

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Pesquisa Científica e Tecnológica em Microbiologia 3



Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Pesquisa Científica e Tecnológica em Microbiologia 3



2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação: Luiza Batista

Edição de Arte: Luiza Batista

Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernando da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Prof^a Dr^a Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^a Dr^a Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof^a Dr^a Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^a Dr^a Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof^a Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Prof^a Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Prof^a Dr^a Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof^a Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Prof^a Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof^a Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof^a Dr^a Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Prof^a Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof^a Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
P474	<p>Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia 3 [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-5706-143-5 DOI 10.22533/at.ed.435200107</p> <p>1. Microbiologia – Pesquisa – Brasil. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.</p> <p style="text-align: right;">CDD 579</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
 Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Temos o prazer de dar continuidade ao tema de microbiologia inter-relacionado à pesquisa científica e tecnológica iniciado pela editora no ano de 2019. Apresentamos aqui um novo volume deste contexto, denominado “Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia, volume 3” contendo trabalhos e pesquisas desenvolvidas em diversos institutos do território nacional contendo análises de processos biológicos embasados em células microbianas ou estudos científicos na fundamentação de atividades microbianas com capacidade de interferir nos processos de saúde/doença.

A microbiologia é um vasto campo que inclui o estudo dos seres vivos microscópicos nos seus mais variados aspectos como morfologia, estrutura, fisiologia, reprodução, genética, taxonomia, interação com outros organismos e com o ambiente além de aplicações biotecnológicas. Como uma ciência básica a microbiologia utiliza células microbianas para analisar os processos fundamentais da vida, e como ciência aplicada ela é praticamente a linha de frente de avanços importantes na medicina, agricultura e na indústria.

A microbiologia como ciência iniciou a cerca de 200 anos, entretanto os avanços na área molecular como a descoberta do DNA elevou a um novo nível os estudos desses seres microscópicos, além de abrir novas frentes de pesquisa e estudo. Sabemos na atualidade que os microrganismos são encontrados em praticamente todos os lugares, e a falta de conhecimento que havia antes da invenção do microscópio hoje não é mais um problema no estudo, principalmente das enfermidades relacionadas aos agentes como bactérias, vírus, fungos e protozoários.

Temas ligados à pesquisa e tecnologia microbiana são, deste modo, discutidos aqui com a proposta de fundamentar o conhecimento de acadêmicos, mestres e todos aqueles que de alguma forma se interessam pela saúde em seus aspectos microbiológicos. Portanto a obra propõe uma teoria bem fundamentada nos resultados práticos obtidos em alguns campos da microbiologia, abrindo perspectivas futuras para os demais pesquisadores de outras subáreas da microbiologia.

Assim, desejo a todos uma ótima leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ANÁLISE FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DA CASCA DOS FRUTOS DE <i>Hymenaea courbaril</i> L SOBRE <i>Staphylococcus aureus</i>	
Diogo Siebra Alencar Gleilton Weyne Passos Sales Suelen Carneiro de Medeiros Mary Anne Medeiros Bandeira Nádia Accioly Pinto Nogueira	
DOI 10.22533/at.ed.4352001071	
CAPÍTULO 2	12
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DE FOLHAS E CASCA DE <i>Jacaratia spinosa</i> (Aubli) A. DC. (MAMOEIRO-BRAVO)	
Katiele Pelegrini João Augusto Firmino de Carvalho Jakson José Ferreira Graciele Fernanda de Souza Pinto	
DOI 10.22533/at.ed.4352001072	
CAPÍTULO 3	18
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DA MACRÓFITA <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam (APIACEAE)	
Andreza Larissa do Nascimento Joyce Bezerra Guedes Antônia Ângela Bezerra José Fabricio de Carvalho Leal Maria do Socorro Meireles de Deus Ana Paula Peron Márcia Maria Mendes Marques Duque Ana Carolina Landim Pacheco	
DOI 10.22533/at.ed.4352001073	
CAPÍTULO 4	35
O ESTADO DA ARTE DO COMPLEXO <i>Cryptococcus neoformans</i> E DA CRIPTOCOCOSE	
Lucas Daniel Quinteiro de Oliveira Lúcia Kioko Hasimoto e Souza Benedito Rodrigues da Silva Neto	
DOI 10.22533/at.ed.4352001074	
CAPÍTULO 5	57
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> PROTEIN EXTRACT INDUCES IP10 PRODUCTION IN BLOOD SAMPLES OF INDIVIDUALS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS	
Rogério Reis Conceição Samanta Queiroz dos Santos Zunara Victória Santana Batista Ramon Mendes dos Santos Silvânia Maria Andrade Cerqueira Caio Lopes Borges Andrade Soraya Castro Trindade Fúlvia Soares Campos de Sousa Lília Ferreira de Moura-Costa Marcos Borges Ribeiro	

Roberto Meyer
Songelí Menezes Freire
DOI 10.22533/at.ed.4352001075

CAPÍTULO 6 66

EFFECTS OF SUB-INHIBITORY CONCENTRATION OF ANTIMICROBIALS IN *Bacteroides fragilis* STRAINS ISOLATED FROM INTRA-ABDOMINAL INFECTIONS

Marcela Abreu Menezes
Priscila Simão Costa
João Paulo Amaral Haddad
Cristina Dutra Vieira
Luiz de Macêdo Farias
Simone Gonçalves dos Santos

DOI 10.22533/at.ed.4352001076

CAPÍTULO 7 83

EFICÁCIA DE ÁLCOOL GEL COMO ANTIMICROBIANO DE SUPERFÍCIES INERTES

Cristiane Coimbra de Paula
Fabrício Caram Vieira
João Pedro Castoldo Passos
Caroline Aquino Vieira de Lamare
Walkiria Shimoya-Bittencourt

DOI 10.22533/at.ed.4352001077

CAPÍTULO 8 91

EVALUACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN BACTERIAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE NOVILLOS ALIMENTADOS CON EXTRACTO DE ORÉGANO

Maria Juliana Moncada Diaz
Luciano Antônio Ritt
Michele Bertoni Mann
Ana Paula Guedes Frazzon
Jeverson Frazzon
Vivian Fischer

DOI 10.22533/at.ed.4352001078

CAPÍTULO 9 100

OBTENÇÃO DE CELULASES MICROBIANAS: UMA BREVE REVISÃO

Tatielle Pereira Silva
Alexsandra Nascimento Ferreira
Cledson Barros de Souza
Dávida Maria Ribeiro Cardoso dos Santos
Marta Maria Oliveira dos Santos
Hugo Juarez Vieira Pereira

DOI 10.22533/at.ed.4352001079

SOBRE O ORGANIZADOR..... 111

ÍNDICE REMISSIVO 112

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DA MACRÓFITA *Hydrocotyle bonariensis* LAM (APIACEAE)

Data de aceite: 01/06/2020

Andreza Larissa do Nascimento

Universidade Federal do Piauí-UFPI

Picos, Piauí, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1159276582635745>

Joyce Bezerra Guedes

Universidade Federal do Piauí-UFPI

Picos, Piauí, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9585080602890413>

Antônia Ângela Bezerra

Universidade Federal do Piauí-UFPI

Picos, Piauí, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4722001752707509>

José Fabricio de Carvalho Leal

Universidade Federal do Piauí-UFPI

Picos, Piauí, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5743775508924082>

Maria do Socorro Meireles de Deus

Universidade Federal do Piauí-UFPI

Picos, Piauí, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0231968397617981>

Ana Paula Peron

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-
UTFPR

Campo Mourão, Paraná, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3605560420792065>

Márcia Maria Mendes Marques Duque

Universidade Federal do Piauí-UFPI

Picos, Piauí, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1673578415957204>

Ana Carolina Landim Pacheco

Universidade Federal do Piauí-UFPI

Picos, Piauí, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4031662027454518>

RESUMO: *Hydrocotyle bonariensis* possui componentes bioativos, tais como, alcaloides, flavonoides, taninos, que proporcionam sua utilização na medicina popular como laxante, diurético, eficaz no tratamento de tuberculose. Objetivou-se avaliar a toxicidade aguda de *H. bonariensis* utilizando o bioensaio com *Artemia salina* e a citotoxicidade por meio de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*. Extratos de *H. bonariensis* foram submetidos ao bioensaio com *A. salina*, para determinar a relação de organismos vivos e mortos. No tempo de 24 horas, foi estimada a CL_{50} utilizando regressão linear obtida da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração dos extratos. Em cada tratamento com *A. cepa* analisou-se 15.000 células. Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. No bioensaio

com *A. salina*, os resultados obtidos mostram que para os extratos da folha e da raiz, os experimentos com menor concentração do extrato, apresentaram um percentual menor de mortalidade. O extrato do caule, não apresentou o mesmo padrão de resposta. Com *A. cepa*, os resultados de IM significativos ($p < 0,05$) foram observados em relação ao controle negativo para a concentração de 1000ppm, em folhas, caule e raízes. Na concentração de 500ppm a IM foi significativo apenas para o extrato do caule, nas demais concentrações não houve valor significativo. Extratos das folhas, caules e raízes de *H. bonariensis* apresentaram componentes bioativos para microcrustáceo *A. Salina*, sendo o caule o mais tóxico. Com *A. cepa*, mostrou que os extratos das folhas, caules e raízes da *H. bonariensis* podem ser citotóxicos na concentração de 1000ppm.

PALAVRAS-CHAVE: plantas aquáticas, bioativos, alcaloides, *Artemia salina*, *Allium cepa*

EVALUATION OF ACUTE TOXICITY AND CYTOTOXICITY OF MACROPHYT

ETHANOLIC EXTRACTS *Hydrocotyle bonariensis* Lam (APIACEAE)

ABSTRACT: *Hydrocotyle bonariensis* has bioactive components, such as alkaloids, flavonoids, tannins, which provide its use in folk medicine as a laxative, diuretic, effective in the treatment of tuberculosis. The objective of this study was to evaluate the acute toxicity of *H. bonariensis* using the bioassay with *Artemia salina* and cytotoxicity using meristematic cells from *Allium cepa* roots. *H. bonariensis* extracts were submitted to a bioassay with *A. salina*, to determine the ratio of living and dead organisms. At 24 hours, the LC50 was estimated using linear regression obtained from the correlation between the percentage of individuals killed and the concentration of the extracts. In each treatment with *A. cepa*, 15.000 cells were analyzed. Cells in interphase, prophase, metaphase, anaphase and telophase were observed. In the bioassay with *A. salina*, the results obtained show that for the leaf and root extracts, the experiments with lower concentration of the extract, presented a lower percentage of mortality. The stem extract did not show the same response pattern. With *A. cepa*, the results of significant MI ($p < 0.05$) were observed in relation to the negative control for the concentration of 1000ppm, in leaves, stem and roots. In the concentration of 500ppm the IM was significant only for the stem extract, in the other concentrations there was no significant value. Extracts from the leaves, stems and roots of *H. bonariensis* presented bioactive components for microcrustacean *A. Salina*, the stem being the most toxic. With *A. cepa*, he showed that the extracts of the leaves, stems and roots of *H. bonariensis* can be cytotoxic in the concentration of 1000ppm.

KEYWORDS: aquatic plants, bioactive, alkaloids, *Artemia salina*, *Allium cepa*

1 | INTRODUÇÃO

O homem desde os tempos remotos interage com a natureza e dela retira o que lhe é conveniente, em especial com relação às plantas, como forma de alimento e meio de

sanar as enfermidades. Na antiguidade, todos os medicamentos desenvolvidos para tratar os doentes eram feitos a partir do conhecimento empírico e exercidos pelas mulheres em cada civilização, criando uma cultura popular ao longo das gerações, tendo as plantas como base da produção de medicamentos (BADKE *et al.*, 2012). Devido à procura e preferência por plantas medicinais, intensificaram-se as pesquisas científicas, avaliando as plantas na sua forma bruta ou através de extratos. A segurança de que produtos produzidos a partir de plantas não trazem desvantagens nenhum à saúde, faz parte da crença popular. No entanto, a palavra “natural”, não é garantia de escusa de algum tipo de ameaça para a saúde (PEREIRA, 2013; MARTINS *et al.*, 2014)

Apesar do crescimento e da eficácia das plantas medicinais, o uso de medicamentos que nunca foram testados cientificamente é muito arriscado. As plantas em sua maioria apresentam substâncias tóxicas contra agentes causadores de danos, além do potencial tóxico e carcinogênico elevado, podendo apresentar até mesmo alto potencial genotóxico em alguns casos (DE SA FERREIRA; VARGAS, 1999; DEMMA; ENGIDAWORK; HELLMAN, 2009; FLORINSIAH *et al.*, 2013).

Nos dias atuais, aproximadamente 80% da população mundial utiliza plantas medicinais em cuidados de saúde primários (FRESCURA; LAUGHINGHOUSE; TEDESCO, 2012). Porém, muitas delas não foram suficientemente estudadas, quanto aos seus possíveis efeitos tóxicos (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007). Pesquisas relatam que espécies dos gêneros *Brassica*, *Lathyrus*, *Astragalus*, *Euphorbia*, *Prunus*, *Datura*, *Jatropha*, *Ranunculus*, *Solanum*, *Sorghum*, *Allium*, *Amaranthus*, *Chenopodium*, *Melilotus*, *Taxus*, apresentam elevado índice de toxicidade (KHAN *et al.*, 2018). Espécies como *Solanum paniculatum* L. *Ricinus communis* L. *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, *Prosopis juliflora* (Sw.) DC, *Crotalaria retusa* L. utilizadas pela população como medicamento, apresentam histórico de intoxicação (BARRETO *et al.*, 2006; NASCIMENTO *et al.*, 2018; BEZERRA *et al.*, 2019).

A utilização de plantas como medicamento é comum tanto para as espécies que têm como habitat os ambientes terrestres, bem como, as que habitam os ambientes aquáticos lânticos ou lóticos. Espécies como *Eichhornia azurea* (Sw.) Kunth., *Lemna aequinoctialis* Welw., *Victoria amazonica* (Poepp.) Sowerby, *Azolla filiculoides* Lam., *Pistia stratiotes* L., *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Polygonum punctatum* Elliot, *Polygonum capitatum* Buch.-Ham. ex D. Don, *Hydrocotyle bonariensis* Lam. Spreng., são utilizadas frequentemente pela população para o tratamento de vários problemas de saúde (ALVES *et al.*, 2001; OUVIÑA, *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2015).

Hydrocotyle bonariensis, originária do território brasileiro é uma macrófita abundante na América do Sul e amplamente distribuída no bioma Caatinga, no Nordeste brasileiro. Encontrada em ambientes aquáticos lóticos, é uma planta prostrada, perene, popularmente conhecida como “acariçoba” (LORENZI, 2008). Seus componentes bioativos, tais como, alcaloides, flavonoides, taninos, compostos fenólicos e saponinas, proporcionam sua

utilização na medicina popular como laxante, diurético, eficaz no tratamento de tuberculose, amenizando os sintomas de reumatismo e artrite (AJANI *et al.*, 2009). Os flavonoides são um dos grupos mais importante de compostos presentes nos vegetais, estando amplamente presentes, principalmente em angiospermas (SIMÕES *et al.*, 2000), esses pigmentos têm grande função na proteção destes organismos contra agentes oxidantes (LOPES *et al.*, 2000). O consumo de flavonoides é de suma importância, levando em consideração os seus benefícios para a saúde humana (GEBHARDT *et al.*, 2005), taxados como antioxidantes de excelência (NARAYAN; VENKATARAMAN, 2002). Os flavonoides são substâncias capazes de diminuir o stress oxidativo, formados por radicais livres ou levar a extinção de uma reação. Estudos relatam que são capazes de prevenir até mesmo lesões musculares, devido à capacidade de desintoxicar alguns peróxidos (MARTINS; COIMBRA; SCHLICHTING, 2014).

O uso de plantas medicinais pode ser muito eficiente, contudo algumas espécies apresentam em sua composição compostos com efeitos deletérios, tornando-se de suma importância à realização de testes avaliativos. Apesar de apresentar diversas propriedades farmacológicas, na literatura científica são encontradas poucas publicações relacionadas a estudos dos efeitos que possam vir a serem provocados aos indivíduos ao utilizarem a *H. bonariensis* (EVANS, 1992; CARNEIRO, 2007; FLORINSIAH, 2013). Dessa forma, torna-se relevante a avaliação, por meio de bioensaios adequados, porque grande parte da população, principalmente de baixa renda, não tem acesso a medicamentos industrializados e utiliza plantas como esta para tratar e prevenir enfermidades.

Testes de avaliação do potencial tóxico são realizados, objetivando-se a avaliação, prevenção e verificação dos efeitos das substâncias nos sistemas biológicos (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2006). Os bioensaios utilizando *Artemia salina* Leach (1819) tem superado a sensibilidade, precisão e simplicidade dos testes por meio de camundongos (PETER *et al.*, 13 1997), permitindo uma avaliação preliminar da toxicidade de forma geral (SIQUEIRA *et al.*, 1998), tornando-se relevante a realização do bioensaios utilizando *A. salina*.

Para uma inteira análise da citotoxicidade, os extratos extraídos de plantas precisam ser estudados em diversos sistemas-testes, em diferentes concentrações e tempos de exposição (PRZEDPELSKA-WASOWICZ; WIERZBIKA, 2011). Os bioensaios com plantas demonstram-se sensíveis, rápidos e simples no acompanhamento dos efeitos tóxicos, a nível celular (HERRERO; PEREZ; FERNÁNDEZ, 2012).

Os bioensaios vegetais são considerados apropriadamente sensíveis e simples, no monitoramento dos efeitos tóxicos a nível celular (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; CAMPOS-VENTURA; MARIN-MORALES; DESK, 2016). Dentre eles, os meristemas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola), são considerados no meio científico um eficiente bioensaio para o screening inicial da toxicidade genética, em razão de apresentarem número cromossômico reduzido ($2n=16$), o que favorece a detecção de alterações de fuso mitótico ou aneugênicas, e distúrbios no índice de proliferação celular, sendo aceito

internacionalmente por agências de pesquisa. Os resultados obtidos por intermédio dele demonstram, na maioria das vezes, similaridade satisfatória a aqueles obtidos via sistemas testes animal e em culturas de células (BIANCHI; MONTOVANI; MARINMORALES, 2015). Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade aguda de *H. bonariensis* utilizando *A. salina* e a citotoxicidade por meio de células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, na perspectiva que os resultados obtidos possam contribuir para o uso seguro dessa planta pela população.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O município de Picos (Figura 1) está localizado na região Centro/Sul do estado do Piauí, à margem direita do Rio Guaribas, a uma latitude de 7o04'37" Sul e uma longitude de 41o28'01" Oeste. Limita-se ao Norte com os municípios de Dom Expedito Lopes e Santana do Piauí; ao Sul com o município de Itainópolis; ao Leste com o município de Geminiano e ao Oeste com o município de Paquetá (AGUIAR-GOMES, 2004). O clima é caracterizado segundo Köppen do tipo Bsh – quente e semiárido, com estações chuvosas no verão. A precipitação média anual é de 679 mm por ano e a umidade relativa do ar permanece em torno de 60% com decréscimo no período de estiagem. O período chuvoso se estende de janeiro a junho (JACOMINE *et al.*, 1986 apud AGUIAR; GOMES, 2004).



Figura 1. (a) Vista da cidade de Picos e do rio Guaribas, (b) local de coleta dos exemplares de *Hydrocotyle bonariensis*.

Fonte: Prefeitura de Picos (2005)

O município de Picos é banhado pelo Rio Guaribas que nasce no município de São Luís do Piauí, sendo afluente da margem direita do Rio Itaim, que por sua vez é afluente do Rio Canindé, considerado um importante contribuinte do Rio Parnaíba. O Rio Guaribas é um rio típico de regiões semiáridas, no período de chuva costuma apresentar

um aumento considerável no seu volume de água com curta duração.

2.2 Coleta do material botânico

Os exemplares de *Hydrocotyle bonariensis* foram coletados no rio Guaribas, bairro Bomba, em agosto de 2019. O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos e levado para o laboratório de Pesquisa III da Universidade Federal do Piauí, *campus* Senador Helvídio Nunes de Barros – Picos, onde foi preparado para obtenção do extrato.

2.3 Obtenção do extrato etanólico bruto das folhas, caule e raízes de *Hydrocotyle bonarie*

No laboratório o material foi lavado, retiradas as partes danificadas, separado em raiz, caule e folhas e colocado sobre papel toalha para secagem. Após esse processo, o material foi cortado em pequenos pedaços e pesado em balança de precisão (Figura 3 a e b). Em frascos de vidro de 500ml foram pesados 127,25g de folhas, 109,85g de caule e 17,50g de raízes. A estes foram adicionados 300ml, 150ml e 200ml de etanol (99,5%) (figura 3 c), respectivamente, permanecendo por sete dias; após esse período a solução resultante foi filtrada utilizando-se funil de vidro simples e papel de filtro (Figura 3 d), a evaporação do solvente se deu por meio do banho-maria a temperatura de 60° C, obtendo-se o extrato bruto das folhas, caules e raízes.



Figura 2. Separação das partes do vegetal para corte e pesagem.

Figura 3. Preparação do material botânico para obtenção do extrato

Fonte: Autora (2019)

2.4 Bioensaio de letalidade frente *Artemia salina*

O ensaio de letalidade em *A. salina* foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982) e Paredes, (2016) com algumas modificações. A princípio foi preparado a água salina, concentração de 30g/L de NaCl de sal marinho sintético, diluída em 1L de água potável, que foi mantida à temperatura ambiente, com recepção de luz artificial de 100W, em aquário improvisado, feito a partir de garrafa PET; em seguida pesou-se 0,3g de cistos de *A. salina* que foram adicionados a água salina no aquário improvisado para aerar por um período de 48 horas até a eclosão dos náuplios.

2.4.1 Preparação das diluições seriadas

Foram pesadas em balança de precisão 100mg dos extratos etanólicos bruto, em seguida foi adicionado 100mL de solução salina. As soluções foram mantidas em constante agitação para completa homogeneização. Ao final do processo obteve-se uma concentração de 1000ppm de soluções de cada extrato. A partir das soluções preparadas dos extratos 1000ppm, foram realizadas diluições seriadas de, 500ppm, 250ppm, 125ppm, 62,5ppm. Todo o processo foi repetido igualmente para os três extratos. O controle negativo foi preparado utilizando solução salina e ração para *A. salina*. O controle foi utilizado para se ter certeza de que a morte dos náuplios seria provocada pela toxicidade dos extratos, e não por falta de algum recurso durante a realização do teste; vale ressaltar que os testes foram realizados em triplicata.

2.4.2 Exposição dos náuplios

Após 48 horas de eclosão dos cistos, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, os náuplios de *A. salina* (n=10), foram transferidos para os tubos nos quais estavam presentes os extratos nas diferentes concentrações. Os tubos foram deixados em temperatura ambiente e sob iluminação por 24 horas. Após esse período, foram analisados para registrar a quantidade de náuplios vivos e mortos. O número de larvas mortas em cada concentração dos extratos foi utilizado para calcular os valores da CL_{50} (concentração que mata 50% dos náuplios). Sendo assim, diante dos valores da CL_{50} obtidos, os produtos testados foram classificados quanto à toxicidade.

2.4.3 Análise dos dados

Os extratos etanólicos de *H. bonariensis* foram submetidos ao bioensaio com *A. salina*, onde foi possível determinar a relação de organismos vivos e mortos. Ao final do

ensaio, no tempo de 24 horas, foi estimada a CL_{50} utilizando regressão linear obtida da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração dos extratos.

Preparação das diluições seriadas do extrato etanólico de *Hydrocotyle bonariensis* para análise da toxicidade em nível celular com meristemas de raízes de *Allium cepa*.

Foram pesadas em balança de precisão 500mg dos extratos etanólicos bruto e em seguida foi adicionado 500 mL de solução salina. As soluções foram mantidas em constante agitação para completa homogeneização. Ao final do processo obteve-se uma concentração de 1000ppm de soluções de cada extrato. A partir das soluções preparadas dos extratos 1000ppm, foram realizadas diluições seriadas de, 500ppm, 250ppm. O processo foi repetido para os três extratos etanólicos. O controle negativo foi preparado utilizando água destilada. O controle foi utilizado para se ter certeza de que as alterações cromossômicas seriam provocadas pela toxicidade dos extratos, e não por falta de algum recurso durante a realização do teste.

2.5 Testes de citotoxicidade em células de raízes de *Allium cepa*

O bioensaio vegetal com *A. cepa* foi feito com base em Peron *et al.*, (2008). Para a realização das análises de toxicidade, inicialmente bulbos de cebolas foram colocados em copos aerados contendo água destilada à temperatura ambiente ($\pm 27^{\circ}C$) até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento (Figura 4). Para análise de cada amostra (concentração ou tratamento) de extrato estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com a suas respectivas amostras do extrato etanólico de *H. bonariensis* foram coletadas algumas raízes de cada cebola e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram expostas em seus respectivos tratamentos por 24 horas, procedimento denominado de tempo de exposição 24 horas.



Figura 4. Bulbos de *Allium cepa* colocados em copos aerados com água destilada para obtenção de raízes com cerca de 2,0cm

Fonte: Autora (2019)

Após 24 horas foram retiradas algumas raízes e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas a seus respectivos tratamentos onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição 48 horas. Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas. Os tempos de exposição 24 e 48 horas foram escolhidos com o intuito de avaliar a ação do extrato em mais de um ciclo celular.

Em cada coleta, foram retiradas três raízes por bulbo. Nesse contexto, seguindo o protocolo proposto por Guerra; Souza (2002) as lâminas, três por bulbo, foram montadas e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 400x. Para cada tratamento foram analisadas 5.000 células para o tempo de exposição 24 horas e 5.000 células para o tempo de exposição 48 horas. Assim, para cada concentração de *H. bonariensis* analisou-se um total de 15.000 células. Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase.

A partir desta análise determinou-se o índice mitótico (IM) por meio da seguinte equação (número total de células em mitose ÷ número total de células analisadas) x 100. O valor do IM foi parâmetro para a determinação do potencial citotóxico de *H. bonariensis* nas formas analisadas. Para a análise estatística da citotoxicidade das amostras foi utilizado o teste do Qui-quadrado (χ^2), $p < 0,05$.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 *Artemia salina* Leach

Para o bioensaio com *Artemia salina*, os resultados obtidos (Tabela 1) mostram que para os extratos obtidos da folha e da raiz, os experimentos com menor concentração do extrato, apresentaram um percentual menor de mortalidade. No entanto, com relação ao extrato do caule, não apresentou o mesmo padrão de resposta. Os resultados obtidos por esse tipo de bioensaio asseguram testes posteriores, como os para antioxidantes podendo, portanto, assegurar a aplicabilidade terapêutica de plantas no tratamento de patologias associadas aos radicais livres (MERINO *et al.*, 2015). O bioensaio com *A. salina*, ainda é utilizado em testes com extratos de plantas, para demonstrar o potencial das mesmas como fonte de compostos antibacterianos e justificar, de forma sucinta o uso popular de determinadas espécies (STEFANELLO *et al.*, 2006).

Órgão vegetal	% Mortalidade				
	1000ppm	500ppm	250ppm	125ppm	62,5ppm
Folha	90±0	83,3± 15,2	20± 0	16,6± 5,7	16,6±5,7
Caule	100±0	100±0	83,3±5,7	60±17,3	66,6±11,5
Raiz	100±0	100±0	80±0	33,3±5,7	16,6±5,7

Tabela 1: Percentagem de náuplios mortos de *A. salina* frente à concentração dos extratos de *Hydrocotyle bonariensis* Lam.

Fonte: Autora (2019)

Os extratos etanólicos obtidos dos caules e raízes tiveram um percentual de mortalidade semelhante nos experimentos onde foram utilizadas as concentrações de 1000ppm e 500ppm, eliminando 100% dos náuplios. Na concentração de 250ppm, os extratos etanólicos dos caules e raízes mantiveram valores aproximados, porém, nas concentrações de 125ppm e 62,5ppm, houve uma redução no percentual de mortes no extrato da raiz, enquanto que no extrato obtido do caule, esses valores se mantiveram elevados. O extrato etanólico das folhas apresentou valores de mortalidade diferentes dos extratos etanólicos obtidos para os caules e para as raízes na maioria das concentrações, exceto para a concentração de 62,5ppm, em que o percentual de mortos foi o mesmo.

Avaliações toxicológicas são de suma importância na seleção de substâncias com atividade biológica, que podem ter utilidade terapêutica, produzindo novos fármacos de acordo com a toxicidade apresentada (CARBALLO *et al.*, 2002).

O ensaio de letalidade com *A. salina* é uma técnica muito utilizada para avaliação prévia da atividade tóxica de extratos de plantas, devido a sua simplicidade, rapidez e baixo custo, sendo eficaz na determinação de atividade antitumoral (MEYER *et al.*, 1982), na avaliação da toxicidade geral, citotoxicidade, e atividade inseticida (LEITE *et al.*, 2009).

As Figuras 5, 6 e 7 mostram a reta de regressão linear obtida através da correlação entre a concentração dos extratos da folha, do caule e da raiz de *H. bonariensis* e a porcentagem de letalidade de *A. salina*. Para uma melhor adequação da reta foram retirados os valores extremos de concentração.

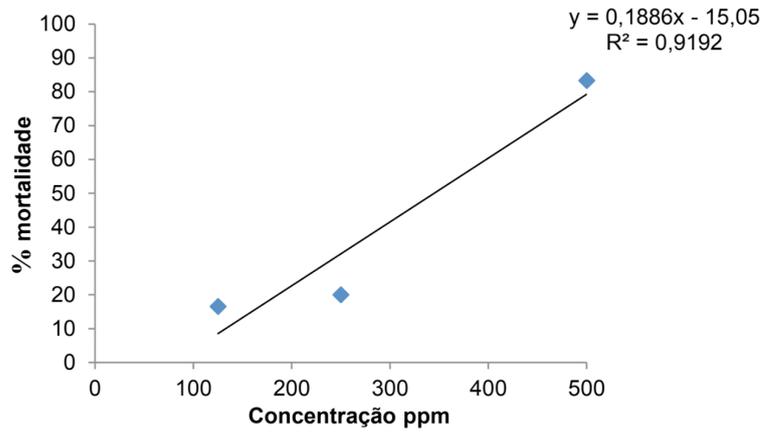


Figura 5: Retas de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do extrato etanólico das folhas de *H. bonariensis* (24 horas)

Fonte: Autora (2019)

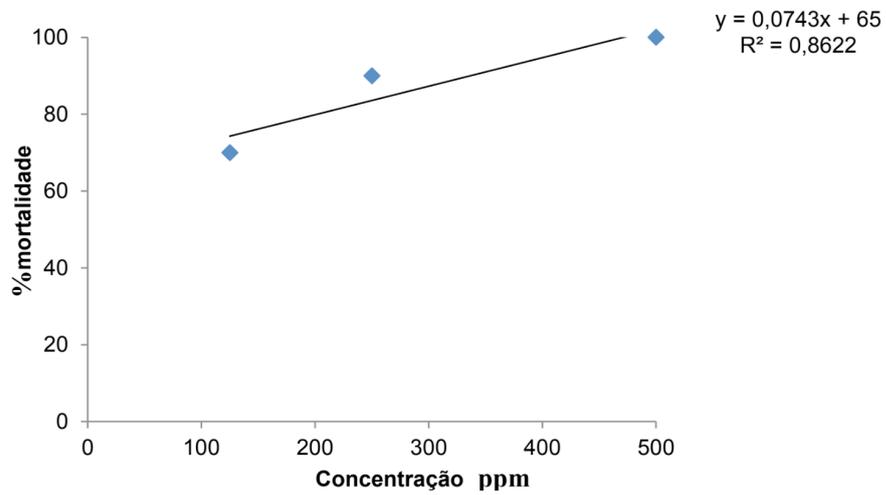


Figura 6: Retas de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do extrato etanólico dos caules de *H. bonariensis* (24 horas)

Fonte: Autora (2019)

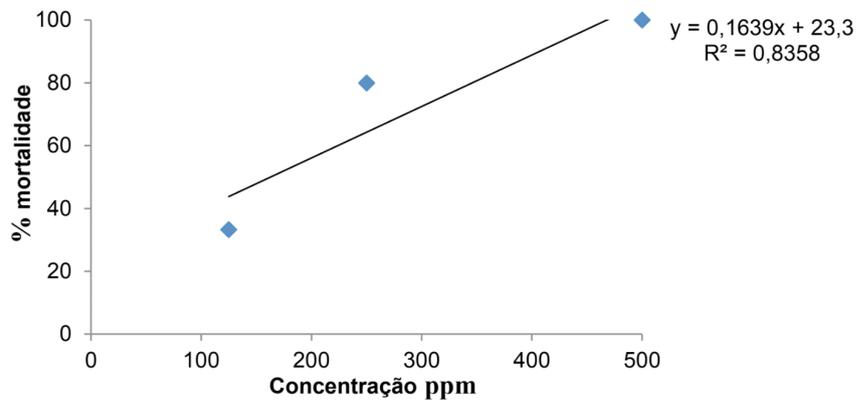


Figura 7: Retas de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do extrato etanólico das raízes de *H. bonariensis* (24 horas)

Fonte: Autora (2019)

Os extratos etanólicos das folhas apresentaram $CL_{50}=344,9\text{ppm}$, os dos caules $CL_{50}=201\text{ppm}$ e os das raízes $CL_{50}=162,9\text{ppm}$. Na avaliação da toxicidade de compostos ativos e extratos vegetais para *A. salina*, um valor de CL_{50} inferior a 1000ppm , são considerados compostos que apresentam toxicidade, portanto, os extratos podem ser considerados bioativos, pois apresentaram CL_{50} menor que $1000\ \mu\text{g/mL}^{-1}$ (MEYER *et al.*, 1982; PARRA *et al.*, 2001, citados por SANTOS; DAVID; DAVID, 2011).

Dolabela (1997) considera uma $CL_{50}<80\text{ppm}$, altamente tóxicos; entre 80ppm e 250ppm , moderadamente tóxico; e $CL_{50}>250\text{ppm}$, com baixa toxicidade ou não tóxico. Os resultados mostraram que os extratos etanólicos do caule e raiz de *H. bonariensis* caracterizam-se como moderadamente tóxicos, pois os valores da CL_{50} ficaram entre 80ppm e 250ppm . No entanto, os extratos etanólicos das folhas de *H. bonariensis* apresentaram $CL_{50}=344,9\text{ppm}$, podendo ser considerado com baixa toxicidade, por a CL_{50} ser um pouco maior que 250ppm . Análises realizadas por Ouviaña *et al.*, (2009) comprovaram que o extrato aquoso de *H. bonariensis* possui efeito anti-inflamatório, o que sustenta seu uso como planta medicinal, para tratar determinados problemas de saúde.

O bioensaio com *A. salina* é considerado um teste capaz de determinar a atividade de produtos bioativos e de forma previa a atividade antitumoral (ARCANJO *et al.*, 2012). Experimentos utilizando *A. salina* para determinar a toxicidade preliminar de extratos de *Indigofera suffruticosa* Mill para toxicidade *in vivo* em camundongos portadores de carcinomas de Ehrlich (EC) mostraram que extratos moderadamente tóxicos em *A. salina*, tem atividade antitumoral significativa (SILVA; LIMA, 2008).

3.2. *Allium cepa* L

Com relação aos experimentos utilizando *A. cepa*, para a avaliação da toxicidade do extrato a nível celular, os resultados apresentados na Tabela 2 demonstram os índices mitótico (IM) obtidos por meio da seguinte equação (número total de células em mitose ÷ número total de células analisadas) x 100. O IM foi parâmetro para a determinação do potencial citotóxico de *H. bonariensis* nas formas analisadas. Como podem ser observados na tabela, os resultados de IM significativos ($p<0,05$) foram observados em relação ao próprio controle negativo para a concentração de 1000ppm , em folhas, caule e raízes. Enquanto que na concentração de 500ppm a IM foi significativo apenas para o extrato do caule, nas demais concentrações não houve valor significativo.

Órgão vegetal de <i>H. Bonariensis</i>	Concentração (ppm)	TE/IM		
		0 h	24 h	48 h
Folha	1000ppm	18,7 ^a	12,3 ^b	11,8 ^b
	500ppm	18,3 ^a	14,0 ^a	13,5 ^b
	250ppm	19,5 ^a	17,5 ^a	15,3 ^a
Caule	1000ppm	20,0 ^a	14,3 ^b	12,8 ^b
	500ppm	18,8 ^a	13,3 ^b	12,8 ^b
	250ppm	17,7 ^a	16,5 ^a	14,3 ^a
Raiz	1000ppm	20,0 ^a	15,3 ^b	13,8 ^b
	500ppm	20,7 ^a	18,8 ^a	17,9 ^a
	250ppm	21,8 ^a	19,3 ^a	18,4 ^a

Tabela 2 – Índices mitóticos observados em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos, por 0h (controle negativo), 24 e 48h, nas três concentrações dos órgãos vegetais de *H. Bonariensis*. Para cada concentração foram apresentados os valores significativos de χ^2 .

TE: tempo de exposição; IM: índice mitótico; Valores seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si pelo teste χ^2 ao nível de 5%. Valores seguidos de asteriscos diferem significativamente pelo teste χ^2 dos seus respectivos controles negativos.

Fonte: Autora (2019).

De acordo com Caritá; Marin-Morales (2008), a exposição de tecidos de intensa proliferação celular, como meristemas de raízes de *A. cepa*, a compostos químicos que possuem capacidade de causar instabilidade genética, podem desencadear alterações específicas comprometendo o crescimento e o funcionamento das células, bem como dos órgãos atingidos. A inibição na divisão celular na concentração de 500ppm do extrato etanólico do caule e na concentração de 1000ppm do extrato etanólico das folhas, caules e raízes, pode comprovar a presença de compostos que possuem ação tóxica capazes de comprometer a divisão celular, não permitindo o crescimento e a reposição celular do organismo exposto (HERRERO, *et al.*, 2012). A inibição da proliferação celular observada em estudos como estes pode ser provocada por compostos com atividade citotóxicos, presentes na planta testada (GOMES *et al.* 2013; SALES *et al.* 2016; CARVALHO *et al.* 2016).

O sistema teste *Allium cepa* é um biomarcador excepcional para a triagem inicial de citotoxicidade em plantas medicinais devido às suas propriedades cinêmicas de proliferação por cromossomos grandes que são poucos em número ($2n = 16$), e sua confiabilidade e concordância com outros testes de toxicidade, ajudando de forma ampla os estudos de prevenção de danos à saúde humana (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007; FACHINETTO *et al.*, 2007; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Os resultados não apresentaram alterações a nível cromossômico, o que corrobora com o estudo de Florinsiah *et al.*, (2013), onde os extratos das partes aéreas e raízes de

H. bonariensis não apresentaram efeito mutagênico em cepas de *Salmonella typhimurium*, corroborando com o uso da mesma na medicina popular.

4 | CONCLUSÃO

As análises realizadas possibilitaram avaliar a toxicidade aguda e citotoxicidade dos extratos etanólicos das folhas, caules e raízes da *H. bonariensis* utilizada amplamente pela população para sanar enfermidades. A análise dos extratos etanólicos das folhas caules e raízes de *H. bonariensis* constatou que os mesmos apresentaram componentes bioativos frente ao microcrustáceo *A. Salina*, sendo o caule o mais tóxico.

No entanto, a avaliação com sistema teste vegetal *A. cepa*, mostrou que os extratos etanólicos das folhas, caules e raízes da *H. bonariensis* podem ser citotóxicos na concentração de 1000ppm, corroborando com os resultados obtidos em *A. salina*. Embora *H. bonariensis* apresente componentes bioativos, o que corrobora com seu consumo, o presente estudo mostrou que a maior concentração testada tem potencial citotóxico. Logo, os resultados obtidos podem contribuir para o uso seguro dessa planta pela população e fomenta a realização de novos testes, sendo fonte para outros estudos.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, R. B.; GOMES, J. R. de C. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea, estado do Piauí: diagnóstico do município de Picos**. Fortaleza: CPRM - Serviço Geológico do Brasil, maio, 2004. Disponível: http://rigeo.cprm.gov.br/xmlui/bitstream/handle/doc/16362/Rel_Picos.pdf?sequence=1. Acesso em: 04 de jun. 2019.

AJANI, E. O. et al. **Chemopreventive and remediation effect of *Hydrocotyle bonariensis* Comm. Ex Lam (Apiaceae) leave extract in galactose induced cataract**. Journal of Ethnopharmacology, v. 123, n.1, p. 134-142, may 2009.

ALVES, A.M. et al. **Polygodial, the Fungitoxic Component from the Brazilian Medicinal Plant *Polygonum punctatum***. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 96, n. 6, p. 831-833, aug. 2001.

ARCANJO, D. D. R. et al. **Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine**. Brazilian Journal of Biology, São Carlos, v. 72, n. 3, p. 505-509, aug. 2012.

BADKE, M.R. et al. **Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais**. Texto & Contexto Enferm, Florianópolis, v.21 n. 2, p. 363-370, jun. 2012.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. **Uso do sistema teste *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais**. Rev. bras. farmacogn. João Pessoa, v.17, n. 3, p. 444-447, set. 2007.

BARBOSA-FILHO, J. M. et al. **Anti-inflammatory activity of alkaloids: a twenty-century review**. Revista Brasileira de Farmacognosia, João Pessoa, v. 16, n. 1, p. 109-139, mar. 2006.

BEZERRA, J. J. L.; FALCÃO-SILVA, V. S. **Plantas relatadas como tóxicas para ruminantes no semiárido nordestino**. Rev. Ciênc. Agrovet. Lages, v. 18, n. 2, p. 202-211, fev. 2019.

- BIANCHI, J.; MANTOVANI, M. S.; MARIN-MORALES, M. A. **Analysis of the genotoxic potential of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture.** J Environ Sci, China, v. 36, n.1, p.102-111, july, 2015.
- CAMPOS-VENTURA, B.; MARIN-MORALES, M. A.; DESK S. **Micronuclei and chromosome aberrations derived from the action of Atrazine herbicide in *Allium cepa* meristematic cells.** SDRP Journal of Earth Sciences Environmental Studies, v. 1, n. 1, p. 22-28, jan, 2016.
- CARBALLO, J. L. *et al.* **Comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro citotoxicity in marine natural products.** BMC Biotechnology, v. 2, v.17, p. 2-17, sept. 2002.
- CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. **Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes.** Chemosphere, v. 72, n. 5, p. 722-725, mar. 2008.
- CARNEIRO, D. M. **Ayurveda: Saúde e Longevidade.** Goiânia: Editora UFG, 2007.
- CARVALHO, F. R. S. *et al.* **Are salty liquid food flavorings in vitro antitumor substances?.** An Acad Bras Cienc, v. 88, n.3, p. 1419-1430, oct. 2016.
- DE SA FERREIRA, I. C. F.; VARGAS, V. M. **Mutagenicity of medicinal plant extracts in *Salmonella/microsome* assay.** Phytother. Res., v. 13, n. 5, p. 397–400, sept. 1999.
- DEMMA, J.; ENGIDAWORK, E.; HELLMAN, B. **Potential genotoxicity of plant extracts used in Ethiopian traditional medicine.** Journal of Ethnopharmacology, v. 122, n. 1, p. 136–142, feb. 2009.
- EVANS, J. P. **The Effect of Local Resource Availability and Clonal Integration on Ramet Functional Morphology in *Hydrocotyle bonariensis*.** Oecologia, v. 89, n. 2, p. 265-276, feb. 1992.
- FACHINETTO, J. M. *et al.* **Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo de celular de *Allium cepa*.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n. 1, p. 49-54, mar. 2007.
- FLORINSIAH, L. *et al.* **Mutagenicity Effect of *Hydrocotyle Bonariensis* Extracts in *Salmonella/Microsomen* Assay.** Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res v. 20, n. 2, p. 47-50, june, 2013.
- FRESCURA, V. D.; LAUGHINGHOUSE, V. H. D.; TEDESCOS. B. **Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Luehea divaricate* on the *Allium Cepa* cell cycle.** Caryologia. v. 65, n. 1, p. 27-33, may, 2012.
- GEBHARDT Y, *et al.* **Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae.** Phytochemistry, v. 66, n. 11, p. 1273-1284, may, 2005.
- GOMES P. M.; ALVES, M. **Floristic and vegetational aspects of an inselberg in the semi-arid region of northeast Brazil.** Edinburgh Journal of Botany, v. 6, n. 2, p. 329-346, july, 2009.
- GUERRA, M.; SOUZA. M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana.** 1 ed. Ribeirão Preto, São Paulo: FUNPEC, 2002.
- HERRERO, O.; PEREZ, J. M. M; FERNÁNDEZ, P. F. **Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test.** Mutation Research, v. 743, p. 20-24, jan. 2012.
- LEITE, J. J. G. *et al.* **Chemical composition toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 42, n. 2, p. 110-113, apr. 2009.

- LEME, D. M.; MARIN, M. A. **Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application.** Mutation Research, v. 682, n.1, p. 71–81, july, 2009.
- LOPES, R.M. et al. Flavonóides: **Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais.** Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, v. 3, n. 14, p. 18-22, 2000.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas** Nova Odessa, SP instituto Plantarum, ed. 4, 640 p., 2008.
- MARTINS, G. S. G., COIMBRA, C., C., B., E., SCHLICHTING, C. L. R. Toxicidade do Goji berry (*Lycium barbarum*). **Revista Uningá Review**, v. 20, n. 1, p. 87-91, 2014.
- MARTINS, H. F.; CARAUTA, J. P. P. Plantas aquáticas. Classificação e comentários. Atas da Sociedade Botânica do Brasil, v. 2, n. 13, p. 101-104, 1984.
- MERINO, F. et al. **Phytochemical analysis, antioxidant potential and toxicity of crude ethanol extract and fractions of the species *Senecio westerman* Dusén against *Artemia salina*.** Rev. Bras. Pl. Med., v. 17, n. 4, p. 1031-1040, apr. 2015.
- MEYER, B. et al. **Brine shrimp: a convenient general bioassay for active constituents.** Planta Medica, v. 45, n. 5, p. 31-34, jan. 1982.
- NARAYAN, M. S.; VENKATARAMAN, L. V. **Effect of sugar and nitrogen on the production of anthocyanin in carrot (*Daucus carota*).** Journal Of Food Science, v. 67, n. 1, p. 84-86, july, 2002.
- NASCIMENTO, M. da P. M. do; OLIVEIRA, C. R. F. de; MATOS, C. H. C.; BADJI, C. A. **Effect of aqueous extract of *Prosopis juliflora* on the control of the mite *Tetranychus bastosi* in physic nut.** Rev. Caatinga, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 1054 – 1061, dec. 2018.
- OUVIÑA, A. **Actividad Antiinflamatoria Tópica de Extractos de *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Apiaceae).** Latin American Journal of Pharmacy, v. 28, n. 6, p. 941-944, aug. 2009.
- PAREDES, P. F. M. **Screening of Bioactivities and Toxicity of *Cnidocolus quercifolius* Pohl.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 16, p. 1-10, apr. 2016.
- PEREIRA, S. S. T. C. **Medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais industrializados e oficializados pelo Ministério da Saúde no Brasil: regulamentação sanitária, abrangência e qualidade dos estudos pré-clínicos e clínicos.** 2013. 344f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz- Fiocruz, Rio de Janeiro, 2013.
- PERON, A. P. et al. **Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia* Vahl. em sistema teste vegetal.** Arquivos de ciências da saúde da UNIPAR, v. 12, n. 1, p. 51-54, 2008.
- PETER S. E.C. et al. **Ecotoxicology of tropical marine ecosystems.** Environmental Toxicology and Chemistry, v. 16, n.1, p. 12–40, 1997.
- PRZEDPELSKA-WASOWICZ, E. M.; WIERZBICKA, M. **Getting of aquaporins by heavy metals in *Allium cepa* L. epidermal cells.** Protoplasma, v. 248, n. 4, p.663-671, 2011.
- SANTOS, R. A. F.; DAVID, J. P.; DAIVID, J. M. Atividade citotóxica de extratos polares de seis espécies de Leguminosae. In: **34º REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA**, Florianópolis, 2011.
- SILVA, C. B.; LIMA, V. L. M. **Avaliação da atividade antitumoral em extrato de *Indigofera suffruticosa* Mill.** 2008. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

SIMÕES, C. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 6 ed. 1104 p., 2010.

SIQUEIRA, J. M. et al. **Estudo Fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach**. Revista Química Nova, v. 21, n. 5, 1998.

STEFANELLO, M. E. A.; SALVADOR, M. J.; ITO, I. Y.; MACARI, P. A.; **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de *Gochnatiapoly morphas* sp. floccosa**. Revista Brasileira de Farmacologia, v.16, p. 525-530, 2006.

ZHANG, S; MO, F; LUO, Z; HUANG, J.; SUN, C.; ZHANG, R. **Flavonoid Glycosides of *Polygonum capitatum* Protect against Inflammation Associated with *Helicobacter pylori* Infection**. PLOS ONE, v. 10, n. 5, p. 1-23, may, 2015.

RU, K.; MEHMOOD, S.; SU, K. **Toxic effect of common poisonous plants of district Bannu, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan**. Pak J Pharm Sci. v.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Agentes de Controle 84
Alcaloides 3, 7, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20
Álcool Gel 83, 84, 85, 88, 89, 90
Allium Cepa 18, 19, 21, 25, 29, 30, 31, 32, 33
antibióticos 16, 92, 99
Antibióticos 92
Antigenicity 58
Antimicrobial Subinhibitory Concentrations. 67
Antimicrobiano 1, 2, 6, 9, 12, 13, 83, 88, 89, 93
Antissepsia 83, 84, 89
Artemia Salina 18, 19, 21, 24, 26, 31, 33, 34

B

Bacteroides Fragilis 66, 67, 68, 73, 74, 81, 82
Bioativos 3, 18, 19, 20, 29, 31
Bovinos 92

C

Corynebacterium Pseudotuberculosis 57, 58, 59, 63, 64
Criptococose 35, 48, 49, 50, 52, 53
Cryptococcus Neoformans 35, 36, 40, 42, 53, 54, 55, 56
Cytokines 58, 59, 60, 62, 63, 64

E

Endoglucanase 101, 102, 103, 105, 110
Exoglucanase 101, 109
Extrato Orgânico 12

F

Fermentação 101, 102, 104, 107
Fitoquímica 1, 4, 7, 10, 12, 14, 15, 17

J

Jatobá 1, 2, 3, 4, 7, 9

M

Microbiota 81, 91, 92, 93, 95, 97

Microrganismos 7, 2, 14, 43, 44, 47, 83, 84, 85, 88, 89, 101, 102, 104, 105, 107

Mycobacterium Tuberculosis 57, 58, 64

P

Pathogenicity 35, 58, 66, 67, 68, 69, 73, 76, 77, 78, 80

Plantas Aquáticas 19, 33

Plantas Medicinais 2, 3, 9, 10, 11, 17, 20, 21, 30, 31

Purificação 101, 102, 105, 106, 108

R

Resistência 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99

S

Staphylococcus Aureus 1, 2, 10, 11, 14

T

Toxicidade 12, 18, 20, 21, 22, 24, 25, 27, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 51, 52

Tracto Gastrointestinal 91, 92, 93, 95, 96

Tratamento 3, 4, 9, 13, 18, 20, 21, 25, 26, 30, 35, 36, 48, 50, 52, 67, 113

Tuberculosis 19, 57, 58, 59, 61, 62, 63, 64, 65, 113

V

Virulência 9, 35, 36, 38, 39, 43, 44, 46, 47, 48, 113

 **Atena**
Editora

2 0 2 0