

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TOXICA E CITOTÓXICA DE EXTRATOS DA
PLANTA *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry.**

**EVALUATION OF TOXIC AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS
Syzygium malaccense (L.) Merr. & Perry.**

Vinícius Marques de Freitas^{1*}, Wesley Pimenta Cândido², Camila Gomes de Oliveira Pires³, Bianca Raiany da Silva⁴, Stefany Santos⁵, Antônio Carlos Nogueira Neto⁶, Natália Faria Romão⁷, Natália Malavasi Vallejo⁸

¹ Centro Universitário Luterano de Ji-paraná – CEULJI, vinicius.m.freitas@hotmail.com

² Centro Universitário Luterano de Ji-paraná – CEULJI wesleyeletrotec17@gmail.com

³ Centro Universitário Luterano de Ji-paraná – CEULJI mila_oliveira97@hotmail.com

⁴ Centro Universitário Luterano de Ji-paraná – CEULJI raianybianka@gmail.com

⁵ Centro Universitário Luterano de Ji-paraná – CEULJI Steps.opo@gmail.com

⁶ Faculdade Panamericana de Ji-Paraná – UNIJIPA acnogueiran@gmail.com

⁷ Centro Universitário Luterano de Ji-paraná – CEULJI Nataliaromao2@gmail.com

⁸ Centro Universitário Luterano de Ji-paraná – CEULJI malavasinva@gmail.com

*Autor correspondente: vinicius.m.freitas@hotmail.com

RESUMO

No decorrer da história a utilização de produtos naturais para o tratamento de patologias se tornou um hábito, porém muitas plantas não possuem seus efeitos colaterais ou tóxicos descritos na literatura. A planta *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry, conhecido popularmente como jambeiro vermelho é amplamente utilizada pela população como diurético e no alívio de prurido, edemas e também no tratamento de inflamações. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito citotóxico dos extratos aquoso e etanólico de folhas secas da planta *Syzygium malaccense*. Os ensaios utilizados foram o teste de letalidade aguda em *Artemia salina* Leach permitindo que fosse definida concentração letal média e teste germinativo em bulbos de *Allium cepa* que permite avaliar a citotoxicidade, avaliando crescimento radicular. As folhas foram processadas para que o extrato aquoso e etanólico fossem preparados nas diferentes concentrações 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL. Os extratos aquoso e etanólico da planta *Syzygium malaccense* apresentaram baixa toxicidade frente à *Artemia salina* quando expostos 24 horas e toxicidade moderada quando expostos a 48 horas. Quando exposto a bulbos de *Allium cepa* o extrato etanólico apresentou diferença significativa em relação ao controle negativo nas concentrações de 1000, 500 e 250 µg/mL e no extrato aquoso todas as concentrações apresentaram diferença significativa de crescimento radicular, mostrando que extrato aquoso pode apresentar maior toxicidade. Porém, mais estudos e com diferentes parâmetros devem ser realizados, para afirmar a toxicidade uma vez que altas concentrações do *S. malaccense* apresentaram níveis de toxicidade.

Palavras-chave: Citotoxicidade. *Syzygium malaccense*. Plantas medicinais. *Allium cepa*. *Artemia salina*.

ABSTRACT

Throughout history, the use of natural products for the treatment of pathologies has become a habit, but many plants do not have their side effects or toxic described in the literature. The plant *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry, popularly known as jambeiro vermelho is widely used by the population as a diuretic and in relieving itching, edema and also in the treatment of inflammation. The present study aimed to evaluate the cytotoxic effect of aqueous and ethanolic extracts of dry leaves of the *Syzygium malaccense* plant. The tests used were the acute lethality test in *Artemia salina* Leach, allowing a mean lethal concentration and germination test to be defined in *Allium cepa* bulbs, which allows the evaluation of cytotoxicity by evaluating root growth. The leaves were processed so that the aqueous and ethanolic extract were prepared at the different concentrations 1000, 500, 250, 125 and 62.5 µg / ml. The aqueous and ethanolic extracts of the *Syzygium malaccense* plant presented low toxicity to *Artemia salina* when exposed to 24 hours and moderate toxicity when exposed to 48 hours. When exposed to *Allium cepa* bulbs, the ethanolic extract presented a significant difference in relation to the negative control at the concentrations of 1000, 500 and 250 µg / mL and in the aqueous extract all concentrations showed a significant difference of root growth, showing that the aqueous extract may present higher toxicity. However, further studies and with different parameters should be performed to affirm toxicity since high concentrations of *S. malaccense* presented levels of toxicity.

Keywords: Cytotoxicity. *Syzygium malaccense*. Medicinal plants. *Allium Cepa*. *Artemia Salina*.

1. INTRODUÇÃO

No decorrer da história a utilização de produtos naturais para o tratamento de patologias se tornou um hábito [1]. Sendo descrita há pelo menos 2800 a.C. até os dias atuais. Segundo a organização mundial das nações unidas cerca de 80% da população mundial utiliza produtos naturais para o tratamento de patologias e 65% da população de países em desenvolvimento possuem como única forma de acesso à saúde o uso de plantas medicinais [2,3]. As plantas medicinais geralmente são utilizadas para o tratamento de diversas enfermidades, como inflamações, tumores, ativação imunológica, infecções no ouvido, tosse, disenteria, vaginite, analgésico, diabetes, hipertensão, ansiedade e dentre outras [4,5].

A família Myrtaceae, possui cerca de 80 gêneros, com quase 3000 espécies tanto de árvores quanto arbustos, tendo como exemplo *Psidium guajava* L. (goiaba), *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (gabioba), *Plinia trunciflora* O. Berg Kausel (jaboticaba), *Eugenia jambolana* Lam (jambolão) e *Syzygium malaccense* (jambo vermelho), sendo o gênero *Syzygium* o maior da família, compreendendo quase 500 espécies, tendo aproximadamente 400 espalhadas pelo Brasil [6,7].

O *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry (*S. malaccense*), é uma árvore da família Myrtaceae popularmente denominado como jambeiro vermelho, tem origem na região da Ásia Meridional/Sudeste Asiático, encontrado no Brasil na região Norte, Nordeste e em regiões quentes do Sul e Sudeste. Podendo atingir até quinze metros de comprimento com tronco reto e grandes folhas, seus frutos são suculentos; de polpa esbranquiçada e casca avermelhada, lisa e cerosa; contendo uma única semente [6,8].

Diferentes partes do *S. malaccense* são utilizadas na medicina popular. Extratos de frutos, cascas, sementes, e folhas mostraram variações na atividade antimicrobiana, como os frutos sem sementes obtiveram efeito moderado contra a bactéria *Escherichia coli* e extratos de cascas e folhas demonstraram atividade contra *Shigella paradisi* [9]. Já as raízes são utilizadas como diurético e no alívio de prurido e edemas, enquanto as folhas são amplamente utilizadas no tratamento de inflamações [9] e diabetes [10]. A presença de terpenos, flavonoides, esteroides, açúcares redutores, proantocianidinas, ácido gálico e taninos hidrolisáveis nos extratos tanto de folhas, frutos, sementes e cascas confirmam a propriedade farmacêutica dos extratos [7].

A importância da utilização de vários tipos de extratos é justificada, devido a alteração na liberação de diferentes substâncias em diferentes extratos como foi descrito em extratos aquosos de folhas do *S. malaccense*, o qual é possível extrair flavonoides, açúcares redutores, proantocianidinas, taninos, monoterpenos e sesquiterpenos e nos extratos de etanólicos apresentam taninos, saponinas, alcaloides, flavonoides, triterpenóides e heterosídeos em geral [7, 8, 11]. A presença de alguns compostos naturais em extratos pode apresentar toxicidade ao usuário e ao meio ambiente. Estudos de toxicidade podem revelar o tempo e/ou a concentração em que o material em estudo é potencialmente prejudicial e/ou benéfico a saúde [12, 13]

Um dos testes empregados que permite avaliar o efeito tóxico é o ensaio com os microcrustáceos *Artemia salina*. Teste de fácil acesso e simples de realizar., onde organismo da *Artemia salina* é usado para monitorar a citotoxicidade por concentração letal média (CL50), sendo consideradas tóxicas ou ativas, substâncias que matarem 50% da população em uma concentração teste abaixo de 1000 µg/mL, podendo ser classificada como toxicidade baixa, média e alta [14, 15]. Além de ser utilizada para avaliar a presença de metais pesados, pesticidas e toxinas [6].

O teste com *Allium cepa* é muito difundido na pesquisa pela sua capacidade de avaliar a citotoxicidade e mutagenicidade/genotoxicidade de extratos de plantas e outras substâncias e principalmente por ser de fácil acesso [16]. O bulbo do vegetal é mantido em contato direto com a substância testada, permitindo que o crescimento germinativo e a morfologia celular sejam analisados [17, 18, 19, 20; 21]. O *Allium cepa* é uma espécie bioindicadora eficiente para monitorar a toxicidade por oferecer parâmetros macroscópicos durante o período germinativo do crescimento radicular, onde pode ser analisando a mudança de cor, formato, textura, espessura e comprimento das radículas [18, 22, 23].

O presente estudo teve como objetivo avaliar a citotoxicidade dos extratos aquoso e etanólico de folhas secas da planta *Syzygium malaccense* utilizando os organismos testes *Allium cepa* e *Artemia salina*

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. COLETA DAS PLANTAS E PREPARO DOS EXTRATOS

Em setembro de 2017 no município de Ji-Paraná, Rondônia, Brasil, Latitude 10°51'48.53"S e Longitude 61°57'36.53" foram coletadas a folhas das plantas utilizadas na pesquisa. O material

está registrado como o exemplar n° 251 no herbário Antônio Dalla Martha do Centro Universitário de Ji-Paraná.

As folhas foram lavadas, embaladas em sacos de papel e secas em estufa a 45 °C por 72 horas. Foram trituradas em moinho de facas modelo Wiley e acondicionadas em frascos de vidro estéreis, sem presença de luz e umidade [7].

Para a obtenção do extrato aquoso o procedimento com adaptação descrito por Di Giacomo et al. (2015) foi utilizado, a qual foi utilizado 250 g de folhas secas e trituradas com 1 L de água destilada e foi aquecido a 80 °C em banho maria por 1 hora [24].

O extrato etanólico foi preparado de acordo com o procedimento descrito por Lima (2006), com adaptações, sendo adicionado em um Erlenmeyer 250 g de folhas secas e trituradas e 1 L de etanol PA 95 %, armazenados por sete dias. [25]

Para a obter os extratos bruto, tanto o etanólico quanto o aquoso, os extratos foram filtrados em filtro de papel e evaporados em recipientes de vidro a 45 °C por 72 horas. Os extratos foram devidamente armazenados a 4 °C até a realização dos experimentos. Todos os procedimentos de manuseio dos extratos foram realizados em ausência de luz para evitar a degradação de compostos fotossensíveis [24, 25].

2.2. BIOENSAIO DE LETALIDADE EM *ARTEMIA SALINA*

O teste de toxicidade utilizando *Artemia salina* utilizado foi descrito por Meyer et al. (1982) com adaptações. Os ovos dos microcrustáceos foram inseridos em uma solução de sal marinho na concentração de 35 g.L⁻¹ (pH 8,0 – 9,0) e foram mantidos submersos durante o período de 48 horas em temperatura de 25°C com constante aeração utilizando uma bomba de ar para aquário Sarlo S300 127V.

Seguindo a metodologia de Meyer et al. (1982) a concentração inicial recomendada é de 1000 µg/mL, tendo em vista que concentrações maiores são consideradas inativas biologicamente. Sendo assim, foram utilizadas as concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5 em triplicata. Preparados através de diluição seriada em razão de dois [15].

Em tubos de ensaio com 2 mL de solução salina a 2% de DMSO e 3mL diluição dos respectivos extratos foram acrescentados 10 nauplios de *A. salina*. Como controle negativo (CN) foi utilizado solução salina a 2% de DMSO e como controle positivo (CP) dicromato de potássio a 0,1% [26]

Para obtenção dos resultados, foram contabilizados os animais imóveis no tempo de 24 e 48 horas de imersão nos extratos com as diferentes concentrações. Os cálculos de porcentagem seguiram a descrição de Cândido et al. (2017) representados na figura 1. [27]

$$\%Mortalidade = \frac{(\text{Teste} - \text{Média de mortos do CN}) \times 100}{\text{Media de mortos do CP}}$$

Figura 1. Fórmula para cálculo de % Mortalidade descrita por Candido et. al. 2017.

Fonte: Arquivo Pessoal

A concentração letal média (CL50) foi calculada com base na equação da reta obtida pela regressão linear, considerando a correlação do logaritmo das concentrações e a porcentagem de mortalidade. Ao valor de y (ordenadas) foi atribuído a metade das mortes máximas possíveis (n/2), ao resultado de x obtido (abscissas), onde foi aplicado o antilogaritmo, resultando no valor final da CL50 [28, 29].

2.3. ANÁLISE DE CITOTOXICIDADE EM *ALLIUM CEPA*

Nos testes de citotoxicidade de *Allium cepa* foi utilizado o procedimento descrito por Cuchiara (2012) com adaptações, tendo sido escolhidas cebolas pequenas, uniformes, saudáveis e não estando germinadas. Para eliminação de substâncias que pudessem afetar o crescimento das raízes, as cebolas foram expostas por duas horas em água [16].

As concentrações utilizadas foram as mesmas utilizadas nos testes da *A. salina*, tendo a primeira diluição 1000 µg para cada mL de água, com 0,5% de DMSO. Sendo diluídos em razão de 2 até a concentração de 62,5 µg/mL. Como controle negativo foi utilizada água destilada e controle positivo sulfato de cobre na concentração de 0,0006 mg/L [30, 31].

Para cada concentração utilizou-se 7 unidades de cebola, sendo colocadas para germinar com os bulbos em contato com os extratos nas respectivas concentrações, durante um período de 72 horas a temperatura de 25°C. Posteriormente os meristemas foram cortados na base do bulbo com auxílio de um bisturi e medidos utilizando uma régua milimetrada.

As análises dos resultados foram realizadas pelo software Graphpad Prism 5.01 por meio da análise de variância ANOVA, seguida do Teste de Tukey considerando os resultados significativos para p<0,05.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os resultados do teste de toxicidade aguda com o extrato aquoso e do extrato etanólico das folhas de *S. malaccense* nos tempos de exposição de 24 e 48 h. Pode-se observar que a concentração de 1000 µg/mL causou a morte de todos os indivíduos já nas primeiras 24 h no extrato aquoso, enquanto que utilizando o extrato etanólico obteve 83,3% de morte. A concentração de 500 µg/mL de ambos extratos registrou mais de 50% de mortes após 48 h de exposição, 53,3% e 70%, respectivamente. Nenhuma outra concentração atingiu 50% de mortalidade. A concentração letal calculada no extrato aquoso em 24 horas foi de 537 µg/mL, e em 48 horas a CL50 foi de 309 µg/mL, demonstrando que o extrato aquoso é tóxico, uma vez que se enquadrou nos parâmetros descritos por Meyer e colaboradores (1982), que descreve a toxicidade positiva quando a CL50 se encontra abaixo de 1000 µg/mL. Para o extrato etanólico foi calculada em 24 horas uma CL50 de 562,34 µg/mL, e em 48 horas foi de 204,17 µg/mL é toxico [15].

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade de *A. salina* utilizando diferentes concentrações do extrato aquoso de *S. malaccense* em 24 e 48 horas de exposição. Os resultados foram obtidos em regressão linear.

CONCENTRAÇÕES DOS EXTRATOS (µg/mL)	24 HORAS		48 HORAS		
	MÉDIA	MORTOS (%)	MÉDIA	MORTOS (%)	
AQUOSO	1000	10 ± 0,00	100	10 ± 0,00	100
	500	1,67 ± 0,57	16,6	5,33 ± 1,53	53,3
	250	1 ± 0,00	10	4 ± 1,00	40
	125	0,67 ± 0,58	6,6	1,67 ± 1,15	13,3
	62,5	0 ± 0,00	0	1 ± 0,00	10
ETANÓLICO	1000	8,33 ± 2,00	83,3	10 ± 0,00	100
	500	3 ± 1,00	30,0	7 ± 1,73	70
	250	1,67 ± 0,58	16,6	4,33 ± 1,15	43,3
	125	1 ± 0,00	10,0	3,67 ± 1,15	36,6
	62,5	0 ± 0,00	0	2,67 ± 0,58	26,6

Segundo Nguta e colaboradores (2012) os ensaios com *A. Salina* são classificados seguindo os seguintes parâmetros: CL50 menor que 100 µg/mL alta atividade toxicológica, entre 100 e 500 µg/mL moderada atividade toxicológica, 500 a 1000 µg/mL fraca atividade toxicológica e acima de 1000 µg/mL não tóxicos. Os extratos aquoso e etanólico das folhas secas de *S. malaccense* apresentaram baixa toxicidade contra *A. salina* em 24 horas de exposição. Quando a exposição foi pelo período de 48 horas, os extratos foram caracterizados como toxicidade moderada [32].

A figura 2 demonstra o crescimento radicular em *Allium cepa* após ser exposto aos extratos aquoso (figura 2A) e extrato etanólico (Figura 2B). Utilizando o extrato aquoso pode-se observar uma diferença entre as médias de crescimento radicular nas concentrações de 250, 500 e 1000 µg/mL, variando de 0,6 a 0,3 cm, em relação ao crescimento nas concentrações de 62,5 e 125 µg/mL, 1,55 e 1,48 cm, respectivamente. Porém, de acordo com a análise estatística não existe diferença significativa entre os resultados obtidos nas 5 concentrações testadas e quando comparados com o controle negativo, todas as concentrações obtiveram diferença significativa ($p < 0,0001$).

Nos resultados utilizando o extrato etanólico (figura 2B) observa-se que as concentrações de 1000, 500 e 250 µg/mL, apresentou crescimento radicular médio variando de 0,33 a 0,98 cm, obtendo diferença significativa quando comparados com o controle negativo, que teve média de crescimento radicular de aproximadamente $1,90 \pm 0,18$ cm, demonstrando que as altas concentrações apresentam inibição no crescimento radicular. As concentrações de, 125 e 62,5 µg/mL obtiveram crescimento radicular médio de 1,89 e 1,94 cm, respectivamente, não havendo diferença significativa em relação ao CN.

Os resultados apresentados demonstram que tanto no extrato aquoso quanto no etanólico as concentrações de 1000 µg/mL e 500 µg/mL não apresentaram diferença em relação ao controle positivo, as demais concentrações apresentaram diferença altamente significativa ($p < 0,0001$).

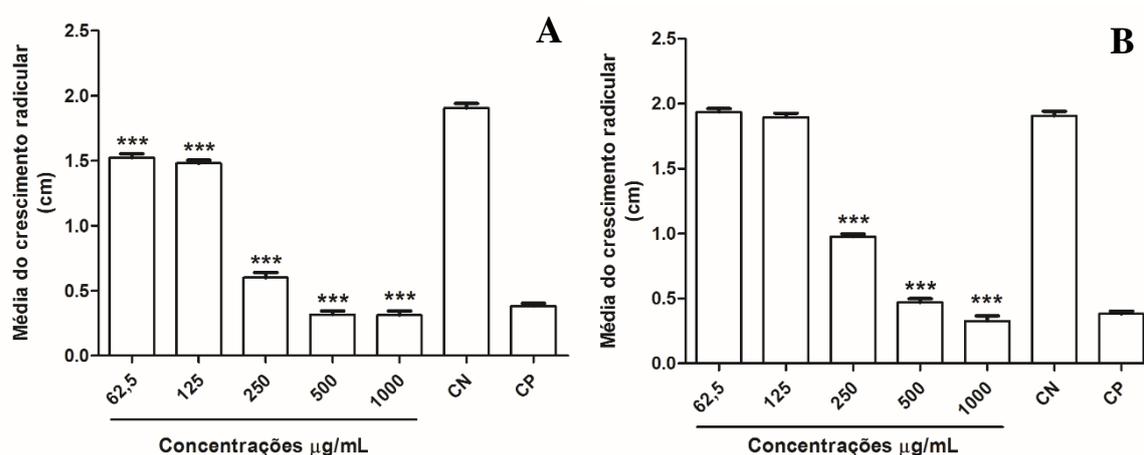


Figura 2. Média de crescimento radicular de *A. cepa* em exposição ao extrato aquoso(A) e extrato etanólico (B) das folhas de *S. malaccense*. *** $p < 0,0001$ pelo método de Tukey (One Way ANOVA).

Fonte: Arquivo pessoal

A diferença de toxicidade entre os extratos frente a *Artemia Salina* e *Allium cepa* existe, uma vez que o extrato etanólico possui polaridade diferente do extrato aquoso, possuindo uma

cadeia apolar e outra polar, permitindo que substâncias hidrofóbicas como os terpenos sejam extraídos com maior eficiência no extrato etanólico e substâncias com baixas polaridades sejam extraídas com mais eficiência no extrato aquoso, justificando o maior índice de toxicidade do extrato etanólico frente aos nauplios e do extrato aquoso frente aos meristemas das cebolas [33, 34, 35, 36]. A presença de óleos essenciais na planta é indicativa de potentes compostos citotóxicos como a classe dos terpenos, que interagem com membranas celular, o que provoca despolarização e permeabilização, diminuindo a atividade enzimática associada à membrana [34, 35].

Souza (2016), no ensaio com *A. salina* em extratos aquoso e etanólicos com as folhas do *S. malaccense* constatou a ausência de toxicidade em 6 e 24 horas, o que não é demonstrado nesse estudo, esse fato pode ocorrer pelo polimorfismo de algumas substâncias em razão de fatores ambientais, tais como temperatura, umidade, duração e intensidade das radiações solares; fatores edáficos e variabilidade genética (ROSA et al., 2016). A pesquisa de Souza foi realizada no município da Bahia, região com temperatura média de 27,8 °C e umidade de 81%, já em Ji-paraná município local onde o presente estudo foi realizado apresenta uma temperatura média de 24,5 °C e uma umidade de 88 %. O presente estudo em sua metodologia utilizou como temperatura ambiente 25 °C, já Souza apresentou a temperatura de 30 °C, podendo ter interferido na toxicidade [34, 37, 38].

Os resultados apresentados no presente trabalho demonstraram uma diminuição no crescimento radicular com o aumento da concentração dos extratos, tendo ainda o extrato aquoso um índice de toxicidade mais elevado uma vez que todas as concentrações apresentou diferença altamente significativa em relação ao controle negativo.

A toxicidade frente aos testes de *Allium cepa* pode ser correlacionada ao efeito alelopático de substâncias encontradas nas folhas do *S. malaccense*, como flavonoides, terpenos e óleos essenciais. Uma vez que compostos químicos que muitas vezes apresentam efeitos genotóxicos e mutagênicos podem apresentar efeitos alelopáticos [39]. O efeito alelopático é descrito pela capacidade de uma planta liberar substâncias obtendo efeito de sobre a outra planta, que seja estimulante ou inibidora, por meio da produção de compostos químicos, podendo alterar a germinação, desenvolvimento e/ou crescimento [36]. Plantas, com efeito, antiproliferativo podem ser utilizadas como medicamento contra células cancerígenas, bem como, serem adotadas como herbicidas naturais para o controle do crescimento de plantas invasoras, podendo substituir herbicidas sintéticos [6, 40].

As plantas produzem uma variedade de metabólitos secundários relacionados ao desenvolvimento e à proteção contra predadores, patógenos e competição com outras plantas. Esses compostos são responsáveis por atividades biológicas diversas e pode representar importantes recursos terapêuticos e herbicidas naturais [28].

CONCLUSÃO

Os extratos provenientes de folhas secas do *S. malaccense* apresentaram toxicidade frente à *A. salina* e em raízes de *Allium cepa* caracterizando um efeito dose-dependente. Os resultados apresentados neste estudo sugerem a necessidade da realização de mais estudos verificando as propriedades mutagênicas /genotóxicas e alelopática, permitindo a contribuição para o desenvolvimento de medicamentos contra diversas patologias. Além de obter uma concentração segura para a população que faz uso da planta.

REFERÊNCIAS

- [1] LINHARES, Jairo Fernando Pereira et al. Etnobotânica das principais plantas medicinais comercializadas em feiras e mercados de São Luís, Estado do Maranhão, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 39-46, 2014. Acesso em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232014000300005. Disponível em: 07. Nov. 2018
- [2] CZELUSNIAK, K. E. et al. Farmacobotânica, Fitoquímica E Farmacologia DO Guaco: Revisão Considerando Mikania Glomerata Sprengel e Mikania Laevigata Schulyz Bip. ex Baker. **Rev. Bras. Pl. Med, Botucatu**, v. 14, n. 2, p.400-409, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v14n2/22.pdf> Acesso em: 07. Nov.2018
- [3] JUNIOR, Valdir F. Veiga; PINTO, Ângelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422005000300026. Acesso em 07. Nov. 2018.
- [4] YEN, Chia-hung et al. High-Content Screening of a Taiwanese Indigenous Plant Extract Library Identifies Syzygium simile leaf Extract as an Inhibitor of Fatty Acid Uptake. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 19, n. 7, p.2130-2145, 22 jul. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19072130>.
- [5] ALMEIDA, MZ. **Plantas Mediciniais** [online]. 3rd ed. Salvador: EDUFBA, 2011, 221 p. ISBN 978-85-232-1216-2. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>. Acessado em: 21 nov. 2018

- [6] GIBBERT, Luciana; BERTIN, Renata; KRUGER, Claudia Hecke. BREVE REVISÃO DA ESPÉCIE *Syzygium malaccense* (L.) MERR. & L.M. PERRY COMO FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS. **Visão Acadêmica**, [s.l.], v. 18, n. 4, p.140-152, 16 fev. 2018. Universidade Federal do Parana. <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v18i4.54968..>
- [7] DE MELO, René Rodrigues. PERFIL FITOQUIMICO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E BIOCAMPATIBILIDADE DE *Syzygium malaccense* (L.) Merr & L. Perry (Myrtaceae). 2009. 57 f. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/3276/1/arquivo2157_1.pdf. Acesso em: 07. Nov. 2018.
- [8] DE ALMEIDA, Eduardo José et al. Propagação de jameiro vermelho (*Syzygium malaccense* L.) por estaquia de ramos herbáceos. **Bioscience Journal**, v. 24, n. 1, 2008. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/viewFile/6680/4400>. Acesso em: 07. Nov. 2018
- [9] SAVITHA, Rabeque C et al. Invitro Antioxidant Activities on Leaf Extracts of *Syzygium Malaccense* (L.) Merr & Perry. **Ancient Science of Life**, v. 30, n. 4, p. 110-113, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22557439>. Acesso em: 07. Nov. 2018
- [10] ARUMUGAM, Bavani et al. Antioxidant and antiglycemic potentials of a standardized extract of *Syzygium malaccense*. **Lwt - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 59, n. 2, p.707-712, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.041>.
- [11] CARTAXO-FURTADO, N.a.d.e.o. et al. Perfil Fitoquímico e Determinação da Atividade Antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (myrtaceae) Frente a Microrganismos Bucais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 17, n. 43, p.1091-1096, 2015. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/14_153.
- [12] ANDRADE, Dayanne Regina Mendes et al. Avaliação Toxicológica Em *Artemia Salina* de Suspensão de Nanofibrilas de Celulose a Partir do Resíduo da Pupunha. Embrapa Instrumentação, São Carlos, v. 0, n. 0, p.554-556, jun. 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/961256/avaliacao-toxicologica-em-artemia-salina-de-suspensao-de-nanofibrilas-de-celulose-a-partir-do-residuo-da-pupunha>. Acesso em 07. Nov. 2018
- [13] RODRIGUEZ, Armando Garcia et al. Bioensaio Com *Artemia salina* Para Detecção de Toxinas em Alimentos Vegetais. **Estudos**, Goiania, v. 36, n. 5/6, p.795-808, 2009. Disponível em: <http://revistas.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/viewFile/1130/789>. Acesso em: 07. Nov. 2018.
- [14] MERINO, F.j.z. et al. Análise Fitoquímica, Potencial Antioxidante e Toxicidade do Extrato Bruto Etanólico e das Frações da Espécie *Seneciowestermaniidusén* Frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 17, n. 43, p.1031-1040, 2015. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/14_137.

- [15] MEYER, B. N. et al. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta médica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17396775>. Acesso em: 07. Nov. 2018
- [16] CUCHIARA, C. C. Sistema teste de Allium cepa como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. *Tecnol. CiênAgropec.* João Pessoa, v. 6, n. 1, p. 33-38, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/292131315_Sistema_teste_de_Allium_cepa_como_bioindicador_da_citogenotoxicidade_de_cursos_d'agua. Acesso em: 07. Nov. 2018
- [17] ALMEIDA, P. M. et al. Genotoxic potential of leaf extracts of *Jatropha gossypifolia* L. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 15, n. 1, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26909961>. Acesso em 04. Nov. 2018
- [18] BAGATINI, Margarete Dulce; SILVA, Antonio Carlos Ferreira da; TEDESCO, Solange Bosio. Uso do sistema teste de Allium cepa como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 17, n. 3, p. 444-447, Sept. 2007. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000300019&lng=en&nrm=iso>. acesso em 04 nov. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300019>.
- [19] LUZ, A.C. et al. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste in vivo. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 635-642, 2012. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722012000400010&lng=en&nrm=iso>. acesso em 04 nov. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722012000400010>.
- [20] NEVES, ERASMOVLANE SB et al. Ação de extratos aquosos de folhas de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) em células - raiz meristemáticas de *Allium cepa* L. **An. Acad. Bras. Ciênc.** Rio de Janeiro, v. 86, n. 3, p. 1131-1137, setembro de 2014. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652014000301131&lng=en&nrm=iso>. acesso em 04 nov. 2018. Epub 04 de agosto de 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201420130170>
- [21] RIBEIRO, T. P. et al. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Hancorniaspeciosa* latex in *Allium cepa* root model. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 1, p. 245-249, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842016000100245. Acessado em: 07 nov. 2018
- [22] ANDRADE, B. R. G. Estudo do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico em células de *Allium cepa* da parationa metilica antes e após aplicação dos processos UV e UV/H2O2. 2012. 194f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://epqb.eq.ufrj.br/download/celulas-de-allium-cepa-da-parationa-metilica.pdf>. Acessado em: 07 nov. 2018
- [23] DUARTE, M.N.; et al..Avaliação da qualidade ambiental através do teste da cebola (*Allium cepa* L.) expostadiretamente em leito de riosurbanos. **Revista Teccen.**, v.07, n. 1 e 2, 2014. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/307804132_Avaliacao_da_qualidade_ambiental_atraves_do_teste_da_cebola_Allium_cepa_L_Exposta_diretamente_em_leito_de_rios_urbanos.
Acessado em: 07 nov. 2018

[24] DI GIACOMO, C. et al. Effects of Tithoniadiversifolia (Hemsl.) A. Gray extraction adipocyte differentiation of human mesenchymal stem cells. **PloSone**, v. 10, n. 4, p. e0122320, 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article/figure?id=10.1371/journal.pone.0122320.t001>.
Acessado em: 07 nov. 2018

[25] LIMA, D. K. S. Atividade Inseticida e Fungicida do Extrato Etanólico de Pachira aquática Aubl sobre Hypothenemusshampei (FERRARI) e Fusarium sp. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) – Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR, Porto Velho, 2006. Disponível em: <http://hdl.handle.net/123456789/515>; Acesso em: 3 mai. 2017.

[26] LHULLIER, Cintia; HORTA, Paulo Antunes; falkenberg, Miriam. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para Artemia salina. **RevBrasFarmacogn**, v. 16, p. 158-163, 2006.

[27] CANDIDO, W. P. et al. Análise físico-química, microbiológica e ecotoxicológica da água do rio Machado no município de Ji-Paraná, Rondônia, Brasil. **SOUTH AMERICAN Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v.4, n.2, (supl. 2), p. 138-148, 2017 Disponível em: <http://www.ulbra.br/upload/64b205bbf71c09edb1a071f27fb994da.pdf>.
Acessado em: 07 nov. 2018

[28] BARCELOS, I. B. et al. Análise fitoquímica e das atividades citotóxica, antioxidante, e antibacteriana das flores de Tabebuia serratifolia (Vahl) Nicholson. **Revista Fitos**, v. 11, n. 1, p. 1-118, 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/21115>. Acessado em: 07 nov. 2018

[29] RAJEH, M. A. B. et al. Acute Toxicity Impacts Of Euphorbia hirta L extraction behavior, organs body weight index and histopathology of organs of the mice and Artemia salina. **PharmacognosyResearch**, v.4, n.3, p.170-177, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22923956> Acessado em: 07 nov. 2018

[30] MENEGUETTI D.U.O., et al. Adaptation of the technical micronucleus in Allium cepa, to future analysis of mutagenicity og the rivers of the vale do Jamari- Rondônia, Brasil. **Congresso Brasileiro da Sociedade Brasileira de Mutagênese Carcinogênese e Teratogênese Ambiental**, São Paulo, Brasil. 2011. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/258848649_Adaptation_of_the_Micronucleus_Technique_in_Allium_Cepa_For_Mutagenicity_Analysis_of_the_Jamari_River_Valley_Western_Amazon_Brazil. Acesso em: 07 nov. 2018.

[31] BRAGA, Jacqueline Ramos Machado; LOPES, Diêgo Menezes. Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes, Bahia, Brasil) usando Allium cepa L. como bioindicador. **Rev. Ambient. Água, Taubaté**, v. 10, n. 1, p. 130-140, mar. 2015. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-

993X2015000100130&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em 21 nov. 2018.
<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1459>.

[32] NGUTA, J. M. et al. Evaluation of Acute Toxicity of Crude Plant Extracts from Kenyan Biodiversity using Brine Shrimp, *Artemia salina* L. (Artemiidae). **The Open Conference Proceedings Journal**, v. 3, p. 30-34, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/268367078_Evaluation_of_Acute_Toxicity_of_Crude_Plant_Extracts_from_Kenyan_Biodiversity_using_Brine_Shrimp_Artemia_salina_L_Artemiidae. Acesso em: 07 nov. 2018.

[33] GALVÃO Rainiellen Dias. et al. Atividade acaricida do extrato aquoso etanólico de derrisfloribundabenth (fabaceae) sobre tetranychusdesertorumbanks (acari: tetranychidae) em folhas de pimentão (capsicumannum l.). **XXJornada de Iniciação Científica PIBIC INPA - CNPQ/FAPEAM**. Disponível em: <http://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/123/234/1/Rainiellen%20Dias%20Galvao.pdf> Acesso em: 07 nov. 2018.

[34] SOUZA, Zulane Lima. Atividade Biologica de Extratos e Freções das Folhas de *Persea americana* e *Syzygium malaccense*. 2016. 138 f. Tese (Doutorado) -Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciencias da Suade, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Salvador, 2016. Disponível em: <http://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/123/234/1/Rainiellen%20Dias%20Galvao.pdf>. Acessado em: 07 nov. 2018

[35] CLEMENTINO, Cássia de Oliveira, et al., ESTUDO DE TOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS FOLHAS **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG** (CEPE) (ISSN 2447-8687). 2016. f. 10. Disponível em: <http://www.anais.ueg.br/index.php/cepe/article/view/6785/4431>. Acessado em: 07 nov. 2018

[36] DE ALMEIDA, Thiago Castro. Formulação de um Herbicida Biológico produzido Através da fermentação Submersa em Biorreator. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos), - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014. f. 91. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/7996/ALMEIDA%2C%20THIAGO%20CASTRO%20DE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 07 nov. 2018

[37] ROSA, C.s. et al. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrciasylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 18, n. 1, p.19-26, mar. 2016. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/15_006. Acessado em: 07 nov. 2018

[38] CLIMATE-DATA.ORG. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/>>. Acesso em: 23 nov. 2018.

[39] NUNES, A.P.M. & ARAUJO, A.C. Ausência de genotoxicidade deesteviosídeo em *E. coli*. In: **Semana de Iniciaçãocientífica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro**, 10, 2003, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro, 2003. p.15. Disponível em: http://www.unemat.br/eventos/jornada2009/resumos_conic/Expandido_00469.pdf. Acessado em: 07 nov. 2018

[40] FERREIRA, M. D. L. Terpenos: Potenciais Agentes Quimioterapêuticos Obtidos de Fontes Naturais Usados Contra O Câncer De Pulmão. Monografia (Graduação) - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 2014 Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/608/1/MDLF22072014.pdf>. Acessado em: 07 nov. 2018