

Potencial tóxico, citotóxico e genotóxico de *Copaifera langsdorffii* Desf. Nativa da Amazônia Mato-Grossense

A Floresta Amazônica abriga a maior biodiversidade do planeta e possui em sua flora diversas plantas com potencial medicinal, entre elas a *Copaifera langsdorffii* Desf., utilizada para tratamento de diversas enfermidades como asma, amigdalites e eczemas. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial tóxico, citotóxico e genotóxico de *Copaifera langsdorffii* por meio do teste *Allium cepa*. Os experimentos da casca do caule e das folhas de *C. langsdorffii* foram conduzidos separadamente, para cada um, os bulbos foram organizados em um esquema fatorial (2 x 5 + 2), sendo dois extratos (infuso e decocto), cinco concentrações: 0,002; 0,004; 0,008; 0,016 e 0,032 mg mL⁻¹, e dois controles: água destilada e glifosato (480g/L) a 1%. Foram avaliados o crescimento do sistema radicular (CSR), o índice mitótico (IM), e a frequência de alterações cromossômicas e anormalidades na divisão celular. As maiores reduções de CSR foram encontradas no extrato decocto da casca do caule, na concentração de 0,016 mg mL⁻¹, e os menores valores de IM foram observados na concentração 0,032mg mL⁻¹ em ambos os extratos da casca do caule. A concentração usualmente utilizada apresentou aberrações em todos os extratos aquosos avaliados. A redução do CSR e IM e a presença de aberrações no organismo teste, evidenciaram o potencial tóxico, citotóxico e genotóxico de *Copaifera langsdorffii*.

Palavras-chave: *Allium cepa*; Copaíba; Planta medicinal.

Toxic, cytotoxic and genotoxic potential of *Copaifera langsdorffii* Desf. Native of Amazonia Mato-Grossense

The Amazon rainforest harbor the greatest biodiversity on the planet, and has in its flora, several species with medicinal potential, among them *Copaifera langsdorffii* Desf., used to treat various diseases such as antiasthma, tonsillitis and eczema. The aim of this study was to evaluate the toxic, cytotoxic and genotoxic potential of *Copaifera langsdorffii* using *Allium cepa* test. The bulbs were organized in a factorial scheme (2 x 5 + 2), with two extracts (infused and decocted), obtained from stem bark and leaves of *Copaifera langsdorffii*, five concentrations: 0.002; 0.004; 0.008; 0.016 and 0.032 mg mL⁻¹, and two controls distilled water and glyphosate at 1%. It was evaluated the growth of the root system (CSR), the mitotic index (MI), and frequency so chromosomal changes and abnormalities on cell cycle phases. The greatest reductions in CSR were found in the decocted extract of the stem bark, at the concentration of 0.016 mg mL⁻¹, and the lowest values of MI were observed at the concentration 0.032mg mL⁻¹ in both stem bark extracts. The concentration usually used in folk medicine showed aberrations in all evaluated aqueous extracts. The reduction of CSR and IM and the presence of aberrations in the tested organism, showed the toxic, cytotoxic and genotoxic potential of *Copaifera langsdorffii*.

Keywords: *Allium cepa*; Copaíba; Mitotic Index.

Topic: **Uso de Recursos Naturais**

Received: **19/12/2021**

Approved: **20/02/2022**

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

Daniele Paula Maltezo 
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/8318635224639433>
<http://orcid.org/0000-0003-1712-7713>
danielemaltezo@gmail.com

Elisa dos Santos Cardoso 
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/7863449442902495>
<http://orcid.org/0000-0001-9477-1743>
elisabyo@gmail.com

Julliane Dutra Medeiros 
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6907463977413574>
<http://orcid.org/0000-0002-1049-9410>
jdutramedeiros@gmail.com

Larissa Lemes dos Santos 
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/3290894770347067>
<http://orcid.org/0000-0001-7610-6694>
larissalemes_97@outlook.com

Edimilson Leonardo Ferreira 
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2332703216323078>
<http://orcid.org/0000-0001-5398-4347>
edimilson.ferreira@unemat.br

Letícia de Souza Pogalsky 
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5191376524882795>
<http://orcid.org/0000-0002-8925-2081>
leticia.pogalsky@unemat.br

Ana Aparecida Bandini Rossi 
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2734433144153549>
<http://orcid.org/0000-0002-8318-5375>
anabanrossi@unemat.br



DOI: 10.6008/CBPC2318-2881.2022.001.0010

Referencing this:

MALTEZO, D. P.; CARDOSO, E. S.; MEDEIROS, J. D.; SANTOS, L. L.; FERREIRA, E. L.; POGALSKY, L. S.; ROSSI, A. A. B.. Potencial tóxico, citotóxico e genotóxico de *Copaifera langsdorffii* Desf. Nativa da Amazônia Mato-Grossense. *Nature and Conservation*, v.15, n.1, p.108-118, 2022. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2318-2881.2022.001.0010>

INTRODUÇÃO

A floresta Amazônica abriga a maior biodiversidade do planeta, é responsável por fixar 1,5 bilhões de toneladas de carbono anualmente e desempenha função fundamental na regulação do clima regional e global (BOUBLI et al., 2012). Sua flora apresenta potencial altamente relevante, com diversas plantas produtoras de látex, gorduras e resinas, além de potencial medicinal (COSTA et al., 2018). A tradição de uso de plantas medicinais na Amazônia se baseia em conhecimento e saberes oriundos de diferentes culturas (SANTOS, 2000), sendo a *Copaifera langsdorffii* uma das espécies utilizadas regionalmente como fitoterápica.

A *Copaifera langsdorffii* é uma espécie amplamente distribuída no Brasil (CARVALHO, 1994; AZEVEDO et al., 2004), sendo conhecida também como pau-d'óleo, podói, cupaúba, cupiúva (LISBOA et al., 2018) e copaíba. A espécie é explorada tanto para extração do óleo, quanto para produção de mel e reflorestamentos (CARVALHO, 1994). Messias et al. (2015) apontaram o uso da casca do caule como antiasmático, para amigdalite e uso tópico para eczemas, enquanto Brancalion et al. (2012) sugeriram que suas folhas possuem potencial para tratar urolitíase.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), nos países em desenvolvimento cerca de 85% da população utiliza plantas medicinais para os cuidados básicos com a saúde (BRASIL, 2006). Contudo, é importante ressaltar que as plantas produzem diversos metabólitos secundários, relacionados ao seu desenvolvimento e proteção (FREITAS et al., 2019), que podem causar, em seres humanos, reações adversas como alergias, distúrbios cardiovasculares, respiratórios, metabólicos, gastrintestinais, neurológicos e, em alguns casos, o óbito (VASCONCELOS et al., 2009; CAMPOS et al., 2016).

Estudos já evidenciaram a presença de terpenos, ácidos fenólicos e glicosídeos flavonoides (FRANCO et al., 2016), além de taninos, alcaloides e flavonoides na casca da *C. langsdorffii* (LISBOA et al., 2018). Dentre os efeitos tóxicos causados em humanos pelos metabólitos secundários produzidas pelas plantas estão a toxicidade, a citotoxicidade e a genotoxicidade que, inclusive, já foram avaliados com outras espécies arbóreas como: *Syzygium malaccense* (FREITAS et al., 2019), *Ginkgo biloba* L. (GUEDES et al., 2018) e *Hancornia speciosa* (RIBEIRO, 2016). No entanto, para a *C. langsdorffii* estudos relacionados ao seu potencial tóxico foram realizados a partir de seu óleo (LOURENÇO et al., 2009), do extrato aquoso obtido por meio do pó da casca (SENIGALIA et al., 2020) e do extrato etanólico obtido por meio de folhas e casca (AZEVEDO et al., 2019), não tendo sido realizada, até então, a avaliação com extratos aquosos obtidos por meio de infusão e decocção.

A avaliação da toxicidade é realizada pela redução ou crescimento excessivo do sistema radicular, enquanto a citotoxicidade e genotoxicidade são avaliadas, respectivamente, pelo índice mitótico e presença de alterações cromossômicas e/ou anormalidades na divisão celular (ALMEIDA et al., 2019). Essas avaliações podem ser realizadas pelo teste *Allium cepa* L., sendo esta espécie um bioindicador de possíveis efeitos de produtos químicos, extratos de plantas e misturas complexas sobre a atividade celular (HISTER et al., 2017).

O teste *A. cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente bioteste (MOROSINI, 2008; PORTIS et al.,

2016). A eficiência do sistema *A. cepa* se deve às suas características cinéticas de proliferação, além de apresentar baixo custo, fácil manipulação, cromossomos em boas condições para estudo de danos ou distúrbios na divisão celular (BELCAVELLO et al., 2012).

Considerando a ausência de estudos com extratos aquosos de *Copaifera langsdorffii*, avaliamos diferentes concentrações de infuso e decocto da casca do caule e das folhas de *C. langsdorffii* sobre o ciclo celular de *Allium cepa*, objetivando detectar a presença de efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo dos extratos

Para a realização do experimento foram coletadas casca do caule e folhas de indivíduos adultos de *C. langsdorffii*, sendo os extratos aquosos obtidos por meio de infusão (EAI) e decoção (EAD). As concentrações dos extratos aquosos foram definidas a partir da dosagem usual utilizada na medicina popular (0,008 mg mL⁻¹), sendo definidas cinco concentrações: 0,002 mg mL⁻¹; 0,004 mg mL⁻¹; 0,008 mg mL⁻¹; 0,016 mg mL⁻¹ e 0,032 mg mL⁻¹.

Inicialmente foi obtida a maior concentração, e por meio de sua diluição, as demais. O extrato aquoso do tipo infuso foi obtido por meio do aquecimento da água até o ponto de fervura, sendo a mesma vertida sobre o material vegetal (casca ou folhas). O recipiente foi fechado e deixado em repouso por 10 minutos e, logo após, filtrado e diluído. Para o extrato aquoso do tipo decocto o material vegetal (casca do caule ou folhas) foi colocado em um recipiente juntamente com a água e levado ao fogo por cinco minutos, após o início da fervura. Ao atingir a temperatura ambiente, o extrato foi filtrado e diluído.

Teste *Allium cepa* L.

O teste *A. cepa* foi realizado de acordo com a metodologia de Fiskesjö (1985), com alterações propostas por Babich et al. (1997). Para o teste, utilizou-se o tratamento descontínuo, sendo os bulbos previamente colocados em água destilada para emissão de raízes e após 48h transferidos para os extratos aquosos a serem testados. A água destilada, considerada como concentração 0 mg mL⁻¹, foi utilizada como controle negativo (CN) e o herbicida glifosato (480g/L), diluído a 1%, como controle positivo (CP), devido a comprovada ação citotóxica sobre o organismo teste (MERCADO et al., 2020).

Os experimentos da casca do caule e das folhas foram conduzidos separadamente, em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os bulbos organizados em um esquema fatorial (2 x 5 + 2), sendo dois tipos de extrato (EAI, EAD), cinco concentrações e dois tratamentos controle (CN e CP), com 10 repetições para cada concentração de cada extrato e controle, totalizando 120 bulbos para cada experimento.

Após a instalação dos experimentos, os bulbos foram mantidos em câmara de germinação do tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), onde permaneceram em temperatura controlada (25 °C ± 2) e na ausência de luz por 48 horas, conforme metodologia proposta por Babich et al. (1997).

Avaliação do potencial tóxico, citotóxico e genotóxico

Para avaliação do potencial tóxico foram mensuradas ao acaso, e com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo, duas raízes de cada bulbo, totalizando 20 raízes de cada concentração dos EAI e EAD de cada parte vegetal (casca e folhas), assim como do CN e do CP. O potencial citotóxico foi obtido por meio do índice mitótico (IM) das células meristemáticas de *A. ceapa*, obtido pela equação proposta por Pires et al. (2001) (1):

$$IM = \frac{\text{n}^\circ \text{ de células em mitose}}{\text{n}^\circ \text{ total de células observadas}} \times 100 \quad (1)$$

E o potencial genotóxico foi estimado pela frequência de anomalias no ciclo mitótico, como anáfase com ruptura cromossômica, anáfase com ponte, telófase com ponte, metáfase irregular e metáfase poliploide, de acordo a equação a seguir:

$$f_{(a)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de células com alterações cromossômicas}}{\text{n}^\circ \text{ de células em divisão}}$$

Fixação e preparo de lâminas

As raízes foram coletadas aleatoriamente de todos os bulbos expostos aos extratos aquosos, bem como aos controles negativo e positivo, e fixadas em solução fixadora (3:1, etanol: ácido acético) por 24 horas em temperatura ambiente, sendo então transferidas para etanol 70% e mantidas sob refrigeração (± 4 °C) até o uso.

Para o preparo das lâminas foi utilizada a metodologia proposta por Souza et al. (2005). Foram preparadas dez lâminas por concentração de cada um dos extratos aquosos avaliados, assim como dos controles negativo e positivo, totalizando 2.500 células para cada tratamento. As lâminas foram observadas em microscópio óptico, em magnitude de 400x, pelo método de varredura, sendo registrado, para cada lâmina, o número de células em interfase e em cada fase da mitose (prófase, metáfase, anáfase, telófase), bem como as alterações em cada uma delas, quando presentes.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste para verificação da normalidade lilliefors e homocedasticidade, posteriormente transformados em Arco Seno $\sqrt{x/100}$, onde x representa o percentual de células em mitose (VASCONCELOS et al., 2012) para calcular o IM, e em logaritmo natural para cálculos referentes ao CSR. Foi realizada à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com ajuste em regressão de acordo com o maior R^2 . As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Genes® (CRUZ, 2016).

RESULTADOS

Efeito tóxico dos extratos aquosos de *Copaifera langsdorffii*

Os extratos aquosos da casca do caule e das folhas, quando comparados ao controle negativo, inibiram o CSR dos bulbos de *A. ceapa* de acordo com o aumento das concentrações. Sendo que na ANOVA

houve interação entre concentração e tipo de extrato dentro de cada parte da planta, não havendo significância nem interação quando comparado entre os extratos homônimos de cada parte da planta.

Ao comparar o CSR dos bulbos de *A. cepa* no EAI e EAD para as diferentes partes da planta (Tabela 1), vemos que os extratos diferiram entre si em todas as concentrações, sendo observada também a diferença entre concentrações de mesma fonte. Nos extratos da casca do caule, houve uma maior redução do CSR, sendo as menores médias registradas em ambos os extratos na concentração 0,016 (mg mL⁻¹), demonstrando uma redução de 51,9% e 58,9%, no EAI e EAD respectivamente, em relação ao CSR do controle negativo, enquanto para os extratos das folhas, a concentração 0,032 (mg mL⁻¹) apresentou as menores médias. A média do CSR do CP para as folhas foi de 16,19 mm, enquanto para a casca do caule foi 6,88 mm, representando respectivamente uma diferença de 22,43% e 9,71%, quando comparados ao menor CSR encontrado na mesma parte da planta.

Tabela 1: Crescimento do sistema radicular (CSR) dos bulbos de *Allium cepa* expostos aos extratos aquosos do tipo infuso e decocto da casca do caule e das folhas de *Copaifera langsdorffii*.

CSR (mm)				
Concentração	Caule	Folha	Caule	Folha
	Infuso		Decocto	
0,000 mg mL ⁻¹	18,58aB	33,76abA	18,58aB	33,76aA
0,002 mg mL ⁻¹	13,02bcB	37,20aA	16,39abB	33,00aA
0,004 mg mL ⁻¹	13,29abB	34,45abA	12,16bcB	32,41aA
0,008 mg mL ⁻¹	10,17bcB	29,60abA	8,75cdB	27,45abA
0,016 mg mL ⁻¹	8,93cB	26,92abA	7,62dB	23,63abA
0,032 mg mL ⁻¹	9,58bcB	23,92bA	10,20bcdB	20,87bA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas indicam não haver diferença estatística dentro do tipo de extrato para ambas as fontes, enquanto as letras maiúsculas iguais indicam não haver diferença entre os extratos dentro da mesma fonte. Não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Efeito citotóxico dos extratos aquosos de *Copaifera langsdorffii*

A análise de variância para o índice mitótico (IM) das células meristemáticas de *A. cepa* expostas aos extratos aquosos da casca do caule revelou que tanto extratos quanto concentrações foram significativos na divisão celular, bem como a existência de interação entre extrato e concentração (Tabela 2).

Tabela 2: Análise de variância (ANOVA) para o índice mitótico das células meristemáticas de *Allium cepa* expostas aos extratos aquosos (infuso e decocto) da casca do caule de *Copaifera langsdorffii*.

Fonte de Variação	GL	QM
Extratos	1	1,0891**
Concentrações	5	0,3269*
Extratos x Concentrações	5	0,0444**
Resíduo	108	0,0074
CV (%)		20,46
Média geral		0,4202

Nota: dados transformados em arco seno. *Significativo a 5%, e ** a 1% de probabilidade pelo teste F. GL (Grau de Liberdade); QM (Quadrado Médio); CV (Coeficiente de Variação).

As médias do IM das células meristemáticas de *A. cepa*, observadas nas diferentes concentrações do EAI e EAD da casca do caule, diferiram entre o tipo de extrato aquoso e dentro dos extratos (Figura 1). Em ambos os extratos a maior concentração (0,032 mg mL⁻¹), apresentou a menor média de IM.

A análise de variância do índice mitótico das células meristemáticas de *A. cepa* submetidas a diferentes concentrações do EAI e EAD das folhas (Tabela 3), mostrou que foi significativa a ação das

concentrações e os extratos no IM, porém não houve interação entre extratos e concentrações.

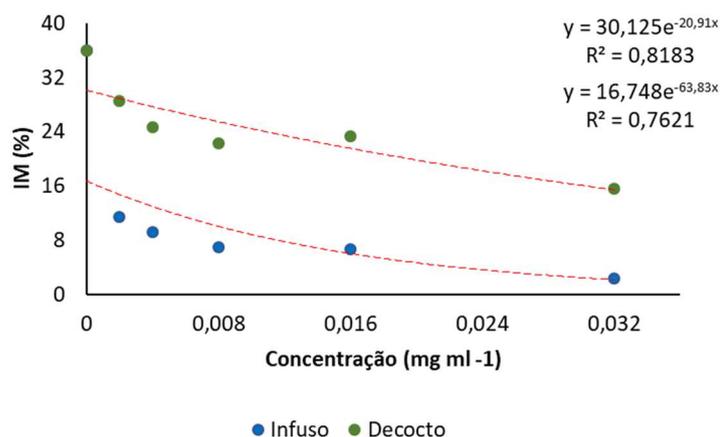


Figura 1: Índice mitótico (IM) das células meristemáticas de *Allium cepa* expostas aos extratos aquosos, infuso e decocto, obtidos da casca do caule de *Copaifera langsdorffii*.

Tabela 3: Análise de Variância (ANOVA) para o índice mitótico das células meristemáticas de *Allium cepa* expostas aos extratos aquosos (infuso e decocto) das folhas de *Copaifera langsdorffii*.

Fonte de Variação	GL	QM
Extratos	1	0.07409*
Concentrações	5	0.05185*
Extratos x Concentrações	5	0.00527 ^{ns}
Resíduo	108	0.00379

Nota: dados transformados em arco seno. ^{ns} não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. GL (Grau de Liberdade); QM (Quadrado Médio); CV (Coeficiente de Variação).

O número de células meristemáticas de *A. cepa* em interfase variou entre 1.787 (0,002 mg mL⁻¹) e 2.111 (0,032 mg mL⁻¹) no EAD, e 2.214 (0,002 mg mL⁻¹) e 2.440 (0,032 mg mL⁻¹) no EAI da casca do caule, enquanto para as folhas variou entre 2.331 (0,004 mg mL⁻¹) e 2.452 (0,032 mg mL⁻¹) no EAD, e 2.256 (0,002 mg mL⁻¹) e 2.390 (0,032 mg mL⁻¹) no EAI (Tabela 4).

O EAD das folhas apresentou a maior redução de divisão celular. Nas células que apresentavam divisão, a fase prófase foi observada com maior frequência em relação as demais, e a anáfase foi a menos observada. O número de células em divisão reduziu em todas as concentrações, em relação ao CN do respectivo extrato, com exceção da concentração 0,002 mg mL⁻¹ do EAI das folhas. Para casca do caule todas as concentrações do EAI e a concentração 0,032 mg mL⁻¹ do EAD apresentaram IM menor que o CP.

Tabela 4: Número de células meristemáticas de *Allium cepa*, submetidas a diferentes concentrações e extratos da casca do caule e folhas de *Copaifera langsdorffii*, e aos controles: negativo (CN) e positivo (CP), em diferentes etapas do ciclo celular.

Concentração (mg mL ⁻¹)	Casca do caule					
	Infuso					
	Interfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)
0,002	2214	208	21	23	34	11,44
0,004	2270	128	26	18	58	9,20
0,008	2326	121	11	10	32	6,96
0,016	2333	113	19	7	28	6,68
0,032	2440	34	5	8	13	2,40
CN	1601	812	33	20	34	35,96
CP	2080	404	7	5	4	16,80
Concentração (mg mL ⁻¹)	Decocto					
	Interfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)
0,002	1787	642	17	21	33	28,52
0,004	1884	565	7	19	25	24,64

0,008	1944	514	7	15	20	22,24
0,016	1915	524	17	18	26	23,40
0,032	2111	380	4	3	2	15,56
CN	1601	812	33	20	34	35,96
CP	2080	404	7	5	4	16,80
Concentração (mg mL⁻¹)	Folhas					
	Infuso					
	Interfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)
0,002	2256	144	24	19	57	9,76
0,004	2310	119	18	13	40	7,60
0,008	2325	97	22	14	42	7,00
0,016	2332	96	20	12	40	6,72
0,032	2390	77	12	4	17	4,40
CN	2257	169	24	11	39	9,72
CP	2465	24	4	2	5	1,40
Concentração (mg mL⁻¹)	Decocto					
	Interfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)
0,002	2349	100	13	15	23	6,04
0,004	2331	99	20	8	42	6,76
0,008	2391	63	17	12	17	4,36
0,016	2404	63	11	2	20	3,84
0,032	2452	45	1	0	2	1,92
CN	2257	169	24	11	39	9,72
CP	2465	24	4	2	5	1,40

IM: índice mitótico.

A análise de variância do índice mitótico das células meristemáticas de *A. cepa* submetidas a diferentes concentrações do EAI e EAD das folhas (Tabela 5) mostrou que os extratos e as concentrações tiveram efeito significativo sobre o IM de *A. cepa*, porém não houve interação entre extratos e concentrações.

Tabela 5: Análise de Variância (ANOVA) para o Índice mitótico das células meristemáticas de *Allium cepa* expostas aos extratos aquosos (infuso e decocto) das folhas de *Copaifera langsdorffii*.

Fonte de Variação	GL	QM
Extratos	1	0,07409*
Concentrações	5	0,05185*
Extratos x Concentrações	5	0,00527 ^{ns}
Resíduo	108	0,00379

^{ns} não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. GL (Grau de Liberdade); QM (Quadrado Médio).

Quando avaliamos a média do IM das células meristemáticas de *A. cepa* observamos que o EAD das folhas apresentou a maior redução, ficando com média do IM de 5,44%. Com exceção da concentração 0,002 mg mL⁻¹ do EAI, todas as demais concentrações dos extratos obtidos por meio das folhas reduziram o IM das células meristemáticas de *A. cepa*.

Quando comparamos o EAI da casca do caule e das folhas de *C. langsdorffii* não observamos diferenças significativas entre ambos, apenas entre as concentrações dos extratos aquosos das folhas com o CN. As médias do IM das células meristemáticas de *A. cepa* submetidas ao EAD da casca do caule (25,05%) e das folhas (5,44%) de *C. langsdorffii* diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Efeito genotóxico dos extratos aquosos de *Copaifera langsdorffii*

As concentrações 0,002 mg mL⁻¹ do EAI da casca do caule, e 0,004 mg mL⁻¹ do EAD das folhas apresentaram respectivamente, 4,19% e 3,55% de aberrações celulares, próximo ao percentual do controle

positivo das folhas (5,71%) (Tabela 6). Podemos observar que houve presença de aberrações na concentração usual para todos os extratos, sendo que o EAI da casca do caule apresentou a maior porcentagem de aberrações, e o EAI das folhas não apresentou aberrações em três das concentrações avaliadas.

Tabela 6: Partes da planta, extratos, concentrações, número de células observadas, número de células em divisão, número de aberrações celulares e frequência de aberrações celulares observados nas células meristemáticas de *Allium cepa*, submetidas aos extratos aquosos da casca do caule e das folhas de *Copaifera langsdorffii*.

Parte da Planta	Extrato	Concentração (mg mL ⁻¹)	Nº de Células observadas	Nº de células em divisão	Total de células com aberrações	Aberrações celulares (%)	
Casca	EAI	0,002	2.500	286	12	4,19	
		0,004	2.500	230	2	0,86	
		0,008	2.500	174	5	2,87	
		0,016	2.500	167	1	0,60	
		0,032	2.500	60	2	3,33	
	EAD	0,002	2.500	713	2	0,28	
		0,004	2.500	616	5	0,81	
		0,008	2.500	556	2	0,36	
		0,016	2.500	585	4	0,68	
		0,032	2.500	389	1	0,26	
	CN	2.500	898	0	-		
	CP	2.500	420	2	0,47		
	Folhas	EAI	0,002	2.500	244	1	0,41
			0,004	2.500	190	0	-
0,008			2.500	175	3	1,71	
0,016			2.500	168	0	-	
0,032			2.500	110	0	-	
EAD		0,002	2.500	151	1	0,66	
		0,004	2.500	169	3	3,55	
		0,008	2.500	102	1	1,96	
		0,016	2.500	96	3	3,12	
		0,032	2.500	48	0	-	
CN		2.500	243	0	-		
CP		2.500	35	2	5,71		

CN - Controle negativo (água destilada); CP - Controle positivo (glifosato à 1%); EAI – Extrato aquoso infuso; EAD – Extrato aquoso decocto.

A maior parte das aberrações foi encontrada durante a anáfase, sendo a anáfase com ponte a mais frequente. Na figura 2, podemos ver as aberrações celulares encontradas: anáfase com ruptura cromossômica, anáfase com ponte, metáfase irregular e telófase com ponte.

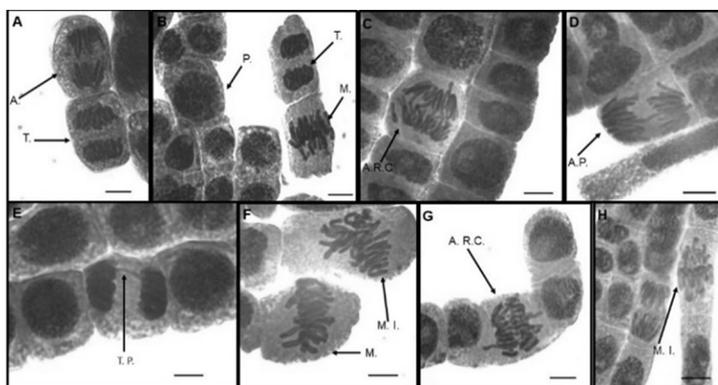


Figura 2: Fases do ciclo celular observadas em células do meristema radicular de *Allium cepa* em diferentes concentrações de extratos aquosos de *Copaifera langsdorffii*. Anáfase e telófase (A), Prófase, telófase e metáfase (B), Anáfase com ruptura cromossômica (C), Anáfase com ponte (D), Telófase com ponte (E), Metáfase e metáfase irregular (F), Anáfase com ruptura cromossômica (G) e Metáfase irregular (H). P = prófase; M = metáfase; M.I. = metáfase irregular; M.P. = metáfase poliploide; A = anáfase; A.P. = anáfase com ponte; A.R.C. = anáfase com ruptura cromossômica; T = telófase e T.P. = telófase com ponte; Barra = 10 μ m.

DISCUSSÃO

A relação entre redução do CSR e aumento das concentrações também foi observada por Bezerra et al. (2016) ao avaliarem a ação dos extratos de *Plectranthus barbatus* sobre o ciclo celular de *A. cepa*. O tipo de extrato utilizado (aquoso) pode ser a causa da maior toxicidade sobre os organismos testes, como concluíram Freitas et al. (2019) ao avaliara a toxicidade e citotoxicidade de diferentes extratos das folhas de *Syzygium malaccense* sobre *Allium cepa*.

Em ambos os extratos da casca do caule a maior concentração apresentou a menor média de IM, o que também foi observado por Reis et al. (2020) ao avaliar diferentes concentrações de *Stryphnodendron adstringens* sobre o ciclo celular de *A. cepa*, e o índice mitótico reduziu de acordo com o aumento da concentração para todos os extratos, assim como observado por Bezerra et al. (2016), indicando que o aumento do potencial citotóxico está relacionado com o aumento da concentração, enfatizando a necessidade de cautela quanto a preparação dos extratos.

Considerando extratos obtidos de ambas as fontes de material vegetal (casca do caule e folha), o número de células em divisão reduziu em todos as concentrações em relação ao CN do respectivo extrato, sendo a maior redução observada nas células meristemáticas dos extratos da casca do caule. Por se tratar da parte da planta cujo acesso é mais fácil em relação as folhas, é necessário destacar a importância de estudos envolvendo testes *in vitro*, para avaliar seus possíveis efeitos sobre organismos animais.

Quando avaliamos a média do IM das células meristemáticas de *A. cepa*, observamos que o EAD apresentou a maior redução em relação ao EAI, assim como observaram Cardoso et al. (2019) ao avaliar diferentes tipos de extrato de *Zingiber officinale Roscoe* sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. Oliveira et al. (2016) avaliando diferentes técnicas de extração com a espécie *Dicksonia sellowiana*, destacaram a decocção como a técnica que apresentou maior eficiência na extração de teores totais e antioxidante, o que sugere relação entre o método de extração e os resultados obtidos neste estudo.

O IM das células meristemáticas de *A. cepa* submetidas as concentrações do EAI da casca do caule abaixo do IM do CP, juntamente com o maior percentual de aberrações encontradas, evidenciam os efeitos citotóxico e genotóxico deste extrato sobre a *A. cepa*, sendo este potencialmente prejudicial à saúde humana e animal.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados, torna-se evidente o potencial tóxico, citotóxico e genotóxico dos extratos aquosos de *Copaifera langsdorffii* sobre o organismo teste. Para o CSR, independente da parte da planta utilizada, o EAD foi mais tóxico que o EAI, enquanto os maiores efeitos citotóxicos e genotóxicos foram observados no EAI da casca do caule da *C. langsdorffii*. O extrato que promoveu menor alteração nos valores de CSR e IM, bem como menor presença de alterações na divisão celular foi o EAI das folhas.

Os resultados obtidos neste estudo, indicam que possivelmente o EAI das folhas traria, embora o acesso a essa parte da planta seja mais difícil, menor prejuízo a saúde. Contudo, é importante ressaltar a

importância de estudos que permitam avaliar seus efeitos sobre organismos animais, de forma a minimizar os prejuízos à saúde. E confirmar qual a melhor forma de preparo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. K. V.; NOVAIS, V. P.; SALVI, J. O.; MARSON, R. F.. Avaliação tóxica, citotóxica e mutagênica/genotóxica de um extrato comercial de sangue do dragão (*Croton lecheri*). **Revista Fitos**, v.3, n.1, p.29-37, 2019. DOI: <http://doi.org/10.17648/2446-4775.2019.605>
- AZEVEDO, F. R.; MACIEL, G. C.; SILVA, G. B. O.; MESQUITA, F. O.; ALVES, A. C. L.. Larvicidal activity of native plant extracts from the araripe national forest on *Aedes aegypti*. **Journal of Agricultural Science**, v.11, n.7, p.105-114, 2019. DOI: <http://doi.org/10.5539/jas.v11n7p105>
- AZEVEDO, O. C. R.; WADT, P. G. S.; WADT, L. H. O.. **Copaíba: Ecologia e Produção de Óleo-Resina**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2004.
- BABICH, H.; SEGAL, M. A.; FOX, K. D.. The *Allium* test - a simple, eukaryote genotoxicity assay. **American Biology Teacher**, v.59, n.9, p.580-583, 1997. DOI: <http://doi.org/10.2307/4450386>
- BELCAVELLO, L.; CUNHA, M. R. H.; ANDRADE, M. A.; BATITUCCI, M. C. P.. Citotoxicidade e danos ao DNA induzidos pelo extrato de *Zornia diphylla*, uma planta medicinal. **Natureza**, v.10, n.3, p.140-145, 2012.
- BEZERRA, C. M.; DINELLY, C. M. N.; OLIVEIRA, M. A. S.. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso de malva santa *Plectranthus barbatus* (*Lamiaceae*) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Electronic Journal of Pharmacy**, v.13, n.4, p.220-228, 2016.
- BOUBLI, J. P.; HRBEK, T.. Introdução à biodiversidade Amazônica. In: MARCON, J. L. et al. **Biodiversidade Amazônica: caracterização, ecologia e conservação**. Amazonas: Universidade Federal do Amazonas, 2012. p.11-17.
- BRANCALION, A. P. S.; OLIVEIRA, R. B.; SOUSA, J. P. B.; GROppo, M.; BERRETTA, A. A.; BARROS, M. E.; BOIM, M. A.; BASTOS, J. K.. Efeito do extrato hidroalcolólico de folhas de *Copaifera langsdorffii* na urolitíase induzida em ratos. **Urological Research**, v.40, n.5, p.475-481, 2012. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00240-011-0453-z>
- BRASIL. Ministério da Saúde. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Mediciniais da Central de Medicamentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- CAMPOS, S. C.; SILVA, C. G.; CAMPANA, P. R. V.; ALMEIDA, V. L.. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, p.373-382, 2016. DOI: http://doi.org/10.1590/1983-084X/15_057
- CARDOSO, E. S.; ROSSI, A. A. B.; PEDRI, E. C. M.; ROCHA, V. D.; RODRIGUES, A. S.; FAGUNDES, P. A. S.. Avaliação do potencial citogenotóxico de *Zingiber officinale* Roscoe (gingibre), *Zingiberaceae*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.24, n.1, p.1-13, 2019.
- CARVALHO, P. E. R.. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira**. Curitiba: EMRAPA/CNPq; Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.
- COSTA, J. F. V.; ALVES, N. S. M.. Os recursos estratégicos da Amazônia brasileira e a cobiça internacional. **Revista Perspectiva**, v.11, n.20, p.65-86, 2018.
- CRUZ, C. D.. Genes Software: extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v.38, n.4, p.547-552, 2016. DOI: <http://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i4.32629>
- FISKESJÖ, G.. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, p.99-112, 1985. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>
- FRANCO, D. M.; SALDANHA, L. L.; LIMA NETO, J. S.; SANTOS, L. C.; DOKKEDAL, A. L.; ALMEIDA, L. F. R.. Variação sazonal no potencial alelopático das folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Revista Acta Botânica Brasileira**, v.30, n.2, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1590/0102-33062015abb0296>
- FREITAS, V. M.; CÂNDIDO, W. P.; PIRES, C. G. O.; SILVA, B. R.; SANTOS, S.; NOGUEIRA NETO, A. C.; ROMÃO, N. F.; VALLEJO, N. M.. Avaliação da atividade tóxica e citotóxica de extratos da planta *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v.6, n.1, p.67-80, 2019.
- GUEDES, C. M.; SANTOS, F. K. S.; SILVA, T. S.; SILVA, A. P. S.; LIMA, M. V. S.; OLIVEIRA, V. A.; SILVA, M. E. S.; ABREU, M. C.; PERON, A. P. P.. Cytotoxic and genotoxic potential of *Ginkgo biloba* L., in industrialized and without-additive forms. **Biosciense Jornal**, v.34, n.4, p.1017-1024, 2018. DOI: <http://doi.org/10.14393/BJ-v34n1a2018-39745>
- HISTER, C. A. L.; PASQUALLI, M.; TRAPP, K. C.; STEFANELLO, R.; BOLIGON, A. A.; CAMPOS, M. M. A.; TEDESCO, S. B.. Atividade antiproliferativa e determinação de compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus* sp) pelo sistema teste in vivo de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v.15, n.1, p.43-48, 2017.
- LISBOA, A. J. M.; QUEIROZ, F. J. G.; GIOTTO, A. C.; SANTOS, J. F.; SILVA, K. C.. Análises fitoquímicas de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Revista Científica Sena Aires**, v.7, n.3, p.208-213, 2018.
- LOURENÇO, A. C. S.; MIGUEL, L. K.; GUARIDO, K. L.; SENSATE, L. A.; SALLES, M. J. S.. Óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em padrões reprodutivos de camundongos e no desenvolvimento embrionário. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.407-413, 2009. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400008>
- MERCADO, S. A. S.; CALEÑO, J. D. Q.. Cytotoxic evaluation of glyphosate, using *Allium cepa* L. as bioindicator. **Science of the Total Environment**, v.700, p.134452-134459, 2020. DOI:

<http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134452>

MESSIAS, M. C. T. B.; MENEGATTO, M. F.; PRADO, A. C. C.; SANTOS, B. R.; GUIMARÃES, M. F. M.. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.1, p.76-104, 2015. DOI: http://doi.org/10.1590/1983-084X/12_139

MOROSINI, R. R.. Avaliação citotóxica de extratos aquosos de *Tabebuia avellanedae* Lorentz exGriseb (Ipêrosa). In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNEMAT, 3. **Anais**. Universidade do Estado de Mato Grosso, 2008.

OLIVEIRA, V. B.; ZUCHETTO, M.; OLIVEIRA, C. F.; PAULA, C. S.; DUARTE, A. F. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, Dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v.18, n.1, p.230-239, 2016. DOI: http://doi.org/10.1590/1983-084X/15_106

PIRES, N. M.; SOUZA, I. R. P.; PRATES, H. T.; FARIA, T. C. L.; PEREIRA FILHO, I. A.; MAGALHÃES, P. C.. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.55-65, 2001. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0103-31312001000100007>

PORTIS, I. G.; FIGUEREIDO, F. R. G.; PENA, R. V.; HANUSCH, A. L.; SOUSA, L. P.; MACHADO, R. C.; SILVA, C. C.; CRUZ, A. D.. Bioensaio citogenético para a caracterização da mutagenicidade e citotoxicidade da espécie *Chochlospermum regium*. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres**, v.5, n.1, 2016. DOI: <http://doi.org/10.36607/refacer.v5i1.3357>

REIS, H. S.; MORAES, S. M. S.; MONTEIRO, J. A. N.; LEÃO, D. V.; ROCHA, C. A. M.. Absence of cytotoxic and genotoxic

effects of the aqueous extract of *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) bark using *Allium cepa* test. **Biota Amazônica**, v.10, n.1, p.20-233, 2020. DOI: <http://doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v10n1p20-23>

RIBEIRO, T. P.. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Hancornia speciosa* latex in *Allium cepa* root model. **Brazilian Journal of Biology**, v.76, n.1, p.245-249, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1590/1519-6984.20114>

SANTOS, F. S. D.. Tradições populares de uso de plantas medicinais na Amazônia. **História, Ciências, Saúde, Manguinhos**, v.6, p.919-939, 2000. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0104-59702000000500009>

SENIGALIA, R. L. C.; FERREIRA, A. L. S.; KRATZ, D.; COELHO, M. F. B.; SANTOS, A. S. R. M.; CASTRO, D. A.. Toxicidade de extratos vegetais de plantas do cerrado de uso medicinal. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.8, p.55308-55317, 2020. DOI: <http://doi.org/10.34117/bjdv6n8-088>

SOUZA, S. A. M.; STEIN, V. C.; CATTELAN, L. V.; BOBROWSKI, V. L.; ROCHA, B. H. G.. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.5, n.1, p.3-9, 2005.

VASCONCELOS, J.; VIERA, J. G. P.; VIEIRA, E. P. P.. Plantas tóxicas: conhecer para prevenir. **Revista Científica da UFPA**, v.7, n.1, p.1-10, 2009.

VASCONCELOS, E. S.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, T.; CRUZ, C. D.. Estimativas de parâmetros genéticos da qualidade fisiológica de sementes de genótipos de soja produzidas em diferentes regiões de Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.1, p.65-76, 2012.

Os autores detêm os direitos autorais de sua obra publicada. A CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica (CNPJ: 11.221.422/0001-03) detêm os direitos materiais dos trabalhos publicados (obras, artigos etc.). Os direitos referem-se à publicação do trabalho em qualquer parte do mundo, incluindo os direitos às renovações, expansões e disseminações da contribuição, bem como outros direitos subsidiários. Todos os trabalhos publicados eletronicamente poderão posteriormente ser publicados em coletâneas impressas ou digitais sob coordenação da Companhia Brasileira de Produção Científica e seus parceiros autorizados. Os (as) autores (as) preservam os direitos autorais, mas não têm permissão para a publicação da contribuição em outro meio, impresso ou digital, em português ou em tradução.

Todas as obras (artigos) publicadas serão tokenizadas, ou seja, terão um NFT equivalente armazenado e comercializado livremente na rede OpenSea (https://opensea.io/HUB_CBPC), onde a CBPC irá operacionalizar a transferência dos direitos materiais das publicações para os próprios autores ou quaisquer interessados em adquiri-los e fazer o uso que lhe for de interesse.



Os direitos comerciais deste artigo podem ser adquiridos pelos autores ou quaisquer interessados através da aquisição, para posterior comercialização ou guarda, do NFT (Non-Fungible Token) equivalente através do seguinte link na OpenSea (Ethereum).

The commercial rights of this article can be acquired by the authors or any interested parties through the acquisition, for later commercialization or storage, of the equivalent NFT (Non-Fungible Token) through the following link on OpenSea (Ethereum).



<https://opensea.io/assets/ethereum/0x495f947276749ce646f68ac8c248420045cb7b5e/449518768004409158499024805450700786466740869613565206795611577824130807888993/>