentido. El objetivo fue analizar la acción antiproliferativa y mutagénica en *Allium cepa*, así como la composición química de la infusión de hojas de *C. sessiliflora*. La infusión de hojas de *C. sessiliflora* mostró  $106.50 \pm 10.10 \text{ mg g}^{-1}$  de compuestos fenólicos,  $47.58 \pm 0.20 \text{ mg g}^{-1}$  de flavonoides y  $0.22 \pm 0.01 \text{ mg g}^{-1}$  de taninos, ya en la prueba en *A. cepa*, el extracto no indujo la formación de micronúcleos y la muerte celular en concentraciones iguales o inferiores a  $0.5 \text{ mg mL}^{-1}$ , sin embargo, con tasas significativamente más bajas que el control negativo a una concentración de  $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$ . Los resultados obtenidos indican un efecto antiproliferativo dependiendo de la concentración del extracto

**Palabras clave:** Índice de muerte celular; Micronúcleos; Índice mitótico.

## 1. Introdução

O Brasil possui em torno de 15 a 20% da biodiversidade mundial, facilitando a prática fitoterápica pela população, ajudando assim a combater doenças, com o cerrado abrigando 30% da biodiversidade do país, sendo o segundo maior bioma do Brasil, com grande variedade de plantas fitoterápicas (Cunha & Bortolotto, 2011).

Dentre as plantas estudadas neste bioma, o gênero *Campomanesia* vem apresentando compostos biologicamente ativos (Catelan, et al., 2018a). Esse gênero tem grande relevância para o estado do Mato Grosso do sul, culminando na Lei 5.082 de novembro de 2017 que considera o fruto deste gênero, normalmente denominado guavira, como símbolo do estado.

A *Campomanesia sessiliflora*, conhecida popularmente como guabiroba-verde é encontrada em Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e no Rio Grande do Sul (Kataoka & Cardoso, 2013), possui poucos estudos farmacológicos, porém apresenta grande potencial terapêutico, além de apresentar ação antioxidante e fotoprotetora, também sendo promissora para incorporação em produtos multifuncionais (Catelan, et al., 2019).

Devido ao impacto do consumo de plantas fitoterápicas na saúde pública, o Ministério da Saúde estabeleceu em 2006, por meio do decreto nº 5813, o Programa Nacional de Plantas Medicináveis e Fitoterápicas, que busca a melhoria da saúde, fortalecimento da agricultura familiar, uso sustentável da biodiversidade brasileira, geração de empregos e desenvolvimento tecnológico e industrial.

O consumo de fitoterápicos pela população gera benefícios para a saúde, contudo algumas infusões de plantas podem apresentar toxicidade e efeito mutagênico (Frescura; Laughinghouse IV; Tedesco, 2012).

Neste sentido, o teste de toxicidade e mutagenicidade têm grande relevância (Fachinetto, et al., 2007) e estas avaliações podem ser realizadas com a espécie *Allium cepa*. O *A. cepa* é material pioneiro no estudo de deformidades genéticas causadas por ação de compostos químicos, mostrando ótimos resultados para este tipo de estudo e tendo baixo custo (Madíć et al, 2017). Este modelo biológico é amplamente utilizado, com a alteração do seu índice mitótico, assim como a presença de morte celular e micronúcleos sendo utilizados como parâmetros para avaliar o potencial mutagênico e também antiproliferativo de amostras (Leme; Marin-Morales, 2009).

Todavia não há estudos analisando o efeito da infusão das folhas de *C. sessiliflora* no teste de *A. cepa*, assim objetivou-se analisar a ação antiproliferativa e mutagenicidade da infusão das folhas de *C. sessiliflora* em *A. cepa* assim como a avaliar os teores de metabólitos secundários na sua composição química.

## 2. Metodologia

### 2.1 Material vegetal e composição química

As folhas de *C. sessiliflora* (registro 2193 no Herbário da UFGD) foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da UFGD em Dourados-MS. As folhas foram secas em estufa de circulação de ar a  $37 \pm 2$  ° C e trituradas em um moinho do tipo Willey (Marconi) com uma peneira de malha 10. Posteriormente, a amostra foi embalada, rotulada e armazenada à temperatura ambiente.

A obtenção do extrato da *C. sessiliflora* ocorreu pelo método de infusão, conforme relata Catelan et al. (2018b). As folhas na concentração de 20 g L<sup>-1</sup> foram colocadas em contato com água na temperatura de 95-100 °C por 10 minutos em recipiente fechado. Em sequência filtrou-se o extrato e liofilizou-os (Alpha 1-2LD Plus, Christ, com os parâmetros de vacum 0.045 mbr e temperatura de - 42°C), posteriormente armazenado o extrato em frascos hermeticamente fechados.

Os extratos foram solubilizados na concentração de 1 mg mL<sup>-1</sup> em água destilada para avaliação dos teores de compostos fenólicos, flavonoides e taninos.

Os compostos fenólicos e flavonoides foram determinados pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Djeridane, et al., 2006). O resultado está expresso em mg de ácido gálico por g de extrato liofilizado para compostos fenólicos e mg de rutina por g de extrato liofilizado para flavonoides.

A concentração de taninos totais foi determinada usando o método espectrofotométrico de Folin Denis, com ácido tânico como referência (Ibe et al., 2013). O resultado está expresso em mg de ácido tânico por g de extrato liofilizado. Os testes foram realizados em triplicata.

## 2.2 *Allium cepa*

A amostra foi preparada nas concentrações de 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, 0,5 mg mL<sup>-1</sup> e 0,1 mg mL<sup>-1</sup> em água destilada. Trinta sementes livres de pesticidas de *A. cepa* (Isla brand) foram submetidas em triplicata as diluições da amostra. Para o controle negativo (CN) utilizou-se água destilada, já para o controle positivo (CP) utilizou-se trifluralina na concentração de 0,84 µg mL<sup>-1</sup>. As sementes de *A. cepa* foram colocadas em placas de Petri com 3 mL de cada amostra em recipientes de plástico estéreis e foram incubadas em B. O. D. por 96 horas à temperatura de 23 ± 3°C, conforme o procedimento adaptado de Leme & Marin-Morales (2009). Depois deste período, as sementes foram contadas manualmente e o tamanho das raízes foram mensuradas usando um pacmetro (Digmess).

As sementes foram fixadas com solução Carnoy (Etanol absoluto / ácido acético 3:1) por 6 horas em temperatura ambiente (25 °C). Depois deste período, o fixador foi trocado por um novo Carnoy e as amostras foram armazenadas a -20 °C. As sementes foram lavadas em água destilada três vezes e a hidrólise foi realizada com ácido clorídrico 1 mol L<sup>-1</sup> a 60 °C por 8 a 11 minutos. Então realizou-se mais uma lavagem, de forma semelhante a anterior e adicionou-se reativo de Schiff's, deixando reagir por 2 horas em local escuro, em sequência removeu-se o excesso de corante com uma lavagem.

Foram elaboradas lâminas com os meristemas das raízes de *A. cepa* expostas as amostras e realizou-se a leitura em um microscópio Nikon (Eclipse, E200) em ampliação de 400x, com 10 lâminas por amostra e realizando a leitura de 500 células por lâminas, totalizando 5 mil células. O índice de germinação, tamanho das raízes, índice mitótico, índice de mutagenicidade e índice de morte celular foram calculados de acordo com Francisco et al. (2018). As análises foram realizadas em triplicata. Para a análise estatística do *A. cepa* foi realizada usando o software R, com nível de significância de 0,05.

## 3. Resultados e Discussão

Foi possível observar uma redução no índice de germinação com o aumento da concentração do extrato, assim como redução do tamanho médio as raízes (Tabela 1). O teste de germinação mostrou uma diferença significativa no índice de germinação e tamanho das raízes em relação ao controle negativo ( $p < 0,05$ ) e também entre cada uma das concentrações avaliadas em relação ao controle negativo ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1** – Índice de germinação e tamanho médio das raízes, índice mitótico, índice mutagenicidade e índice morte celular do infuso obtidos das folhas de *C. sessiliflora* no teste em *A. cepa*.

Infusão	IG (%) Média ± DP	TR (nm) Média ± DP	IM (%) Media ± DP	IMT (%) Media ± DP	IMCe (%) Media ± DP
1,0 mg mL <sup>-1</sup>	58,33 ± 2,78	4,19 ± 0,97	3,6 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,2 ± 0,1
0,5 mg mL <sup>-1</sup>	65,01 ± 2,21	4,33 ± 0,68	2,1 ± 0,2	-	-
0,1 mg mL <sup>-1</sup>	73,00 ± 7,07	4,47 ± 0,96	1,8 ± 0,1	-	-
CN	86,77 ± 4,94	4,97 ± 1,82	5,3 ± 0,2	-	-
CP	45,67 ± 0,09	2,85 ± 0,89	0,4 ± 0,1	3,5 ± 0,2	2,5 ± 0,1

IG = Índice germinação; TR = Tamanho das raízes; IM = Índice mitótico; IMT = Índice mutagenicidade; IMCe = Índice morte celular; CN = Controle negativo (água destilada); CP = Controle positivo (trifluralina 0.84 µg mL<sup>-1</sup>); DP = desvio padrão. Fonte: os autores (2020).

A redução do tamanho das raízes e do índice de germinação pode estar relacionada à presença de compostos fenólicos na amostra, pois esta classe de metabolitos secundários pode apresentar capacidade alelopática (Aslam, et al., 2017). Estes compostos interferem no metabolismo de outras plantas, estando associados ao sistema defensivo e afetando vários processos fisiológicos, podendo modificar padrões de crescimento e desenvolvimento dos vegetais (Gatti; Perez; Lima, 2004).

A infusão das folhas de *C. sessiliflora* apresentou 106,50 ± 10,10 mg g<sup>-1</sup> de compostos fenólicos. Segundo Rufino et al (2010), a concentração de compostos fenólicos pode ser classificada em baixa (100 mg g<sup>-1</sup>), média (de 100 mg g<sup>-1</sup> até 500 mg g<sup>-1</sup>) e alta (maior que 500 mg g<sup>-1</sup>), neste sentido pode-se classificar a concentração da amostra como média. A infusão também apresentou 47,58 ± 0,20 mg g<sup>-1</sup> de flavonoides e 0,22 ± 0,01 mg g<sup>-1</sup> de taninos.

Estes compostos são liberados pelas plantas podendo interferir no crescimento das demais, levando a uma vantagem na disputa por nutrientes, sendo que tais compostos químicos podem ser utilizados como herbicidas sustentáveis (Schandry & Becker, 2019).

Foi possível observar ausência de índice de mutagenicidade e índice de morte celular na amostra nas concentrações de 0,1 mg mL<sup>-1</sup> e 0,5 mg mL<sup>-1</sup>, já na concentração de 1,0 mg mL<sup>-1</sup> foi possível observar índice de mutagenicidade de 0,5 ± 0,1 % e índice de morte celular de 0,2 ± 0,1 %, contudo estes valores são bem reduzidos em relação ao controle positivo com  $p < 0,05$ .

A presença de micronúcleos nas células do *A. cepa* é consequente da separação irregular dos cromossomos na anáfase (Akinboro & Bakare, 2007). O índice de micronúcleos serve como uma boa referência para a presença de compostos químicos capazes de gerar danos genéticos devido a sua alta sensibilidade (Leme & Marin-Morales, 2009), sendo que a presença de micronúcleos em linfócitos do sangue periférico de seres humanos serve como indicativo de risco de câncer (Bonassi, et al., 2007).

Já a morte celular ocorre por danos no material genético, ocorrendo por consequência de anomalias promovidas por compostos tóxicos (Oliveira, Voltolini & Barbério, 2011). Em baixas concentrações a infusão das folhas de *C. sessiliflora* não apresenta morte celular e nem mutagenicidade no modelo de *A. cepa*.

O índice mitótico apresentou diferença significativa tanto em relação ao controle positivo quanto ao negativo ( $p < 0,05$ ) e também entre as concentrações das amostras ( $p < 0,05$ ), com redução do índice mitótico em relação a redução da concentração da infusão, mostrando relação entre a concentração do extrato e a redução na divisão celular (Tabela 1).

A redução do índice mitótico em relação ao controle negativo demonstra que o extrato possui efeito antiproliferativo, inibindo a divisão celular (Leme & Marin-Morales, 2009), corroborando o observado em relação a redução do índice de germinação e tamanho das raízes.

Este efeito pode ser decorrente da presença de flavonoides na amostra que possuem a capacidade de inibir a divisão celular sem gerar mutagenicidade, conforme foi observado nos extratos obtidos por infusão das folhas de *Luehea divaricata* (Frescura, Laughinghouse IV & Tedesco, 2012), nos extratos obtidos por a infusão das folhas de *Achyrocline satureioides* (Lam) DC (Fachinetto, et al., 2007) e nos extratos obtidos por infusão das folhas de *Pterocaulon polystachyum* (Knoll, et al., 2006). A ação antiproliferativa do extrato obtido por decoção da casca da fruta de *Punica granatum* foi associada a presença de compostos fenólicos (Kuhn, et al., 2015).

Outros extratos de folhas de plantas do gênero *Campomanesia* já foram submetidos ao teste em *A. cepa*, também apresentando atividade antiproliferativa, como a infusão das folhas de *C. xanthocarpa* (Pastori, et al., 2013) e extrato etanólico da folha de *C. pubescens* (Catelan, et al., 2018a).

Neste sentido, os resultados obtidos estão em concordância com os obtidos para outras espécies desse gênero e indicam resultados promissores contribuindo para a preservação destas plantas.



#### 4. Considerações Finais

Este estudo contribui trazendo informações de composição química e dos efeitos da infusão das folhas de *C. sessiliflor* em sementes de *A. cepa*, sendo que há poucas pesquisas sobre esta espécie na literatura e este estudo tem relevância ao demonstrar o potencial desta espécie nativa do cerrado, servindo como base para futuros estudos, ajudando assim a desenvolver novos produtos além de auxiliar na preservação da flora nativa.

O extrato apresentou concentração média de compostos fenólicos, além de apresentar flavonoides e taninos. Também apresentou ausência mutagenicidade e morte celular em concentração igual ou inferior a 0,5 mg mL<sup>-1</sup>, com a presença de efeito antiproliferativo dependente da concentração do extrato.

Todavia é relevante realizar estudos sobre a toxicidade desta espécie em vários modelos biológicos, averiguando como estes se comportam frente ao extrato. Também se faz necessário estudo cromatográfico para averiguar a composição química do extrato, assim como a identificação e isolamento dos compostos do extrato que apresentam atividade antiproliferativo para sua aplicação biotecnológica.

#### Agradecimentos

Ao suporte da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) (número de concessão 71/700.139/2018; 036/20108 e SIAFEM 028991) e Financiadora de Inovação e Pesquisas (FINEP). Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) código 001 para MSMS e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) para CALC (número de concessão 311975/2018-6) e pela bolsa de iniciação científica (CNPq-UEMS-PIBIC) para TLAC.

#### Referências

Akinboro, A & Bakare, A. A. (2007). Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 470-475.

Aslam, F., Khaliq, A., Matloob, A., Tanveer, A., Hussain, S. & Zahir, Z. A. (2017). Allelopathy in Agro-Ecosystems: A Critical Review of Wheat Allelopathy-Concepts and Implications. *Chemoecology*, 27, 1-24.



Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W. P., Holland, N., ... & Fenech, M. (2006). An Increased Micronucleus Frequency in Peripheral Blood Lymphocytes Predicts the Risk of Cancer in Humans. *Carcinogenesis*, 28(3), 625–631.

Catelan, T. B. S., Brum, C. S. C., Heredia-Vieira, S. C., Crispim, B. A., Grisolia, A. B., Santos, R. C. S. & Cardoso, C. A. L. (2018a). Cytotoxicity, Genotoxicity, Antioxidant Potential and Chemical Composition of Leaves of *Campomanesia pubescens* (Mart. ex DC.) O.Berg. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 19, 416-421.

Catelan, T. B. S., Radai, J. A. S., Leitão, M. M., Branquinho, L. S., Vasconcelos, C. P., Heredia-Vieira S. C., Kassuya, C. A. L. & Cardoso C. A. L. (2018b). Evaluation of the Toxicity and Anti-Inflammatory Activities of the Infusion of Leaves of *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. *Journal of Ethnopharmacology*, 226, 132–142.

Catelan, T. B. S., Gaiola L., Duarte, B. F. & Cardoso, C. A. L. (2018b). Evaluation of the in Vitro Photoprotective Potential of Ethanolic Extracts of Four Species of the Genus *Campomanesia*. *Journal of Photochemistry & Photobiology B: Biology*, 197, 111500.

Cunha, S. A. & Bortolotto, I. E. (2011). Etnobotânica de Plantas Medicinais no Assentamento Monjolinho, Município de Anastácio, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 25(3), 713-726.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N. (2006). Antioxidant Activity of Some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chemistry*, 97(1), 654–660.

Fechinetto, J.M., Bagatini, M. D., Durigon, J., Silva, A. C. F., Tedesco, S. B. (2007). Efeito Anti-Proliferativo das Infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) Sobre o Ciclo Celular de *Allium cepa*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(1), 49-54.

Francisco, L. F. V., Crispim, B. A., Vianna, L. F., Nascimento, H. S., Junior, J. L. R. & Grisolia, A. B. (2018). Cytotoxicity, Genotoxicity and Mutagenicity of Aluminum,

Manganese and Lead in Meristematic Cells of Root *Allium cepa*. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 10(1), 60-65.

Frescura, V. D.-S., Laughinghouse IV, H. D. & Tedesco, S. B. (2012). Antiproliferative Effect of the Tree and Medicinal Species *Luehea divaricata* on the *Allium Cepa* Cell Cycle. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 65(1), 27-33.

Gatti, A. B., Perez, S. C. J. G. A., Lima, M. I. S. (2004). Atividade alelopática de Extratos Aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na Germinação e no Crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Botanica Brasilica*, 18(3), 459-472.

Ibe, A. E., Onuoha, G. N., Adeyemi, A. A., Madukwe, D. K. & Udobi J. O. (2013). Quantitative Analyses of Honey Samples from Four Different Sources in Abia State, Nigeria. *International Journal of Natural and Applied Sciences*, 9(2), 107-116.

Kataoka, V. M. F. & Cardoso, C. A. L. (2013). Avaliação do Perfil Cromatográfico Obtidos por CLAE-DAD e da Atividade Antioxidante das Folhas de Espécies *Campomanesia Sessiliflora* (O. Berg) Mattos e *Campomanesia Xanthocarpa* O. Berg. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 15(1), 121-129.

Kunh, A. W., Tedesco, M., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Laughinghouse IV, H. D. & Tedesco, S. B. (2015). Chromatographic Analysis and Antiproliferative Potential of Aqueous Extracts of *Punica granatum* Fruit Peels Using the *Allium cepa* test. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(1), 241-248.

Knoll, M. F., Silva, A. C. F., Canto-Dorow, T. S. & Tedesco, S. B. (2007). Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on Onion (*Allium cepa*) Root-Tip Cells. *Berg. Genetics and Molecular Biology*, 29(3), 539-542.

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.

Madic, V., Jovanović, J., Stojilković, A., Jušković, M. & Vasiljević, P. (2017). Evaluation of Cytotoxicity of ‘Anti-Diabetic’ Herbal Preparation and Five Medicinal Plants: An *Allium cepa* Assay. *Biologica Nyssana*. 8(2), 151-158.

Oliveira, L. M., Voltolini, J. C. & Barbério, A. (2011). Potencial Mutagênico dos Poluentes na Água do Rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, Utilizando o Teste *Allium Cepa*. *Ambi-Agua*, 6(1), 90-103.

Pastori, T., Flores, F. C., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Silva, C. B., Canto-Dorow, T. S. & Tedesco, S. B. (2013). Genotoxic Effects of Campomanesia Xanthocarpa Extracts On *Allium Cepa* Vegetal System. *Pharmaceutical Biology*, 51(10), 1249-1255.

Schandry, N. & Becker, C. (2019). Allelopathic Plants: Models for Studying Plant–Interkingdom Interactions. *Trends in Plant Science*, 25(2), 176-185.

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Thiago Luis Aguayo de Castro – 30%

Lucilene Finoto Viana – 25%

Maria Socorro Mascarenhas Santos – 15%

Claudia Andrea Lima Cardoso – 30%