

## **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE, CITOTOXICIDADE, GENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE DO INFUSO DAS FOLHAS DE *Lippia sidoides* (VERBENACEAE)**

### **EVALUATION OF TOXICITY, CYTOTOXICITY, GENOTOXICITY AND MUTAGENICITY OF INFUSION OF LEAVES OF *Lippia sidoides* (VERBENACEAE)**

Antônio José de Miranda Dantas Terceiro<sup>1</sup>; Maria Auxiliadora Silva Oliveira<sup>2</sup>

#### **RESUMO**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, em torno de 60-80% da população global nos países subdesenvolvidos, possuem as plantas medicinais como alternativa para remediar seus males, devido às dificuldades socioeconômicas ou impossibilidade de acesso aos médicos e conseqüentemente aos medicamentos alopáticos. Este trabalho tem como objetivo analisar os possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do infuso das folhas da *Lippia sidoides* em diferentes concentrações sobre o ciclo celular da cebola (*Allium cepa*). Para a análise dos efeitos tóxicos foram medidos os comprimentos das raízes, já para a análise do efeito citotóxico, genotóxico e mutagênico, analisou-se a inibição do crescimento radicular, índice mitótico, presença de aberrações cromossômicas, e presença de micronúcleos. Após a análise foi constatado o efeito tóxico por meio da inibição do crescimento das raízes em todos os tratamentos. O efeito citotóxico foi constatado pela presença da diminuição da divisão celular e do índice mitótico por meio da análise em microscópio óptico após coloração e fixação do tecido. A genotoxicidade não foi confirmada e a mutagenicidade não foi observada. Dessa forma, através da análise dos resultados das diferentes concentrações de *Lippia sidoides* sobre o crescimento radicular da cebola do sistema vegetal *Allium cepa*, foi possível verificar a provável atividade tóxica, mas não se constatou atividade citotóxica, genotóxica e mutagênica da planta em estudo.

**Palavras-chave:** Verbenaceae. Citotoxicidade. Genotoxicidade. Testes de mutagenicidade.

1. Discente do curso de Medicina do Centro Universitário INTA – UNINTA. E-mail: ajterceiro1@gmail.com
2. Docente do curso de Medicina do Centro Universitário INTA – UNINTA. E-mail: myresearchbio@hotmail.com

#### **Correspondência**

Antônio José de Miranda Dantas Terceiro. - Rua Coronel Henrique Rodrigues, 135, Campo dos Velhos, Sobral-CE.

E mail: ajterceiro1@gmail.com

## ABSTRACT

According to the WHO, around 60-80% of the global population in underdeveloped countries, there are alternative medicinal plants to remedy their men's development due to socioeconomic difficulties and the impossibility of access to doctors and consequently to allopathic medicines. The objective of this work was to analyze the toxic, cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of *Lippia sidoides* leaf infusion in different phases on onion (*Allium cepa*) cell cycle. For the analysis of side effects, the roots, genotoxic and mutagenic analyzes were performed for tissue fixation, optical microscope effect analysis, and inhibition was analyzed. root growth, mitotic index, presence of chromosomal aberrations and presence of micronuclei. After an analysis of constellation to the treatment of inhibition of growth of roots in all the treatments. The cytotoxic effect was developed by the larger number of cells and the mitotic index. Genotoxicity was not confirmed and mutagenicity was not observed. Thus, by analyzing the results of lipoprotein combinations on onion root growth, the *Allium cepa* plant system was able to verify the sexual arousal activity and non-cytotoxic, genotoxic and mutagenic activity of the plant under study.

**Keywords:** Verbenaceae. Cytotoxicity. Genotoxicity. Mutagenicity Tests.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, apesar do uso de plantas medicinais ser bem difundido, existe uma preocupação sobre esta prática, pois mais estudos são necessários para elucidar os verdadeiros benefícios destas. Existem muitas drogas vegetais em nosso país que não possuem registros na literatura sobre seus metabólitos, propriedades químicas, farmacológicas e posologia que possam assegurar o uso pela população sem o risco de apresentar alguma reação indesejada<sup>1</sup>.

Diante disso, os estudos em que se avaliam a toxicidade e mutagenicidade de plantas medicinais são fundamentais pois colaboram para elucidação sobre seu uso, eficácia e complicações. Utiliza-se o teste vegetal em *Allium cepa* para aferir a proliferação das células o índice de replicação e mitótico como indicadores. Com isso, o teste vegetal é tido como um eficiente teste para análise, acompanhamento e monitoramento *in situ* de alterações genotóxicas de substâncias ambientais assim como a presença de aberrações. Estes monitoramentos por meio deste teste vegetal é validado por meio do Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, WHO) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP)<sup>2</sup>.

O sistema vegetal *Allium cepa*, tem sido utilizado com sucesso na obtenção de genotoxicidade dos extratos de várias plantas de uso medicinal. O teste com este sistema vegetal permite utilizar diferentes concentrações do extrato da planta em pesquisa, o que evidencia as alterações cromossômicas e as divisões das células meristemáticas das raízes da cebola. Isto é usado com bastante frequência com o objetivo de advertir a população sobre o consumo de determinado produto<sup>3</sup>.

O vegetal superior cebola ou *Allium cepa* (Liliaceae) é largamente utilizado por pesquisadores nos ensaios toxicológicos como um bioindicador, através da avaliação de padrões macroscópicos como alterações na cor, tamanho, formato radicular e deformidade. Avalia-se também parâmetros microscópicos como aberrações cromossômicas, pois é um teste barato, rápido, prático e com obtenção de resultados confiáveis<sup>4</sup>.

Dentro da família Verbenaceae o gênero *Lippia* possui aproximadamente cerca de 200 espécies de ervas e arbustos. Entre as espécies utilizadas para tais finalidades, destaca-se a *Lippia sidoides*, popularmente conhecida como alecrim-bravo, alecrim-pimenta, entre outros nomes populares. Suas folhas e flores possuem um importante papel medicinal e seu óleo possui alto valor comercial devido ao fato de conter timolol ou sua mistura e carvacrol que são dois terpenos fenólicos com fortíssima propriedade antimicrobiana e anti-séptica<sup>5,6</sup>.

Diante disso, não resta dúvida que elucidar a preparação de medicamentos fitoterápicos é de extrema importância para a sociedade brasileira visto que ainda é uma prática muito comum entre gerações a fabricação desses medicamentos. Considera-se também que se trata de uma preparação barata, acessível às populações mais carentes do nosso país. Porém, é importante realizar estudos para saber até que ponto tais concentrações são favoráveis para os devidos tratamentos de modo a não trazer risco para a saúde do usuário. Somente após esses estudos é que se torna possível assegurar que determinada planta possa ser utilizada para o tratamento das enfermidades sem causar risco à saúde, como por exemplo intoxicação, genotoxicidade, entre outras situações indesejadas.

Objetiva-se neste experimento avaliar os possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de diferentes concentrações do infuso de folhas de *Lippia sidoides* através do sistema vegetal *Allium cepa*.

## **METODOLOGIA**

As folhas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) foram coletadas do Horto de Plantas Medicinais no Centro de Saúde da Família do Sumaré, situado na Rua Maria Matão, s/n, no bairro Sumaré da cidade de Sobral, Ceará, Brasil. Os bulbos de *Allium cepa* foram obtidos em redes de supermercados da cidade, todos de mesma procedência, de aparência saudável e não germinadas. Foram utilizados bulbos com

pesos e tamanhos semelhantes. O extrato aquoso de *Lippia sidoides* foi preparado como infusão a partir de folhas frescas de acordo com a literatura<sup>5</sup>.

Foi preparado três tratamentos, sendo tratamento 1 (T1) baseado na dose usual, de 17 folhas para 240mL de chá, tratamento 2 (T2) sendo 26 folhas, tratamento 3 (T3) sendo 30 folhas, o controle negativo constituído por água mineral e o controle positivo por paracetamol na concentração de 2,5mg. A infusão resultante foi coada para obter uma infusão livre de impurezas. Os tratamentos assim como a água mineral e o paracetamol, foram trocados em dias alternados até o fim do experimento<sup>5</sup>.

Após o período de crescimento das raízes as mesmas foram retiradas para se fazer a medição do comprimento com auxílio de uma régua. Imediatamente após a coleta as raízes foram fixadas em solução fixadora de Carnoy (etanol 95% + ácido acético glacial na proporção de 3:1 v/v) e foram armazenadas em temperatura de 4°C para futuras análises. Na análise dos efeitos tóxicos foram medidos os comprimentos das raízes, somadas e feito as médias simples.

O material biológico então foi preparado em processo de inclusão em bloco de parafina<sup>7</sup>. Primeiro foi realizado desidratação do tecido em banhos com álcool 70%, 80%, 90% de uma hora e por último em dois banhos com o mesmo tempo de uma hora em álcool 100%. Após este banho, o material histológico foi retirado e colocado em dois banhos com duração de uma hora cada em xilol. Após o banho em xilol e com a parafina liquefeita, as raízes foram submergidas em parafina líquida durante o tempo de duas horas em banho de parafina e, após isso, as raízes foram retiradas por meio de uma pinça aquecida ao bico de Bunsen e encaminhada para a preparação do bloco.

Para a preparação do bloco, o material foi colocado em uma forma própria contendo uma fina lâmina de parafina, após alocação do material na forma, a mesma foi completada com parafina líquida até o completo preenchimento da forma. Em seguida, a forma contendo parafina líquida e o material foi colocada sob uma placa fria de modo a realizar a condensação do material, condensado, o material já em bloco de foi colocado em um micrótomo para realizar o corte e obter finas lâminas de 5µm do material. Após cortado foi colocado em água aquecida de modo a manter a integridade da fina lâmina de material e com o auxílio de uma pinça aquecida o material foi coletado e colocado sob a lâmina de vidro fosco.

Feito a colocação de todo material em todas as suas respectivas lâminas, foi realizado o processo de coloração em hematoxilina em que o material então em lâmina foi levado para três banhos em xilol 100% com duração de 5 minutos cada de modo a retirar a parafina em excesso. Após esta etapa, o material foi levado para três baterias de banho em álcool 100%, banho por um minuto de modo a realizar a coloração da lâmina em hematoxilina, em seguida foi lavado em água corrente de modo a retirar todo excesso de corante e por fim em banho de álcool 100% finalizando assim a coloração da lâmina. Após realização da coloração da lâmina, o material histológico em lâmina recebeu a lamínula com um fio de bálsamo e duas gotas de xilol e em seguida com cautela foi retirada as bolhas que foram formada ao adicionar a lamínula e o excesso de xilol e bálsamo foi retirado com auxílio de um papel toalha e o material foi colocado para secar e dessa forma, realizado a análise em microscópio óptico em aumento de 40X .

Para avaliação da citotoxicidade foi realizado por meio da avaliação das células do meristema das raízes em microscópio óptico de acordo com as fases do ciclo celular (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase) os resultados foram comutados em tabelas.

Já em relação ao efeito genotóxico e mutagênico, foram avaliados pela presença de aberrações presentes nas diferentes fases do ciclo celular.

Para realizar o comparativo entre os resultados de modo identificar a significância estatística os valores das médias foram feitos por meio do Teste de Tukey.

## **RESULTADOS**

A tabela 1 revela os resultados dos testes de toxicidade sobre *Allium cepa* quando tratado em diferentes concentrações do infuso de alecrim-pimenta.

**Tabela 1 - Valores das médias do crescimento radicular de *A. cepa* submetidas à diferentes in-fusões de *Lippia sidoides***

	TRATAMENTO				
	CN	T1	T2	T3	CP
<b>Comprimento radicular (cm)</b>	4,58a cm	0,38b cm	0,51b cm	0,21b cm	0,32b cm

CN: controle negativo (água mineral); T1: tratamento 1 (17 folhas); T2: tratamento 2 (25,5 de folhas); T3: tratamento 3 (29,75 folhas); CP: controle positivo (paracetamol 2,5mg). Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância pelo Teste de Tukey, não há diferença entre as médias.

As raízes de *Allium cepa* foram expostas as diferentes concentrações da infusão de *Lippia sidoides* e tiveram o desenvolvimento e/ou comprimento comparados aos controles negativo e positivo. A infusão apresentou toxicidade sobre o sistema vegetal *Allium cepa* em todos os tratamentos, pela inibição dos meristemas das raízes, além de apresentar uma coloração divergente das raízes do controle negativo, água mineral.

Ficou evidente a inibição do crescimento radicular da cebola, à medida que aumentava a concentração da infusão, como pode ser observado na tabela 1. Vale ressaltar que a média de T2 foi superior à média de T3, tal fato pode ser explicado pela infusão de T2, entretanto, mais estudos devem ser feitos para analisar tal ocorrido.

Os tratamentos e o controle positivo apresentaram diferenças estatísticas relevantes em comparação com o controle negativo. A toxicidade de *Lippia sidoides* sobre as raízes de *Allium cepa* foi notório neste trabalho.

Condizendo com os resultados, a atividade do extrato e as frações da planta fresca de *L. alba* em relação ao crescimento médio da radícula de cebola indicaram inibição no crescimento da radícula quando o extrato e todas as frações obtidas da planta fresca foram testados<sup>8</sup>. A melhor atividade foi obtida com 98,17% , 80,00% e 84,18% de inibição nas concentrações de 500, 250 e 125 µg/mL, respectivamente.

Na análise do óleo essencial obtido das folhas de *Vitex agnus castus* (VAC) (Verbenaceae) obtido no Nordeste Brasileiro, apresentou efeitos tóxicos, citotóxica e genotóxica nas concentrações de 50 e 25 µg.mL, usando como biomarcador o sistema

*Allium cepa*, assim, ratificando o resultado encontrado da ação anti-proliferativa da *Lippia sidoides*<sup>9</sup>.

Em análise de *Phyllanthus amarus*, outra planta medicinal em uso, constatou-se uma redução do crescimento quando comparado ao grupo controle, ratificando o presente estudo, sugerindo a toxicidade de uma planta natural quando feito o consumo em doses e formas diferentes daquelas recomendadas<sup>10</sup>.

A tabela 2 mostra o número total de células analisadas, assim como, de cada fase da mitose, avaliando, dessa forma, o efeito citotóxico sobre *Allium Cepa*.

<b>Tabela 2 - Número de células no ciclo celular (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase ) em meristemas de raízes A. cepa tratados com infuso de <i>Lippia sidoides</i></b>					
<b>TRATAMENTO</b>					
	CN	T1	T2	T3	CP
<b>Total de células</b>	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200
<b>Interfase</b>	1.116	1.125	1.152	1.188	1.079
<b>Prófase</b>	50	41	15	6	131
<b>Metáfase</b>	13	15	18	0	0
<b>Anáfase</b>	6	13	10	4	0
<b>Telófase</b>	15	6	5	2	0
<b>Total de mitose</b>	<b>84a</b>	<b>75a</b>	<b>48a</b>	<b>12a</b>	<b>131a</b>

De acordo com a Tabela 2, constatou-se uma diminuição no número de mitoses observadas nos tratamentos à medida que houve aumento na concentração das infusões do controle negativo ao tratamento 3, excetuando-se o controle positivo. Entretanto, na análise estatística de *Lippia sidoides* não é observado diferença significativa dos tratamentos do controle positivo com o controle negativo, com isso apesar de apresentar efeito tóxico no comprimento das raízes a infusão de *Lippia sidoides* não apresentou efeito citotóxico em nenhuma das concentrações.

O índice mitótico (IM), apresentado na tabela 3, diz respeito ao número de células em divisão e total de células observadas, em porcentagem. O índice mitótico não diferiu significativamente do controle negativo em água visto que foi encontrado um total de mitoses de 84a no controle negativo, 75a em T1, 48a em T2, 12a em T3 e 131a em CP, visto que, significativamente pertencem ao mesmo desvio padrão. Dessa forma, nenhum dos tratamentos apresentou diferença significativa.

Na análise de *Plectranthus barbatus*, outra planta medicinal em uso, observou-se que houve uma queda dos índices mitóticos para todos os tratamentos. Entretanto, em contrário ao estudo em questão, o estudo destes autores houve diferença estatística em comparação ao teste controle constatando que a planta medicinal possui capacidade antriproliferativa<sup>11</sup>.

**Tabela 3 - Valor do índice mitótico em meristemas de raízes de A. Ceba tratados com infuso de Lippia sidoides.**

TRATAMENTO					
	CN	T1	T2	T3	CP
<b>% Índice mitótico</b>	7a	6,25a	4a	1a	10,9a

CN: controle negativo (água mineral); T1: tratamento 1 (17 folhas); T2: tratamento 2 (25,5 de folhas); T3: tratamento 3 (29,75 folhas); CP: controle positivo (paracetamol 2,5mg). Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância pelo teste de Tukey, não há diferença entre as médias.

Em avaliação do potencial citotóxico e mutagênico de *Lippia alba* em sistema *Allium cepa* e constatou que para a concentração usual (T1-20g/L) o chá não apresentou efeito citotóxico em relação aos demais controles (CN e CP), mas para o dobro e o triplo da concentração usual (T2-40g/L e T3-60g/L), foi verificado efeito citotóxico apesar de que no presente estudo não foi constatado este efeito em nenhuma concentração. Já em relação à mutagênese, apesar de ter sido verificado a ocorrência de alterações cromossômicas, estas não possuem valores estatísticos significantes quando comparados com o Controle Negativo<sup>12</sup>.

Para *Plectranthus barbatus*, outra planta medicinal constatou-se uma diminuição das taxas de mitoses à medida que a concentração do chá (infusão) iria aumentando<sup>13</sup>.



A tabela 4 revela aberrações cromossômicas em meristemas das raízes de *Allium cepa* tratadas com infuso de *Lippia sidoides*.

Tabela 4 - Número de aberrações cromossômicas em meristemas de raízes de <i>A. cepa</i> tratadas com infuso de <i>Lippis sidoides</i> .					
TRATAMENTO					
Aberrações	CN	T1	T2	T3	CP
Micronúcleos	0	0	0	0	0
Célula binucleada	0	0	0	2	4
Total	0a	0a	0a	2a	4a

CN: controle negativo (água mineral); T1: tratamento 1 (17 folhas); T2: tratamento 2 (25,5 de folhas); T3: tratamento 3 (29,75 folhas); CP: controle positivo (parace- tamol 2,5mg). Letras iguais indicam que no nível de 5% significância pelo teste de Tukey, não há diferença entre.

De acordo com a tabela 4, o Controle Positivo foi o que apresentou a maior quantidade de células aberrantes, enquanto que os tratamentos CN, T1 e T2 não apresentaram valores, mas, sem diferença significativa, sendo encontrado apenas em T3. Dessa forma, os resultados apresentados sugerem que apesar de ter sido observado aberrações em T3 e CP não torna o extrato mutagênico.

Contrariando o estudo sobre citotogenotoxicidade de *Lippia* em modelos vegetais, em que se observou que todos os óleos investigados interferiram na dinâmica normal do ciclo celular (interferência sobre índices mitóticos ou índices de fases). Estes efeitos foram mais evidentes para o óleo extraído de *Lippia alba*. Do mesmo modo, a exposição aos óleos essenciais evidenciou o aumento nos percentuais de algumas alterações cromossômicas, como cromossomos aderentes, perda de cromossomos, pontes cromossômicas e segregação tardia. Dentre os resultados observados, o envolvimento de alterações aneugênicas parece ser o efeito mais evidente<sup>1</sup>.

Em avaliação de *Morinda citrifolia*, outra planta medicinal em uso, constatou-se que quanto maior a concentração do extrato maior foi o índice de aberrações, entretanto, em seu estudo apresentou-se uma média de aberrações cromossômicas

com relevância, demonstrando a ocorrência do efeito genotóxico, efeito este que não foi possível correlacionar neste presente estudo<sup>14</sup>.

## CONCLUSÃO

Através da análise dos resultados das diferentes concentrações de *Lippia sidoides* sobre o crescimento radicular da cebola do sistema vegetal *Allium cepa*, não demonstrou atividade antiproliferativa por serem estatisticamente indiferentes em seus resultados obtidos. Dessa forma, por ser uma planta medicinal, seu uso pode ser utilizado sem que apresente malefícios para as células, entretanto, mais estudos devem ser feitos para elucidar as informações.

Com isso, o estudo revelou que as plantas medicinais como a *Lippia sidoides* podem conter alterações cromossômicas como de acordo com a concentração, logo, deve ser consumida com cautela. O uso racional das drogas fitoterápicas é de grande importância e necessita ser elucidado mais para a população, além da necessidade de mais estudos a respeito do assunto que comprovem suas características farmacológicas.

## REFERÊNCIAS

1. Albertoni AL, Bomtempo MS, Bittencourt DM, Campos JM. Citogenoxidade de *Lippia* em modelos vegetais; 2014 [cited 2018 May 5]. Available from: <https://www.ufjf.br/semic/seminario/seminario-2014/resumos-por-area-2/ciencias-biologicas/>.
2. Cabrera GL, Rodriguez DM. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. *Mutat Res.* 1999; 426(2):211-214. doi:10.1016/s0027-5107(99)00070-6
3. Vicentini VE, Camparoto MI, Teixeira RO, Mantovani MS. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and animal test systems. *Acta Scientiarum* [Internet]. 2001 Jan 01 [cited 2018 May 5]:593-598. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/285706767\\_Averrhoa\\_carambola\\_L\\_Syzygium\\_cumini\\_L\\_Skeels\\_and\\_Cissus\\_sicyoides\\_L\\_Medicinal\\_herbal\\_tea\\_effects\\_on\\_vegetal\\_and\\_test\\_systems](https://www.researchgate.net/publication/285706767_Averrhoa_carambola_L_Syzygium_cumini_L_Skeels_and_Cissus_sicyoides_L_Medicinal_herbal_tea_effects_on_vegetal_and_test_systems)
4. Longhin SR. Estudo da degradação dos antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina e ampicilina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos [Internet]. Brasília; 2008 Jul 04 [cited 2018 May 5]. Available

from:

[https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/5154/1/2008\\_SandraRLonghin\\_completa.pdf](https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/5154/1/2008_SandraRLonghin_completa.pdf)

5. Matos FJ. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fito- terapia no nordeste do Brasil. Fortaleza: [publisher unknown]; 2007.
6. Matos FJ. Farmácias Vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequena comunidade. Fortaleza; 2002.
7. Caputo LF, Gitirana LB, Manso PP. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. Instituto Oswaldo Cruz: [publisher unknown]; 2009.
8. Oliveira GT, Amado PA, Ferreira JM, Lima LA. Allelopathic effect of the ethanol extract and fractions of the aerial parts of *Lippia alba* (Verbenaceae). *Natural Product Research*. 2018 Feb; 15:2402-2407.
9. Vasconcelos EF, Medeiros MG, Cavalcante AA, Citó AM, Figueiredo RC, Lopes JA, Pereira ST. Óleo Essencial de *Vitex Agnus Castus* L (Verbenaceae): Composição química, avaliação citotóxica, genotóxica e atividade antibacteriana. *Boletim Informativo Geum* [Internet]. 2014 Oct 01 [cited 2018 May 5]:68-75. Available from: <https://revistas.ufpi.br/index.php/geum/article/view/1908/2841>
10. Amorim AS, Frota RG, Carneiro JKR, Oliveira MAS. Avaliação citotóxica, genotóxica e mutagênica do infuso da espécie quebra-pedra (*Phyllanthus amarras* - Euphorbiaceae) em diferentes concentrações através do sistema *Allium cepa*. *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*. 2018 Oct; 11(3):150-161.
11. Bezerra CM, Oliveira MA. 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*. 2016 Dec 30:220-228.
12. Santos NR, Dantas SM. Avaliação do Potencial Citotóxico e mutagênico de infusões de erva cidreira (*Lippia alba*) em sistema de *Allium cepa*: Seminário de Iniciação Científica VII Seminário de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação. 2015 Nov. [cited 2018 Sep 5]. Available from: [http://sis.ufpi.br/24sic/documentos/resumos/modalidade/vida/Nathanyel\\_Raylson\\_Silva\\_Santos.pdf](http://sis.ufpi.br/24sic/documentos/resumos/modalidade/vida/Nathanyel_Raylson_Silva_Santos.pdf)
13. Frota RG, Amorim AS, Carneiro JKR, Oliveira MAS. Citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade da infusão de *Plectranthus barbatus* - Lamiaceae (malva-santa) avaliados pelo sistema teste *Allium Cepa*: : Cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity of the infusion of *Plectranthus barbatus* – Lamiaceae. *Revista de Ciência Médicas e Biológicas*. 2019 Jan 01 [cited 2018 May 5]:67-72. Available from:

[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiO-5PNsd3rAhVtHbkGHU7kAV8QFjAAegQIAhAB&url=https%3A%2F%2Fportalseer.ufba.br%2Findex.php%2Fcmbio%2Farticle%2Fdownload%2F27020%2F19151&usg=AOvVaw31\\_oFvneTSKCNoabh2thLe](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiO-5PNsd3rAhVtHbkGHU7kAV8QFjAAegQIAhAB&url=https%3A%2F%2Fportalseer.ufba.br%2Findex.php%2Fcmbio%2Farticle%2Fdownload%2F27020%2F19151&usg=AOvVaw31_oFvneTSKCNoabh2thLe)

14. Santos IM, et al. Avaliação citotóxica, genotóxica e mutagênica do extrato de Morinda citrifolia em diferentes concentrações sobre o teste Allium Cepa:: Cytotoxic, genotoxic and mutagenic evaluation of Morinda citrifolia extract indifferent concentrations about the test Allium Cepa. Revista de Ciência Médicas e Biológicas [Internet]. 2018 Apr 01 [cited 2018 Jan 25]:40-45. Available from: <https://portalseer.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/25309/16445>