

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA

Luísa Gonçalves Rodrigues

**POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E GENOTÓXICO DE EXTRATOS
AQUOSOS DE *Stevia rebaudiana* BERTONI PELO TESTE *Allium*
cepa L SOB DIFERENTES APLICAÇÕES DE GLIFOSATO.**

Santa Maria, RS
2021

Luísa Gonçalves Rodrigues

**POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E GENOTÓXICO DE EXTRATOS
AQUOSOS DE *Stevia rebaudiana* BERTONI PELO TESTE *Allium*
cepa L SOB DIFERENTES APLICAÇÕES DE GLIFOSATO.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para à obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

Orientadora: Solange Bosio Tedesco

Santa Maria, RS
2021

Rodrigues, Luísa Gonçalves
POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E GENOTÓXICO DE EXTRATOS
AQUOSOS DE Stevia rebaudiana BERTONI PELO TESTE Allium
cepa L SOB DIFERENTES APLICAÇÕES DE GLIFOSATO. / Luísa
Gonçalves Rodrigues.- 2021.
48 p.; 30 cm

Orientadora: Solange Bosio Tedesco
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2021

1. Glifosato 2. Teste Vegetal 3. Genotoxicidade 4.
Plantas Medicinais I. Bosio Tedesco, Solange II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

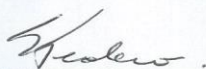
Declaro, LUÍSA GONÇALVES RODRIGUES, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Luísa Gonçalves Rodrigues

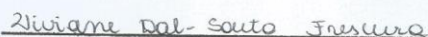
**POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E GENOTÓXICO DE
EXTRATOS AQUOSOS DE *Stevia rebaudiana* BERTONI PELO
TESTE *Allium cepa* L SOB DIFERENTES APLICAÇÕES DE
GLIFOSATO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado
do Programa de Pós-Graduação em
Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa
Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para
à obtenção do título de **Mestre em
Agrobiologia**.

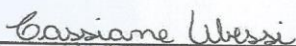
Aprovado em 31 de agosto de 2021



**Solange Bosio Tedesco, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)**



Viviane Dal-Souto Frescura, Dra. (UFSM) - Parecer



Cassiane Ubessi, Dra. (IDEAU) - Parecer

Santa Maria, RS

2021

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meus pais, que muitas vezes abdicaram dos seus sonhos para que os meus fossem realizados e por todo amor que deram. Á minha irmã, que sempre esteve ao meu lado, me incentivando e me cuidando. Ao meu namorado, pelo apoio e por toda ajuda na estufa e experimento.

Eu amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que sempre me incentivaram e que lutam ao meu lado.

Á minha irmã e meu namorado, que sempre tiveram paciência, amor e estavam sempre dispostos a me ajudar.

Á minha orientadora Solange Bosio Tedesco, que sempre esteve disposta a me aconselhar, me ensinar, teve carinho, amizade e dedicação. Muito obrigada!

Agradeço aos colegas de laboratório, os quais, entre um chimarrão e um café, sempre deixavam o trabalho mais leve e divertido. Kássia, Micheli, Marina, Jéssica, Carmine, Cassiane, Julia e Valéria, obrigada pela companhia!

A minha amiga Kássia, que me apresentou a área de citogenética e teve paciência para me ensinar. Gratidão.

Ao meu amigo Anderson, que me ajudou na identificação da espécie.

Á Universidade Federal de Santa Maria, instituição que proporcionou a realização das minhas graduações e meu mestrado.

Obrigada a todos que, de alguma maneira, foram especiais e contribuíram para que meu trabalho fosse realizado.

RESUMO

POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E GENOTÓXICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE *Stevia rebaudiana* BERTONI PELO TESTE *Allium cepa* L SOB DIFERENTES APLICAÇÕES DE GLIFOSATO.

Autora: Luísa Gonçalves Rodrigues
Orientadora: Solange Bosio Tedesco

Algumas espécies vegetais da família Asteraceae, devido aos compostos secundários produzidos, possuem alto valor medicinal e econômico. A *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni), espécie dessa família, tem adoçantes naturais extraídos de suas folhas, principalmente o rebaudiosídeo e o esteviosídeo, os quais tem um poder adoçante cerca de 300 a 450 vezes maior que a sacarose. Essas substâncias são importantes, pois não são calóricas e podem fazer parte da dieta de pessoas com restrição ao açúcar. Além disso, possui propriedades antibacteriana, antisséptica, anti-inflamatória, hipotensora, diurética, cardiotônica e contraceptiva. O cultivo de *S. rebaudiana* é altamente sensível a competição com plantas indesejadas, sendo necessária a utilização de herbicidas para controle, e dentre esses tem-se o uso do glifosato, que é conhecidamente mutagênico. Esta pesquisa teve como objetivo analisar o potencial genotóxico e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas frescas e secas de *S. rebaudiana* tratadas com diferentes aplicações de glifosato. A análise da genotoxicidade se deu pelo bioensaio *in vivo* de *Allium cepa* o qual possibilita averiguar alterações cromossômicas e o índice mitótico. O material vegetal utilizado para o teste *in vivo* foi cultivado em ambiente protegido, sendo divididos em cinco grupos (controle, plantas que receberam apenas água e plantas tratadas com glifosato diluído em água destilada, nas concentrações de 0,25 mL L⁻¹; 0,5 mL L⁻¹; 1 mL L⁻¹ e 2 mL L⁻¹) e, após 3 dias da aplicação, foram coletados. Os extratos aquosos foram preparados a partir das folhas frescas e secas de *S. rebaudiana* nas concentrações de 1,5 g L⁻¹ e 3 g L⁻¹ sendo que a água destilada e o glifosato 31,25 mL L⁻¹ (1,5%) representaram os controles negativo e positivo, respectivamente. Para análise estatística dos índices mitóticos foi utilizado teste Qui-Quadrado (χ^2) e para as alterações, foi utilizado o teste Scott & Knott, ambos com nível de 5% de probabilidade de erro. Conforme aumento da concentração, os extratos aquosos de estévia que receberam apenas água apresentaram índice mitótico menor que o controle negativo (água), exceto 1,5 g L⁻¹ de folhas frescas. Os extratos tratados com as diluições do glifosato, também tiveram diminuição da proliferação celular, exceto 3 g L⁻¹ que recebeu 0,5 mL L⁻¹. Todos os extratos apresentaram aberrações cromossômicas, porém, nem todos diferiram significativamente da água. Os extratos de 1,5 g L⁻¹ e 3 g L⁻¹ de folhas frescas e 1,5 g L⁻¹ de folhas secas de estévia, que receberam apenas água, apresentam potencial genotóxico. Dessa maneira, conclui-se que os extratos de 3 g L⁻¹ de folhas frescas e 1,5 g L⁻¹ e 3 g L⁻¹ de folhas secas de estévia, que receberam apenas água possuem potencial antiproliferativo, assim como os extratos que receberam glifosato (exceto 3 g L⁻¹ que recebeu 0,5 mL L⁻¹). Dos tratamentos que receberam as diluições, são genotóxicos os extratos de 1,5 g L⁻¹ de folhas frescas que receberam 1 mL L⁻¹ e 2 mL L⁻¹, 3 g L⁻¹ de folhas frescas que receberam todas as diluições e os extratos de 1,5 g L⁻¹ de folhas secas que receberam 0,25 mL L⁻¹, 1 mL L⁻¹ e 2 mL L⁻¹.

Palavras-chave: Glifosato. Teste Vegetal. Genotoxicidade. Plantas Medicinais

ABSTRACT

ANTIPROLIFERATIVE AND GENOTOXIC POTENTIAL OF AQUEOUS EXTRACTS OF *Stevia rebaudiana* BERTONI BY THE *Allium cepa* L TEST UNDER DIFFERENT GLYPHOSATE APPLICATIONS.

Author: Luísa Gonçalves Rodrigues

Advisor: Solange Bosio Tedesco

Some plant species of the Asteraceae family, due to the secondary compounds produced, have high medicinal and economic value. *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni), a species of this family, has natural sweeteners extracted from its leaves, mainly rebaudioside and stevioside, which have a sweetening power about 300 to 450 times greater than sucrose. These substances are important, because they are not caloric and can be part of the diet of people with sugar restriction. In addition, it has antibacterial, antiseptic, anti-inflammatory, hypotensive, diuretic, cardiotoxic, and contraceptive properties. The cultivation of *S. rebaudiana* is highly sensitive to competition with unwanted plants, requiring the use of herbicides for control, and among these is the use of glyphosate, which is known to be mutagenic. This research aimed to analyze the genotoxic and antiproliferative potential of aqueous extracts from fresh and dried leaves of *S. rebaudiana* treated with different applications of glyphosate. The genotoxicity analysis was performed using the *Allium cepa in vivo* bioassay, which allows the investigation of chromosomal alterations and mitotic index. The plant material used for the *in vivo* test was grown in a protected environment, and divided into five groups (control, plants that received only water, and plants treated with glyphosate diluted in distilled water at concentrations of 0,25 mL L⁻¹; 0.5 mL L⁻¹; 1 mL L⁻¹, and 2 mL L⁻¹) and collected 3 days after the application. The aqueous extracts were prepared from fresh and dried leaves of *S. rebaudiana* at concentrations of 1.5 g L⁻¹ and 3 g L⁻¹ with distilled water and glyphosate 31.25 mL L⁻¹ (1.5%) representing the negative and positive controls, respectively. Chi-square test (χ^2) was used for statistical analysis of mitotic indices and Scott & Knott test was used for changes, both with 5% level of error probability. As the concentration increased, the aqueous extracts of stevia that received only water showed lower mitotic index than the negative control (water), except 1.5 g L⁻¹ of fresh leaves. The extracts treated with glyphosate dilutions, also had decreased cell proliferation, except 3 g L⁻¹ that received 0.5 mL L⁻¹. All extracts showed chromosomal aberrations, but not all differed significantly from water. The extracts of 1.5 g L⁻¹ and 3 g L⁻¹ of fresh leaves and 1.5 g L⁻¹ of dried stevia leaves, which received only water, showed genotoxic potential. Thus, it is concluded that the extracts of 3 g L⁻¹ of fresh leaves and 1.5 g L⁻¹ and 3 g L⁻¹ of dried stevia leaves that received only water have antiproliferative potential, as do the extracts that received glyphosate (except 3 g L⁻¹ that received 0.5 mL L⁻¹). Of the treatments that received the dilutions, the extracts of 1.5 g L⁻¹ of fresh leaves that received 1 mL L⁻¹ and 2 mL L⁻¹, 3 g L⁻¹ of fresh leaves that received all dilutions, and the extracts of 1.5 g L⁻¹ of dried leaves that received 0.25 mL L⁻¹, 1 mL L⁻¹, and 2 mL L⁻¹ are genotoxic.

Keywords: Glyphosate. Plant Test. Genotoxicity. Medicinal Plants

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni) cultivada em vaso.....	16
FIGURA 2 – Setas indicam aberrações cromossômicas encontradas no controle positivo (glifosato 3%).....	20
FIGURA 3 – Mudanças de estêvia adquiridas em comércio local.....	23
FIGURA 4 – Mudanças de estêvia em período de aclimação.....	23
FIGURA 5 – Diluições do herbicida glifosato em 1 L de água destilada.....	24
FIGURA 6 – Extratos aquosos de estêvia utilizados como tratamento nos bulbos de <i>Allium cepa</i>	25
FIGURA 7 – Bulbos de <i>Allium cepa</i> submetidos aos tratamentos.....	27
FIGURA 8 – Lâminas identificadas (T18 e T19), para análise em microscópio.....	28
FIGURA 9 – Alterações cromossômicas encontradas nos extratos aquosos de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni) que receberam apenas água.....	38
FIGURA 10 – Alterações cromossômicas encontradas nos extratos de folhas frescas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni) que receberam glifosato.....	39
FIGURA 11 – Alterações cromossômicas encontradas nos extratos de folhas secas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni) que receberam glifosato.....	40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Tratamento recebido por cada grupo.....	23
TABELA 2 – Tratamentos utilizados no teste <i>Allium cepa</i>	23
TABELA 3 – Número de células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> analisadas em interfase, divisão e os índices mitóticos (IM) dos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni)	34
TABELA 4 – Número de células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> analisadas em interfase, divisão e os índices mitóticos (IM) dos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni)	34
TABELA 5 – Alterações cromossômicas encontradas nos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni).....	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	FAMÍLIA ASTERACEAE E GÊNERO <i>Stevia</i>	14
2.2	<i>Stevia rebaudiana</i> BERTONI (BERTONI)	15
2.3	GLIFOSATO.....	17
2.4	TESTE <i>Allium cepa</i> L.....	20
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	CULTIVO DE <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni) E APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS	22
3.2	ANÁLISE DA PROLIFERAÇÃO CELULAR E GENOTOXICIDADE PELO TESTE IN VIVO DE <i>Allium cepa</i>	25
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	TESTE DE <i>Allium cepa</i> L.....	29
4.1.1	Capacidade antiproliferativa dos extratos aquosos de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni)	29
4.1.2	Genotoxicidade dos extratos aquosos de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Bertoni) ..	32
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

Algumas espécies vegetais da família Asteraceae são muito conhecidas pela produção de metabólitos secundários, os quais lhe conferem propriedades medicinais e econômicas (ROQUE; BAUTISTA, 2008; ROQUE et al., 2017). O gênero *Stevia* Cass., pertencente a Asteraceae, se tornou muito popular atualmente, pois adoçantes de baixa caloria são extraídos da espécie sul-americana *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni), os quais tem sido usados mundialmente como substitutos do açúcar (FRONZA; FOLEGATTI, 2003; LEMUS-MONDACA et al., 2012; PEREIRA et al., 2015; KHIRAOUI et al., 2018).

O consumo de alimentos e bebidas que contém edulcorantes tem aumentado significativamente nos últimos anos e a estévia é a mais parecida com o açúcar, sem gosto metálico e não é cancerígena (SALVADOR-REYES et al., 2014). Esse aspecto favorece o cultivo de *Stevia rebaudiana* (LIMA- FILHO et al., 2004), pois de suas folhas são extraídos o rebaudiosídeo e o esteviosídeo, com cerca de 300 a 450 vezes o poder doce da sacarose (LEMUS-MONDACA et al., 2012). Além disso, estudos demonstram que a estévia tem propriedades antibacteriana, antissépticas, anti-inflamatória, hipotensora, diurética, cardiotônica e contraceptivas (NUNES; PEREIRA, 1988; MELLIS, 1999; HOSSAIN et al., 2017).

Considerando as exigências da planta, *S. rebaudiana* pode ser cultivada em vários tipos de solos (ALVAREZ et al., 1996), tem um importante valor socioeconômico já que pode ser cultivada por produtores da agricultura familiar, gerando faturamento por meio de seus produtos in natura ou industrializados, como folhas secas, bebidas e receitas, já preparadas com os seus adoçantes naturais (LIMA- FILHO et al., 2004). Além disso, seu bagaço pode ser utilizado para alimentação animal. As substâncias extraídas dessa planta não são calóricas, construindo um nicho de exportação e importação, principalmente para pessoas que possuem restrição de açúcar em sua dieta. (LIMA- FILHO et al., 2004).

O cultivo de estévia pode ter sua produção prejudicada por plantas indesejadas que competem pelos recursos disponíveis (LIMA FILHO et al., 2004) logo, para evitar a invasão dessas plantas indesejadas, estudo realizado pelos autores Taiariol e Molina (2010), o melhor foi a capina manual com complemento químico, como o

glifosato, aplicado de maneira localizada. Existem muitas preocupações com relação a essa substância, pois estudos mostram efeito nocivo em humanos e animais, inclusive sendo utilizado como controle positivo em estudos com *Allium cepa*. (GIESY et al., 2000; FRESCURA et al., 2012; HISTER et al., 2017).

As plantas medicinais fazem parte do cotidiano da população e são amplamente consumidas na forma de chá (BADKE, 2011). A grande parte dessas plantas, apesar de serem usadas mundialmente no tratamento de doenças, não foram suficientemente estudadas no que diz respeito ao seu potencial citotóxico e mutagênico (BAGATINI et al., 2007), o que pode causar danos à saúde (FRESCURA et al. 2012). Os efeitos da genotoxicidade e mutagenicidade podem ser constatados pelo fenômeno da inibição da divisão celular, o qual pode ser causado pela ação dos componentes existentes nas plantas medicinais (FRESCURA, 2012).

O teste *Allium cepa* é utilizado para determinar o potencial genotóxico e antiproliferativo de plantas sendo utilizado como excelente bioindicador vegetal (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012). Este teste está validado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e existe correlação positiva do teste de *A. cepa* com outros tipos celulares, animais incluindo também humanos (HERRERO et al., 2012).

Os efeitos dos extratos aquosos de plantas medicinais têm sido relatados por vários autores (ROSSATO et al., 2010; FRESCURA et al., 2012; SILVA et al., 2014; NEVES et al., 2014; TEDESCO et al., 2015; KUHN et al., 2015A; UBESSI et al., 2019 e RODRIGUES et al., 2020;) os quais encontraram diminuição da proliferação celular da ponta das raízes de *A. cepa* tratadas com diferentes concentrações, efeitos genotóxicos e aberrações cromossômicas. Muitos autores usam glifosato, em diferentes concentrações, como controle positivo em testes de *A. cepa*. Ao estudar a espécie *Luehea divaricata* Martius, Frescura et al. (2012) encontraram 53 aberrações cromossômicas no controle positivo com glifosato 3%. Entre as alterações, foi possível observar pontes durante as fases de anáfase e telófase.

Esta pesquisa teve como objetivo analisar o potencial genotóxico e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas frescas e secas de *S. rebaudiana* tratados com diferentes aplicações de glifosato.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FAMÍLIA ASTERACEAE E GÊNERO *Stevia*

Asteraceae Bercht. & J. Presl é uma das maiores famílias e contém muitos gêneros, mais de 1600, e cerca de 24.000 espécies (FUNK et al., 2009; ROQUE et al., 2017). Suas plantas possuem hábito herbáceo, arbustivos e arbóreos e estão disseminadas por todo o globo (ROQUE et al., 2017). No Brasil, existem aproximadamente 2.205 espécies e 326 gêneros (NAKAJIMA et al., 2020). As espécies dessa família produzem muitos compostos secundários, conferindo a elas um alto valor medicinal e econômico, sendo que várias espécies são utilizadas como produtos alimentícios, na produção de cosméticos, extração de óleos vegetais e essenciais e como plantas ornamentais (ROQUE; BAUTISTA, 2008; ROQUE et al., 2017). A camomila (*Matricaria chamomilla*) é o principal exemplo de planta medicinal desta família, possuindo efeito calmante e anti-inflamatório, sendo muito consumida na forma de chá (MOURA et al., 2018). Alface (*Lactuca sativa*) e alcachofra (*Cynara scolymus*) são destaques entre as espécies alimentícias. Do girassol (*Helianthus annuus*), é extraído óleo vegetal, muito utilizado no preparo de alimentos e cerca de 20 espécies do gênero *Helianthus* são utilizadas como ornamentais (ROQUE et al., 2017).

Uma das tribos que ocorrem em Asteraceae é a Eupatorieae Cass., a qual, no Brasil, é a mais rica em número de gêneros e espécies, possuindo 88 gêneros e 607 espécies, sendo que, dentre estes, 40 gêneros e 440 espécies são endêmicos (ROQUE et al., 2017). O gênero *Stevia* Cav., membro desta tribo, embora seja relativamente fácil de ser reconhecido, identificar suas espécies costuma ser bastante complicado, porque muitas delas não têm limites claros, possuindo indivíduos com aspectos intermediários entre espécies (VILLAGÓMEZ-FLORES et al., 2018). Segundo Villagómez-Flores et al. (2018), *Stevia* possui cerca de 250 espécies, encontrando-se ervas anuais e perenes, subarbusto ou arbustos, pode ter folhas opostas ou alternadas e suas inflorescências são sempre formadas por cinco brácteas envolvendo cinco flores brancas, rosas ou roxo avermelhadas, agrupadas. O gênero tem ocorrência confirmada nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil (NAKAJIMA; GUTIÉRREZ, 2020). O gênero se tornou muito popular atualmente, pois adoçantes de baixa caloria são extraídos da espécie sul-americana *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni), os quais tem sido usados mundialmente como

substitutos do açúcar (FRONZA; FOLEGATTI, 2003; LEMUS-MONDACA et al., 2012; PEREIRA et al., 2015; KHIRAOUI et al., 2018).

2.2 *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni)

A *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni) (Figura 1), também chamada de stévia e estévia, é uma espécie da família Asteraceae pertencente ao gênero *Stevia* e é a única espécie cultivada do gênero (CAPONIO et al., 2016).

Figura 1: *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni) cultivada em vaso.



Fonte: Arquivo Pessoal, Santa Maria (RS), 2020

É uma planta perene de hábito subarbuscivo que ocorre espontaneamente na região da Serra do Amambai, entre o Brasil e o Paraguai, e na Argentina (LIMA FILHO et al., 2004; PEREIRA et al., 2015; MARTINS et al., 2017), podendo chegar até 90 centímetros (cm) de altura no seu hábitat natural (CRUZ, 2015), e até 100 cm em cultivos (GARCÍA et al., 2017) sendo que, no Brasil, a estévia ocorre naturalmente na

região Centro-Oeste, no Mato Grosso do Sul (NAKAJIMA; GUTIÉRREZ, 2020). Sua primeira descrição botânica é atribuída a Moisés Santiago Bertoni, o qual denominou a planta de *Eupatorium rebaudianum*, em homenagem ao primeiro químico a estudar as substâncias dela extraídas (LIMA FILHO et al., 2004; YADAV et al., 2011).

O gênero *Stevia* possui muita variedade no número de cromossomos. Analisando seis espécies brasileiras de *Stevia*, incluindo *Stevia rebaudiana*, Frederico et al. (1996) encontraram o número básico $n = 11$ ($2n = 22$) e tamanho de cromossomos semelhantes, porém cada espécie apresentou diferenças nos braços cromossômicos, em pelo menos um par. Apesar do $n = 11$ encontrando por Frederico et al. (1996), valores como $2n = 24, 33, 34, 44, 48, 66$ e 70 também foram observados nas pesquisas feitas por Yadav et al. (2011). Portanto, essa variação retrata mudanças numéricas (aneuploidia e poliploidia) e possivelmente, estruturais. (FREDERICO et al., 1996).

A folha da estévia é pequena, simples, decussada; lâminas trinervadas, ovais a obovadas; base cuneiforme e decorrente no pecíolo; com pecíolo alado, 0,5 - 0,8 cm; vértice arredondado; borda da base ao centro lisa e do centro ao ápice crenada a serrilhada (GARCÍA et al., 2017) e possui um agradável doce, sabor que pode permanecer na boca durante horas (YADAV et al., 2011). As inflorescências são corimbiformes. As flores são alvas, actinomorfas, corola com cinco lobos perfeitos, agrupadas em capítulos, com brácteas ao entorno. Os frutos são aquênios isomórficos com cerca de 15 aristas cerdosas e simétricas de superfície pilosa e papus com uma fileira de cerdas (LIMA FILHO et al., 2004).

Pelo seu sabor doce essa planta, a qual era chamada de Ka'a He' pelos povos guaranis, era usada por eles para adoçar bebidas (NUNES; PEREIRA, 1988). A folha de estévia produz uma variedade de adoçantes naturais de alta potência (KHIRAOUI et al., 2018), entre eles o esteviol e o rebaudiosídeo, glicosídeos com poder adoçante 300 vezes maior que a sacarose (LEMUS-MONDACA et al., 2012), os quais são usados para substituir o açúcar. Essas substâncias podem ser usadas sem restrições, pois não produzem cáries, não são calóricas, nem tóxicas ou metabolizadas pelo organismo (FRONZA; FOLEGATTI, 2003). A estévia pode ser incluída na dieta de pessoas obesas e diabéticas, podendo ser vantajosa na prevenção do diabetes tipo 2 (HOSSAIN et al., 2017).

Ao analisarem os compostos fenólicos de extratos das folhas de estévia, Kim et al. (2011) identificaram os compostos pirogalol, ácido 4-metoxibenzóico, ácido p-

cumárico, 4-metilcatecol, ácidos sinápico e cinâmico. Segundo Bondarev et al. (2001), os glicosídeos mais abundantes nas folhas são o esteviosídeo e o rebaudiosídeo A, podendo estar presentes em concentrações variadas, decrescendo na seguinte ordem: folhas, flores, caules, sementes e raízes. Entretanto, suas concentrações podem variar consideravelmente de acordo com o genótipo e devido a muitos fatores ambientais incluindo condições do solo, métodos de irrigação, luz solar, pureza do ar, práticas agrícolas, saneamento, processamento e armazenamento (LIMA FILHO et al., 2004; YADAV et al., 2011; WÖLWER-RIECK, 2012).

Segundo Hossain et al. (2017), a estévia também tem resultados bons em tratamento nos problemas de pele, como dermatite, eczema, rugas, manchas, acne, cicatrizes, erupções cutâneas e coceira. O esteviol extraído da planta regula o nível de glicose no sangue e também é usado como um tônico digestivo (HOSSAIN et al., 2017). Propriedades antibacteriana, antisséptica, anti-inflamatória, hipotensora, diurética e cardiotônica também são observadas na estévia e, além disso, mulheres guaranis usavam a planta preparada com água para fins contraceptivos (NUNES; PEREIRA, 1988; MELLIS, 1999; HOSSAIN et al., 2017). Além disso, essa planta também é utilizada para diminuir a disposição ao fumar ou ingestão de bebidas alcoólicas (LEMUS-MONDACA et al., 2012) e, segundo Kim et al. (2011) e Khiraoui et al. (2017), os extratos aquosos das folhas de *S. Rebaudiana* tem uma alta capacidade antioxidante natural. Os antioxidantes naturais são de extrema importância, pois, segundo Valadez-Vega et al. (2013), essas substâncias ajudam a neutralizar os radicais livres, reduzindo o risco de muitos tipos de câncer.

A estévia possui facilidade de crescimento em uma grande variedade de terrenos e climas (ALVAREZ et al., 1996) e tem um alto valor econômico, pois suas sementes, mudas, folhas secas e produtos industrializados podem ser comercializados (LIMA FILHO et al., 2004), portanto seu potencial agrônomo é altamente explorado. O cultivo de estévia pode ter sua produção prejudicada por plantas indesejadas que competem pelos recursos disponíveis (LIMA FILHO et al., 2004) logo, para evitar a invasão dessas plantas indesejadas, estudo realizado pelos autores Taiariol e Molina (2010), o melhor foi a capina manual com complemento químico, como o glifosato, aplicado de maneira localizada.

2.3 GLIFOSATO

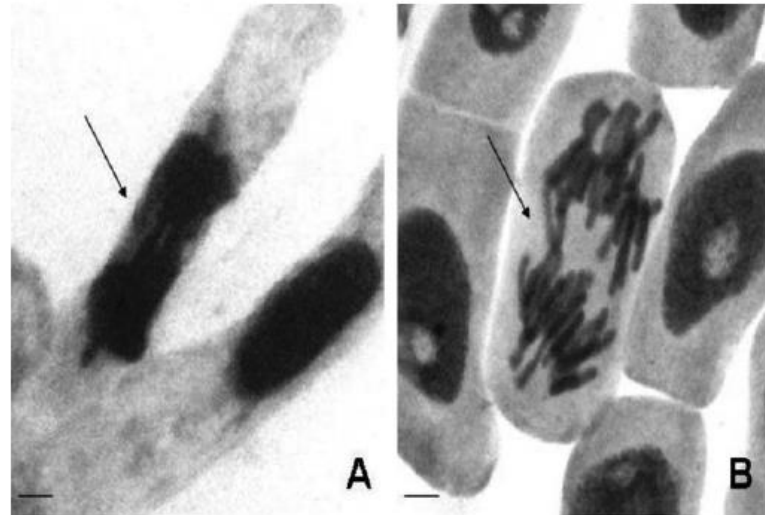
Os herbicidas fazem parte de um grupo dos agrotóxicos e são, produtos químicos utilizados na agricultura, para controlar plantas indesejadas que competem recursos com as culturas (MARIA, 2018). O glifosato, N- (fosfometil) glicina, é um herbicida não seletivo pós-emergência (SAMANTA et al., 2018) que age inibindo a 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), catalisadora de aminoácidos essenciais para o crescimento das plantas, levando-as a morte (GALI; MONTEZUMA, 2005; GIANQUINTO, et al., 2017). Este químico apresenta amplo espectro (GALI; MONTEZUMA, 2005), e elevada eficiência na eliminação de plantas indesejadas e, geralmente, é vendido na concentração de 48%, porém, sua aplicação pode resultar na presença de resíduos tanto na colheita quanto em animais usados na alimentação humana (AMARANTE JUNIOR et al., 2002). O comércio mundial de herbicidas cresce anualmente e o glifosato representa 60% desse mercado (REBESSI et al., 2011). Existem muitas preocupações com relação a essa substância, pois mostram efeitos nocivos em humanos e animais (GIESY et al., 2000). Considerando que a utilização de glifosato vem crescendo e que pode causar mutações em organismos não alvos, é preciso reconsiderar os modos de utilização desse produto no ambiente (SILVA et al., 2020)

Segundo Montana (2012), a Colômbia realizava aspersões de glifosato para combater cultivos ilegais e, em dezembro de 2005 o Equador pediu que o país cessasse com esse método nas áreas limítrofes, pois estava causando danos e intoxicação às pessoas e gados domésticos. Ao estudar os efeitos letais e subletais de glifosato em anuros, Velásquez et al. (2013) encontraram atrasos significativos no desenvolvimento e no tamanho do corpo de *Rhinella marinho*. A dose letal média foi menor do que a usada em campo, indicando alto poder tóxico. Da Silva et al. (2014) avaliaram o sangue das brânquias de *Astyanax* spp. expostos a dose máxima permitida de glifosato nos rios brasileiros por 72 horas. Foram encontrados um número significativo de micronúcleos nos eritrócitos, comparado ao grupo controle (sem glifosato), o que leva a uma preocupação relevante à biologia dos peixes. Também estudando a concentração máxima permitida de glifosato nos rios do Brasil, Silva et al. (2019), encontraram um aumento significativo na massa dos ovários de peixes *Danio rerio* expostos ao glifosato por 15 dias. Além disso, houve aumento de Índice Gonadossomático (IGS), indicando um risco para a reprodução dos peixes.

Muitos autores usam glifosato, em diferentes concentrações, como controle positivo em testes de *A. cepa*. O controle positivo consiste na incubação de raízes de cebola em solução aquosa com substância de comprovada mutagenicidade, o que prevê o crescimento anormal das células meristemáticas, funcionando como parâmetro de ação genotóxica quando em comparação com a solução que se pretende estudar (DIAS et al., 2013)

Avaliando a citogenotoxicidade da água da cultura do arroz, após aplicação do fungicida triciclazol, Wandscheer et al. (2017) utilizaram glifosato na concentração 3%. Já Ubessi et al. (2019) e Rodrigues et al. (2020) avaliando extratos de camomila cultivada com homeopatia e *Myrocarpus frondosus*, respectivamente, utilizaram a concentração de 2%. Ao estudar a genotoxicidade de extratos da espécie *Luehea divaricata*, Frescura et al. (2012) encontraram 53 aberrações cromossômicas (Figura 2) no controle positivo com glifosato 3%. Entre as alterações, foi possível observar pontes durante as fases de anáfase e telófase. Também com glifosato 3%, Frescura et al. (2013b) estudando extratos vegetais medicinais de *Psychotria brachypoda* e *Psychotria birotula*, usados no Brasil, observaram 102 alterações, tais como cromossomos desorganizados, quebras cromossômicas e micronúcleos, conferindo ação genotóxica. Estudos de Hister et al. (2017), que avaliava uma espécie de *Rubus* sp, encontraram 15 alterações cromossômicas no controle positivo 1%. Já Tedesco et al. (2015), os quais avaliaram extratos aquosos de *Citrus sinensis*, não encontraram células em divisão, conferindo apenas efeito antiproliferativo ao glifosato na concentração 9,6%.

Figura 2: Setas indicam aberrações cromossômicas encontradas no controle positivo (glifosato 3%).



A- Célula em telófase com ponte; B- Célula em anáfase com ponte.
Fonte: Adaptada de Frescura et al. (2012).

2.4 TESTE *Allium cepa*.

O teste *Allium cepa* é aplicado para determinar o potencial genotóxico e antiproliferativo de plantas sendo utilizado como excelente bioindicador vegetal (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012). Este teste está validado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e existe correlação positiva do teste de *A. cepa* com outros tipos celulares, animais incluindo também humanos (HERRERO et al., 2012). O método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de *A. cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (CABRERA; RODRIGUES, 1999).

Segundo Christofolletti (2008), os testes de aberrações cromossômicas e micronúcleos em células de *A. cepa* mostraram-se eficientes para a avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos das águas de um ambiente lântico. Assim como Alvim et al. (2011) e Oliveira et al. (2011), que comprovaram a

citogenotoxicidade de efluentes têxteis e existência de um potencial genotóxico decorrente da presença de substâncias tóxicas na água do rio Paraíba do Sul, respectivamente.

Já os efeitos dos extratos aquosos de plantas medicinais têm sido relatados por vários autores, tais como Rossato et al. (2010), Frescura et al. (2012), Silva et al. (2014); Hister et al. (2017); Ubessi et al. (2019); Rodrigues et al. (2020) os quais observaram, nas espécies *Pluchea sagittalis*, *Luehea divaricata*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Rubus* sp., *Matricaria chamomilla* e *Myrocarpus frondosus*, a diminuição da proliferação celular da ponta das raízes de *Allium cepa* tratadas com diferentes concentrações. Algumas plantas, tais como *Phyllanthus niruri*, *Citrus sinensis* e *Peltodon longipes*, estudadas por Neves et al. (2014), Tedesco et al. (2015) e Kuhn et al. (2015a), demonstraram, além de efeito antiproliferativo, um número significativo de aberrações cromossômicas, conferindo potencial genotóxico. Muitos autores utilizam glifosato como controle positivo, tais como Tedesco et al. (2012), estudando extratos aquosos de *Mentha pulegium* L.; Trapp et al. (2016; 2020) analisando *Commelina erecta* e *Plectranthus barbatus*, respectivamente e, Pereira et al. (2019), avaliando extratos aquosos de cascas de *Handroanthus chrysotrichus*.

Alguns outros autores encontram mutações nos controles positivos, tais como Frescura et al. (2013a), que observaram alterações no glifosato 3%, avaliando extratos de *Psychotria brachypoda* e *Psychotria birotula*. Analisando extratos de *Allophylus edulis*, *Richardia brasiliensis* Gomes e *Sambucus australis*, todas com controle positivo 1%, Pasqualli et al. (2015), Dorneles et al. (2017) e Tedesco et al. (2017), encontraram alterações cromossômicas. Quando a concentração do controle positivo foi de 2% Gindri et al. (2015) e Hister et al. (2019), estudando *Urera baccifera* e *Psidium cattleianum* e encontraram, respectivamente, 59 e 45 alterações. Quando o glifosato utilizado foi de 2,5%, Trapp et al. (2015), avaliando *Prunus myrtifolia* encontraram oito alterações.

Conforme as concentrações de glifosato vão aumentando, também tem -se registros de alterações cromossômicas, tal como no estudo de *Campomanesia xanthocarpa* e *Punica granatum*, com glifosato 4,6% e 9,8%, onde Pastori et al. (2013) e Kuhn et al. (2015b) encontraram cromossomos quebrados, pontes e micronúcleos. Observando *Mikania cordifolia*, Dias et al. (2014) encontraram 70,5% e 53,5% de aberrações nos controles positivos com glifosato 10%. Já Pastori et al. (2015)

observaram, dentre outras alterações, células desorganizadas e cromossomos atrasados em estudos de *Polygonum punctatum*. Assim como Coelho et al. (2017), que utilizando a concentração de 15% em estudos de *Echinodorus grandiflorus* and *Sagittaria montevidensis*, também encontraram células desorganizadas e cromossomos perdidos.

O sistema teste vegetal *A. cepa* apresenta-se como um ideal bioindicador primário para testes em infusões de plantas medicinais devido ao seu baixo custo, confiabilidade e concordância com outros testes de genotoxicidade, auxiliando os estudos de prevenção de danos à saúde humana (BAGATINI et al., 2007; LESSA et al., 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CULTIVO DE *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni) E APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.

Na última semana do mês de Dezembro de 2020, as mudas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni), com cerca de trinta dias e trinta centímetros (cm), foram adquiridas no comércio local (Figura 3) e transplantadas em vasos de 3,5 L que continham compostos orgânicos. Esses compostos possuíam terra, esterco de aves, bagaço de cana, cascas de acácia, calcário, turfa e tanino. As plantas foram mantidas em aclimação por 6 dias em ambiente protegido (estufa) do Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (Labcitogen), Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) (Figura 4), recebendo apenas água à vontade. No sétimo dia as plantas foram divididas em cinco grupos com seis plantas cada, e, no Labcitogen, o glifosato Shadow, na concentração 48% foi diluído em 1 L de água destilada, para posterior aplicação nos grupos (Figura 5).

A tabela 1 demonstra a divisão dos grupos e o tratamento que cada um recebeu.

Figura 3: Mudanças de estêvia adquiridas em comércio local.



Fonte: Arquivo Pessoal, Santa Maria (RS), 2020

Figura 4: Mudanças de estêvia rebaudiana em período de aclimação.



Fonte: Arquivo Pessoal, Santa Maria (RS), 2020

Figura 5: Diluições do herbicida glifosato em 1 L de água destilada.



1- 2 mL de glifosato 48% diluído em 1 L de água destilada; 2- 1 mL de glifosato 48% diluído em 1 L de água destilada; 3- 0,5 mL de glifosato 48% diluído em 1 L de água destilada; 4- 0,25 mL de glifosato 48% diluído em 1 L de água destilada.

Fonte: Arquivo Pessoal, Santa Maria (RS), 2020.

Tabela 1 – Tratamento recebido por cada grupo.

Grupo	Tratamento
1	Testemunha (água à vontade)
2	20 mL de glifosato na diluição de 0,25 mL L ⁻¹
3	20 mL de glifosato na diluição de 0,5 mL L ⁻¹
4	20 mL de glifosato na diluição de 1 mL L ⁻¹
5	20 mL de glifosato na diluição de 2 mL L ⁻¹

Aos onze dias de cultivo, no período da tarde, as plantas, que tinham cerca quarenta cm, foram arrancadas com raiz e levadas ao Labcitogen, onde 3 plantas de

cada tratamento foram deixadas para secar naturalmente em cima das bancadas por cerca de 60 dias. Após, foram guardadas em sacos plásticos até o dia do experimento. As outras 3 foram armazenadas em sacos plásticos e mantidas em congelador, no mesmo laboratório.

3.2 ANÁLISE DA PROLIFERAÇÃO CELULAR E GENOTOXICIDADE PELO TESTE IN VIVO DE *Allium cepa*.

O experimento foi realizado em Agosto de 2021 no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria.

Para o preparo dos extratos as folhas de estévia foram pesadas, colocadas em água fervida e abafadas por 10 minutos (infusão). Foram utilizadas 1,5 g L⁻¹ e 3 g L⁻¹ de folhas frescas e secas. Em seguida, os extratos foram coados e resfriados à temperatura ambiente (Figura 6). Após, foram utilizados como tratamento nos bulbos de *A. cepa*.

Figura 6: Extratos aquosos de estévia utilizados como tratamento nos bulbos de *Allium cepa*.



Fonte: Arquivo pessoal, Santa Maria (RS), 2020.

O meristema das raízes de *A. cepa* foi utilizado para a avaliação das aberrações cromossômicas e para determinar os índices mitóticos. Na etapa inicial, 88 bulbos de cebola, adquiridos em uma feira realizada em Santa Maria/RS, tiveram suas raízes raspadas e foram colocadas para enraizar em copos plásticos, com cerca de 50 mL de água destilada, por sete dias.

Após o enraizamento, foram divididos em 22 grupos (tratamentos) (Tabela 2) cada um com quatro bulbos (repetições) para serem submetidos aos tratamentos por um período de 24 horas (Figura 7). A água destilada foi utilizada como controle negativo do experimento e, para o controle positivo, 31,25 mL L⁻¹ de glifosato, conforme citado por Souza et. al. (2010).

Tabela 2 – Tratamentos utilizados no teste *Allium cepa*.

Tratamentos
T1: Controle negativo (água destilada)
T2: Controle positivo (31,25 mL L ⁻¹ de glifosato (1, 5%))
T3: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia do grupo testemunha (água)
T4: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹
T5: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹
T6: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹
T7: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹
T8: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia do grupo testemunha (água)
T9: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹
T10: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹
T11: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹
T12: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹
T13: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia do grupo testemunha (água)

(continuação)

Tabela 2 – Tratamentos utilizados no teste *Allium cepa*.

Tratamentos
T14: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹
T15: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹
T16: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹
T17: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹
T18: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia do grupo testemunha (água)
T19: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹
T20: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹
T21: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹
T22: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹

Figura 7: Bulbos de *Allium cepa* submetidos aos tratamentos.

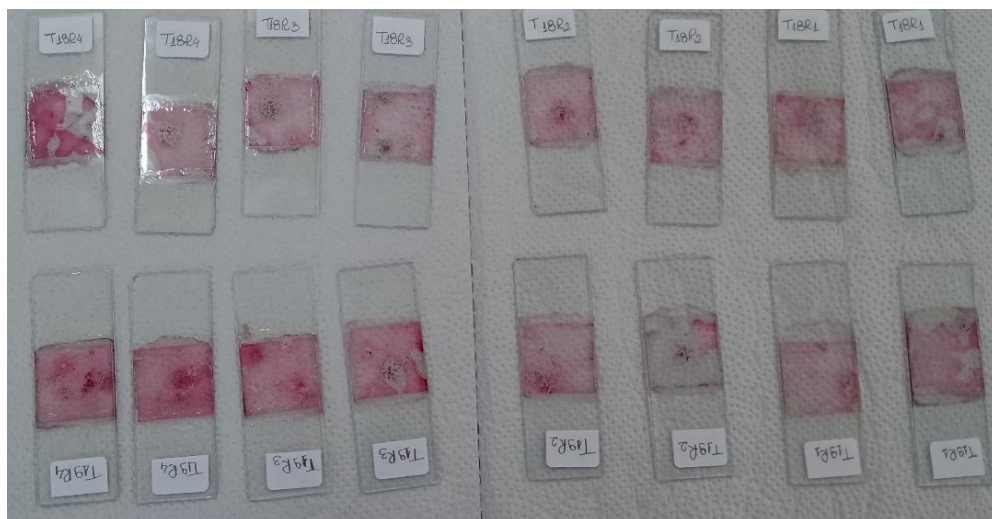


Da esquerda para direita encontram-se os tratamentos T1 ao T22.
 Fonte: Arquivo pessoal, Santa Maria (RS), 2020.

Decorrido o tempo de tratamento, as raízes foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1) por 24 horas e posteriormente armazenadas sob refrigeração em etanol 70% até a confecção das lâminas.

Na etapa seguinte, para o preparo das lâminas (Figura 8) as radículas foram hidrolisadas em HCl 1N por 5 minutos e, após, lavadas em água destilada. A região meristemática foi corada com uma gota deorceína acética 2% (segundo GUERRA; SOUZA, 2002), esmagada com auxílio de um pequeno bastão de vidro e sob o material, aplicada a lamínula de vidro. As lâminas foram observadas com auxílio de microscopia óptica em aumento de 40X e analisadas. No microscópio, foi feita a contagem total de células em divisão e interfase, então calculado o índice mitótico (IM) baseando-se na porcentagem de células em divisão. Para análise das lâminas, foram contadas 1000 células por bulbo, totalizando 4000 células por grupo de bulbos para cada um dos 22 tratamentos, totalizando 88.000 células analisadas. O índice mitótico pode ser obtido pela divisão do número de células em divisão pelo número total de células observadas multiplicado por 100, obtendo-se o valor do IM em porcentagem (%). Na análise, o potencial genotóxico foi relacionado à quantidade de alterações cromossômicas encontrados, tais como pontes anafásicas, cromossomos perdidos e micronúcleos.

Figura 8: Lâminas identificadas (T18 e T19), para análise em microscópio.



Fonte: Arquivo Pessoal, Santa Maria (RS), 2020.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado no experimento foi o inteiramente casualizado (DIC) com 4 repetições. Os resultados obtidos pelo teste de *Allium cepa* foram avaliados pelo teste Qui- quadrado (χ^2), através do software BioEstat versão 5.3 (AYRES, 2007), com margem de erro de 5%.

Para a análise das alterações cromossômicas, foi considerado que cada lâmina avaliada representou uma repetição. Assim, dentro de cada tratamento teve-se a avaliação de oito lâminas. Os dados relacionados as alterações cromossômicas foram analisados pela análise de variância e teste de comparação de médias por Scott & Knott (1974) em nível de 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TESTE *Allium cepa* L.

4.1.1 Capacidade antiproliferativa dos extratos aquosos de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni).

O ciclo celular foi analisado no sistema *in vivo* de *Allium cepa* e os resultados obtidos referentes ao número total de células analisadas, interfase, divisão celular e os índices mitóticos (IM) de cada tratamento estão apresentados na Tabela 3.

Com base no IM, podemos observar que o T4 não diferiu do controle negativo (T1), porém, diferiu significativamente de todos os outros tratamentos. O controle negativo (água) (T1), com IM= 4,6% diferiu significativamente do controle positivo (glifosato 1,5%) (T2), com IM= 1,5%, demonstrando diminuição de divisões celulares. Quando comparados, os tratamentos T21 e T22 apresentaram o mesmo IM encontrados no controle positivo (T2) (IM=1,6%). Apenas T18 e T19 apresentaram IM= 1,5%, inferior ao encontrados em T2 e não diferiram significativamente.

As concentrações de 1,5 g L⁻¹ de folhas frescas de estévia do grupo testemunha (T3) diferiram significativamente de todos os outros tratamentos, com exceção de T4,

que obteve o mesmo IM= 6,2%. Os tratamentos T5; T8; T9; T15; T16; T17 e T20 não diferiram significativamente entre si. Os IM variaram de 2,3% (T20) a 45% (T9). Também não diferiram entre si os tratamentos T6; T7; T12; T13 e T14. Os IM tiveram uma variação 3,7% (T14) a 4,1% (T13). O tratamento T11 diferiu de todos os demais tratamentos.

Em comparação com a água (IM= 4,6%), T8, T13 e T18 demonstraram uma significativa redução da proliferação celular, com exceção de T3, que apresentou IM= 6,2%. Quando comparado as plantas frescas do grupo testemunha, é possível observar que o T3 (IM= 6,2%) e T8 (IM= 3,3%) diferiram significativamente e mostraram que, conforme o aumentou a concentração de folhas frescas, houve diminuição do IM. O mesmo ocorreu nas plantas secas, onde T13 e T18 (IM= 1,5%), também diferiram entre si e houve diminuição do IM. Com exceção do tratamento T10 (IM= 6,2%), todos os demais tratamentos em que as folhas, frescas ou secas, de *Stevia* receberam aplicações de glifosato, mostraram diminuição significativa das divisões celulares em comparação com o controle positivo (T1) (IM= 4,6%) (Tabela 3).

Tabela 3 - Número de células meristemáticas de *Allium cepa* analisadas em interfase, em divisão e os índices mitóticos (IM) dos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni).

Tratamentos	Total de células analisadas	Células em interfase	Células em divisão	Índice mitótico (%)
T1: Controle negativo (água destilada)	4000	3816	184	4,6 b
T2: Controle positivo (31,25 mL L ⁻¹ de glifosato (1, 5%))	4000	3936	64	1,6 f
T3: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estêvia do grupo testemunha (água)	4000	3753	247	6,2 a
T4: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estêvia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	4000	3808	192	4,8 b
T5: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estêvia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	4000	3877	123	3,0 d
T6: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estêvia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	4000	3844	156	3,9 c

(continuação)

Tabela 3 - Número de células meristemáticas de *Allium cepa* analisadas em interfase, em divisão e os índices mitóticos (IM) dos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni).

Tratamentos	Total de células analisadas	Células em interfase	Células em divisão	Índice mitótico (%)
T7: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	4000	3844	156	3,9 c
T8: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia do grupo testemunha (água)	4000	3867	133	3,3 d
T9: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	4000	3862	138	3,45 d
T10: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	4000	3753	247	6,2 a
T11: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	4000	3897	103	2,5 e
T12: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	4000	3837	163	4,0 c
T13: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia do grupo testemunha (água)	4000	3836	164	4,1 c
T14: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	4000	3851	149	3,7 c
T15: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	4000	3881	119	2,9 d
T16: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	4000	3885	115	2,8 d
T17: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	4000	3878	122	3,0 d
T18: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia do grupo testemunha (água)	4000	3939	61	1,5 f
T19: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	4000	3939	61	1,5 f
T20: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	4000	3905	95	2,3 d
T21: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de Stevia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	4000	3929	71	1,6 f
T22: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de Stevia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	4000	3935	65	1,6 f

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de χ^2 em nível de 5% de probabilidade de erro.

Os resultados encontrados corroboram com estudos de Pereira et al. (2019), que também encontraram efeito antiproliferativo no controle positivo 1,5%, avaliando extratos aquosos de cascas de *Handroanthus chrysotrichus* pelo teste de *Allium cepa*. Em trabalhos semelhantes, com glifosato em concentrações de 1%, 2%, 2,5% e 3%, Dorneles et al. (2017), Rodrigues et al. (2019), Trapp et al. (2015) e Frescura et al. (2012), também encontraram diminuição celular, aferindo extratos aquosos de *Richardia brasiliensis*, *Myrocarpus frondosus*, *Prunus myrtifolia* e *Luehea divaricata*, respectivamente.

Muitos autores também observaram efeito antiproliferativo (citotóxico) sob o teste de *A. cepa*, tais como Rossato et al. (2010), em infusões de *Pluchea sagittalis* cultivadas em campo, nas concentrações de 2,5 g dm⁻³; 5 g dm⁻³ e 25g dm⁻³. Assim como Frescura et al. (2012) e Coelho (2013), os quais também observaram esse efeito em extratos de folhas (6 g L⁻¹ e 30 g L⁻¹) e cascas (32 g L⁻¹ e 160 g L⁻¹) de *Luehea divaricata* e extratos de *Echinodorus grandiflorus* e *Sagittaria montevidensis* nas concentrações de 6 g L⁻¹ e 24 g L⁻¹. Assim como os extratos aquosos de estévia, os extratos de folhas secas e frescas de *Rubus* sp também possuem efeito antiproliferativo (HISTER et al.,2017), assim como extratos de folhas secas de *Origanum majorana* L. (BALDONI, 2017) e extratos aquosos de *Phyllanthus tenellus* sob condições distintas de luminosidade (PEREIRA, 2020)

De acordo com a Tabela 3, é possível observar que, conforme a concentração do extrato aquoso de folhas secas e frescas aumentou, houve diminuição do índice mitótico, o que também ocorreu nas maiores concentrações (16 g L⁻¹) de extratos aquosos de folhas frescas e secas de *Allophylus edulis* (PASQUALLI et al., 2015). O mesmo foi encontrado por Coelho et al. (2017), onde a maior concentração, 24 g L⁻¹, do extrato aquoso de *Echinodorus grandiflorus*, inibiu a proliferação e a concentração de 6 g L⁻¹ estimulou a divisão celular. O mesmo comportamento foi encontrado por Frescura (2012) nos extratos aquosos de *Psychotria brachypoda* nas concentrações de 5 g L⁻¹ e 20 g L⁻¹ e Frescura et al. (2012), nos extratos aquosos extratos de folhas (6 g L⁻¹ e 30 g L⁻¹) e cascas (32 g L⁻¹ e 160 g L⁻¹) de *Luehea divaricata*.

Segundo Coelho (2013), alguns compostos podem ser responsáveis pela inibição celular. A estévia possui os compostos pirogalol, ácido 4-metoxibenzóico, ácido p-cumárico, 4-metilcatecol, ácidos sinápico, cinâmico (KIM et al., 2011) e os edulcorantes esteviosídeo e rebaudiosídeo A (BONDAREV et al., 2001). Esses

compostos atribuem propriedades antibacteriana, antissépticas, anti-inflamatória (HOSSAIN et al., 2017) e contraceptivas (NUNES; PEREIRA, 1988; MELLIS, 1999; HOSSAIN et al., 2017) a espécie e, podem ser responsáveis pela ação antiproliferativa em altas concentrações.

Os extratos tratados com diluições de glifosato apresentaram índices mitóticos menores que o controle negativo (água), demonstrando ação citotóxica, o que, pode ter sido efeito do herbicida. Estudos de herbicidas utilizados na agricultura sob o teste de *A. cepa*, vem sendo relatado por Krüger (2009), o qual analisou os agrotóxicos glifosato, fention, betaciflutrina e mancozeb e todos reduziram as divisões celulares, incluindo o glifosato nas concentrações de 20 $\mu\text{L L}^{-1}$, 15 $\mu\text{L L}^{-1}$, 10 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 5 $\mu\text{L L}^{-1}$. O número de divisões foi tão baixo, que impossibilitou as análises das fases do ciclo celular, obrigando a ser feito um segundo experimento nas concentrações de 1 $\mu\text{L L}^{-1}$, 2 $\mu\text{L L}^{-1}$, 3 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 4 $\mu\text{L L}^{-1}$, que também apresentaram efeito citotóxico. O herbicida trifluralina também avaliado pelo teste *A. cepa* mostrou significativa redução dos índices mitóticos nas concentrações de 0,84 ppm; 1,67 ppm e 3,34 ppm (FERNANDES, 2005). Barzotto et al. (2017), encontraram citotoxicidade nas concentrações 130 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 260 $\mu\text{L L}^{-1}$ de glifosato. Segundo Santos (2020), o herbicida clethodim apresentou inibição do crescimento radicular em todas as concentrações utilizadas (1,92 g L^{-1} , 0,96 g L^{-1} , 0,48 g L^{-1} , 0,24 g L^{-1} , 0,12 g L^{-1} , e 0,06 g L^{-1}).

4.1.2 Genotoxicidade dos extratos aquosos de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni)

As alterações cromossômicas estão apresentadas no valor total encontrado em cada tratamento avaliado e na média de cada tratamento (Tabela 4). Em relação ao teste de médias houve diferença significativa entre os tratamentos, formando dois grupos. O T3 demonstrou o maior número de alterações (34) entre todos os tratamentos, porém não diferiu de T10, T8, T14, T12, T7, T6, T13, T16, T9, T17 e T11. Todos esses tratamentos apresentaram os maiores valores em relação ao número de alterações. Já os demais tratamentos não diferiram da água, com menores valores de alterações celulares, os quais correspondem entre 3 a 20 alterações. O número de irregularidades teve uma variação de 3 (T19) até 34 (T3) alterações celulares.

Conforme a Tabela 4, observa-se que o controle positivo (T1) apresentou 64 alterações cromossômicas, porém não diferiu significativamente da água (T2). Em estudos de *Allophylus edulis* (PASQUALLI et al., 2015), *Prunus myrtifolia* (TRAPP et al., 2015) e *Luehea divaricata* (FRESCURA et al., 2012) em que o glifosato foi usado como controle positivo nas concentrações de 1%, 2,5% e 3%, respectivamente, foram encontrados 4, 8 e 53 alterações, porém, essas diferiram do controle negativo.

Tabela 4 - Número de células meristemáticas de *Allium cepa* analisadas em interfase, em divisão e as alterações cromossômicas dos controles e tratamentos de extratos aquosos das folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni).

Tratamentos	Total de células analisadas	Células em divisão	Total de alterações	Média
T1: Controle negativo (água destilada)	4000	184	0	0,00 b
T2: Controle positivo (31,25 mL L ⁻¹ de glifosato (1, 5%))	4000	64	13	1,75 b
T3: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia do grupo testemunha (água)	4000	247	34	4,38 a
T4: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	4000	192	20	1,88 b
T5: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	4000	123	15	1,88 b
T6: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	4000	156	22	2,75 a
T7: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	4000	156	25	3,00 a
T8: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia do grupo testemunha (água)	4000	133	27	3,25 a
T9: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	4000	138	19	2,36 a
T10: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	4000	247	26	3,36 a
T11: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	4000	103	20	2,25 a
T12: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	4000	163	24	3,00 a

(continuação)

Tabela 4 - Número de células meristemáticas de *Allium cepa* analisadas em interfase, em divisão e as alterações cromossômicas dos controles e tratamentos de extratos aquosos das folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni).

Tratamentos	Total de células analisadas	Células em divisão	Total de alterações	Média
T13: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia do grupo testemunha (água)	4000	164	21	2, 64 a
T14: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	4000	149	28	3, 12 a
T15: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	4000	119	13	1, 63 b
T16: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	4000	115	20	2, 50 a
T17: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	4000	122	19	2, 38 a
T18: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia do grupo testemunha (água)	4000	61	11	1, 50 b
T19: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	4000	61	3	0,38 b
T20: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	4000	95	14	1, 88 b
T21: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de Stevia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	4000	71	10	1, 25 b
T22: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de Stevia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	4000	65	9	1, 13 b

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott & Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

No extrato aquoso de 3 g L⁻¹ de folhas secas de estévia (T18) foram encontradas 11 alterações cromossômicas, porém não diferiu significativamente do controle negativo (água destilada) (T1). Nos demais extratos aquosos de estévia que receberam apenas água foram observados 34, 27 e 21 alterações, as quais diferiram significativamente do controle negativo, sendo conferido a eles, potencial genotóxico. Entre as alterações observados, estão células desorganizadas, quebras cromossômicas, cromossomos atrasados e pontes cromossômicas demonstrados na Tabela 5 e Figura 9.

Considerando o potencial genotóxico apresentado pelos extratos de folhas frescas e secas de estévia que receberam somente água, tem-se que o maior valor de alterações cromossômicas exibidas no grupo testemunha com concentração de 1,5 g L⁻¹ representa 0,85% do total de células analisadas, o qual pode ser considerado baixo, pois é menor que 1%. Por outro lado, se forem consideradas apenas as células em divisão, o potencial genotóxico chega a 13,76% e na concentração de 3 g L⁻¹ fica acima de 20%.

Tabela 5 - Alterações cromossômicas encontradas nos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni).

Tratamentos	MN*	CD	P*	CR*	Q*	Total
T1: Controle negativo (água destilada)	0	0	0	0	0	0
T2: Controle positivo (31,25 mL L ⁻¹ de glifosato (1, 5%))	1	11	0	0	1	13
T3: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia do grupo testemunha (água)	0	23	0	0	11	34
T4: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	0	12	4	3	1	20
T5: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	1	13	0	1	0	15
T6: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	0	21	0	0	1	22
T7: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	0	24	0	0	1	25
T8: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia do grupo testemunha (água)	0	27	0	0	0	27
T9: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	0	19	0	0	0	19
T10: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	0	26	0	0	0	26
T11: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	0	20	0	0	0	20
T12: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas frescas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	0	24	0	0	0	24
T13: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia do grupo testemunha (água)	0	18	3	0	0	21

(continuação)

Tabela 5 - Alterações cromossômicas encontradas nos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni).

Tratamentos	MN*	CD*	P*	CR*	Q*	Total
T14: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	0	28	0	0	0	28
T15: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	0	13	0	0	0	13
T16: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	0	20	0	0	0	20
T17: Extrato de 1, 5 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	0	19	0	0	0	19
T18: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia do grupo testemunha (água)	0	11	0	0	0	11
T19: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 25 mL L ⁻¹	0	3	0	0	0	3
T20: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de estévia tratadas com glifosato 0, 5 mL L ⁻¹	0	14	0	0	0	14
T21: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de Stevia tratadas com glifosato 1 mL L ⁻¹	0	10	0	0	0	10
T22: Extrato de 3 g L ⁻¹ de folhas secas de Stevia tratadas com glifosato 2 mL L ⁻¹	0	9	0	0	0	9

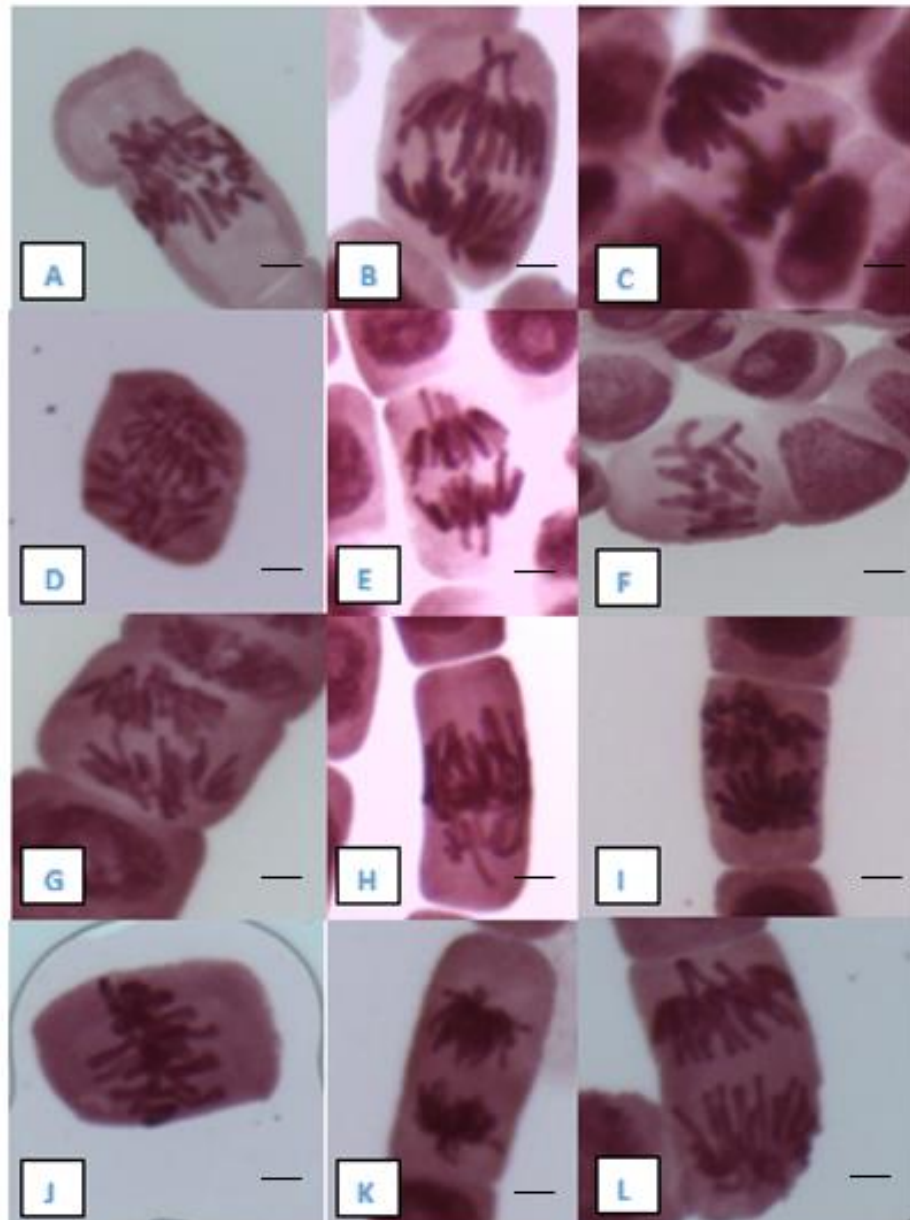
MN = Micronúcleo; CD = Células desorganizadas; P* = Ponte; CR* = Cromossomos retardatários; Q* = Quebras.

O mesmo comportamento genotóxico foi encontrado nos extratos aquosos de folhas secas de duas populações de *Citrus sinensis* nas concentrações de 6 g L⁻¹ e 24 g L⁻¹ (TEDESCO et al., 2015), extratos aquosos de folhas de *Campomanesia xanthocarpa* nas concentrações de 6 mg mL⁻¹ e 30 mg mL⁻¹ (PASTORI et al., 2013), extratos aquosos de folhas de *Peltodon longipes* nas concentrações de 5 g L⁻¹ e 15 g L⁻¹ (KUHN et al., 2015a) e nos extratos aquosos de folhas frescas de malva-santa/boldo (*Plectranthus barbatus*) (BEZERRA et al. 2016; FROTA et al., 2019).

A estévia apresentou mais alterações cromossômicas nas menores concentrações, o que também foi observado em *Eugenia uniflora* nas concentrações de 6 g L⁻¹ e 24 g L⁻¹ (KUHN et al., 2015c), em 5 g L⁻¹ e 20 g L⁻¹ de *Psychotria brachypoda* (FRESCURA, 2012), em 6 g dm⁻³ e 24 g dm⁻³ de duas populações de

Echinodorus grandiflorus (COELHO, et al., 2017) e em extratos de *Polygonum punctatum* nas concentrações de $0,4 \text{ g mL}^{-1}$ e $2,4 \text{ g mL}^{-1}$.

Figura 9: Alterações cromossômicas encontradas nos extratos aquosos de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni) que receberam apenas água.

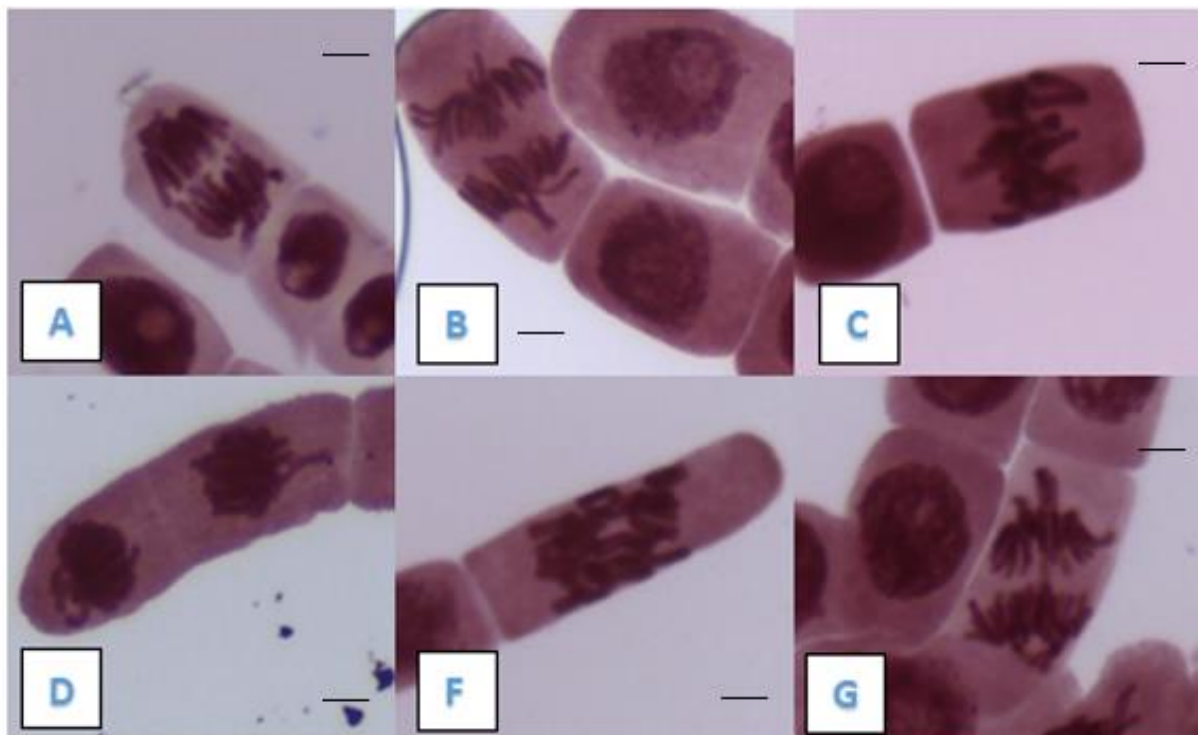


Células com alterações cromossômicas encontradas nos extratos de $1,5 \text{ g L}^{-1}$ e 3 g L^{-1} de folhas secas e frescas de estêvia que receberam apenas água. A- Cromossomos quebrados. B- Ponte cromossômica e cromossomos atrasados. C- Ponte cromossômica. D- Cromossomos desorganizados. E- Ponte cromossômica e cromossomos atrasados. F- Cromossomos quebrados. G- Ponte cromossômica e cromossomos quebrados. H, I- Cromossomos desorganizados. J- Cromossomos quebrados. K, L- Cromossomos atrasados. Escala = $10 \mu\text{m}$.

Fonte: Arquivo pessoal, Santa Maria (RS), 2020.

Os extratos aquosos que receberam as diluições do glifosato apresentaram alterações cromossômicas, porém, nem todos diferiram significativamente do controle negativo. Nas folhas frescas (Figura 10) foi observado uma maior quantidade de diferenças significativas, sendo eles o T6, T7, T9, T10, T11 e T12, os quais apresentaram respectivamente, 22, 25, 19, 26, 20 e 24 alterações e foram considerados genotóxicos. Nas folhas secas (Figura 11), somente três extratos diferiram significativamente e considerados genotóxicos, o T14, T16 e T17, os quais apresentaram, respectivamente, 28, 20 e 19 alterações.

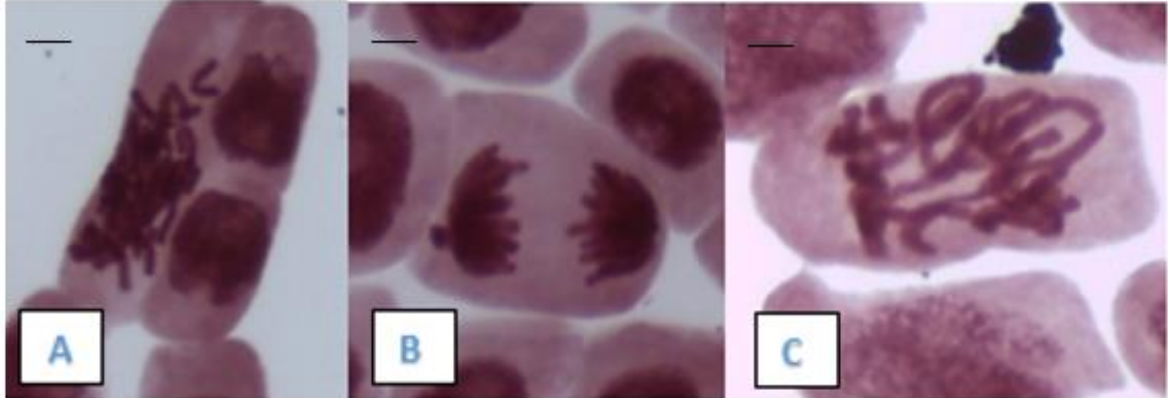
Figura 10: Alterações cromossômicas encontradas nos extratos de folhas frescas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni) que receberam glifosato.



Células com alterações cromossômicas encontradas nos extratos de 1,5 g.L⁻¹ e 3 g.L⁻¹ de folhas frescas que receberam glifosato. A- Micronúcleo. B- Cromossomos retardatários. C- Cromossomo quebrado. D- Cromossomos retardatários. F- Cromossomos desorganizados. G- Ponte cromossômica e cromossomos atrasados. Escala = 10 µm.

Fonte: Arquivo Pessoal, Santa Maria (RS), 2020.

Figura 11: Alterações cromossômicas encontradas nos extratos de folhas secas de *Stevia rebaudiana Bertoni* (Bertoni) que receberam glifosato.



Células com alterações encontradas nos extratos de $1,5 \text{ g L}^{-1}$ de folhas secas que receberam glifosato. A- Cromossomos desorganizados e quebra cromossômica. B- Micronúcleo. C- Cromossomos desorganizados.

Fonte: Arquivo Pessoal, Santa Maria (RS), 2020

Os herbicidas vêm sendo estudados pelo teste de *A. cepa* e são considerados potencialmente genotóxicos, podendo ser o causador desse efeito nos extratos. Sob o teste de *A. cepa*, Krüger (2009), encontrou potencial genotóxico em fention, betaciflutrina, mancozeb e glifosato. Nas concentrações de $1 \mu\text{L/L}$, $2 \mu\text{L/L}$, $3 \mu\text{L/L}$ e $4 \mu\text{L/L}$ do glifosato, foi encontrada alterações celulares significativas, e, nas duas maiores concentrações, ocorreu aumento nas pontes cromossômicas e cromossomos retardatários. Barzotto et al. (2017), também encontraram genotoxicidade nas concentrações de $130 \mu\text{l/L}$ e $260 \mu\text{l/L}$ de glifosato. O herbicida flumioxazina foi considerado genotóxico nas concentrações de $0,5 \text{ g/L}$ e $1,0 \text{ g/L}$ (PARVAN et al., 2020). Já o herbicida trifluralina, nas concentrações de $0,42$; $0,84$ e $1,67 \text{ ppm}$, foi considerado mutagênico para *allium cepa* e a concentração de $3,34 \text{ ppm}$ foi considerada tóxica.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que, o teste *Allium cepa* é um método eficiente para detectar ações citotóxicas e genotóxicas e, neste estudo, foi possível observar que os extratos aquosos na concentração 3 g L^{-1} de folhas frescas e $1,5 \text{ g L}^{-1}$ e 3 g L^{-1} de folhas secas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Bertoni) apresentaram potencial antiproliferativo, assim como os extratos aquosos provenientes dos tratamentos com glifosato, com exceção de 3 g L^{-1} , que recebeu $0,5 \text{ mL L}^{-1}$.

Em relação a genotoxicidade, os extratos aquosos na concentração de $1,5 \text{ g L}^{-1}$ e 3 g L^{-1} de folhas frescas e $1,5 \text{ g L}^{-1}$ de folhas secas de estévia, demonstram potencial genotóxico, assim como os extratos aquosos oriundos dos tratamentos com glifosato nas concentrações de $1,5 \text{ g L}^{-1}$, 3 g L^{-1} de folhas frescas e $1,5 \text{ g L}^{-1}$ de folhas secas.

A ação antiproliferativa pode estar relacionada a ação genotóxica da estévia, pois conforme o aumento da concentração das folhas frescas e secas, menor o número de alterações cromossômicas encontradas.

Os extratos aquosos provenientes dos tratamentos de glifosato apresentaram alterações cromossômicas, porém não diferiram do controle negativo (água). Foi observado que as plantas de estévia que receberam apenas água apresentaram a maior média de alterações cromossômicas, porém, considerando o total de células analisadas, esse valor é menor que 1%, portanto, considerado de baixa genotoxicidade.

Existem poucos trabalhos sobre os efeitos do glifosato aplicado em estévia, portanto o resultado dessa pesquisa pode ser utilizado para auxiliar futuros estudos nessa área.

Salienta-se que estudos fitoquímicos são necessários, para avaliar se os efeitos genotóxicos dos extratos que receberam glifosato são causados pelo herbicida ou pelos metabólitos secretados pelas plantas.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ L. A., CASACCIA R., LÓPEZ, G. **Producción de Ka´a He´e**. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Subsecretaria de Estado de Agricultura. 3º Edición, Asunción, p. 2-33, 1996.
- ALVIM, L. B. et al. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L.. **Ambiente e Água**, Taubaté, v. 6, n. 2, p. 255-265, 2011.
- AMARANTE JUNIOR, O.P. et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, [s.l.] v. 25, n. 4, p. 17-25, jul. 2002.
- AYRES, M et al. **BioEstat 5.3: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. 5. ed. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília: MCT/CNPq, 2007.
- BADKE, M. R. et al. Plantas Medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular [Medicinal Plants: popular knowledge in sustained daily practice]. **Esc Anna Nery**, [s.l.], v.15, n. 1, p. 132–139, jan/mar. 2011.
- BAGATINI, M. D; SILVA, A. C. F; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.] v. 17, n.3, p.444-447, jul/set. 2007.
- BALDONI, M. B. **Genotoxicidade, atividade proliferativa e análise fitoquímica dos extratos aquosos e do óleo de *Origanum majorana* L.** 2017. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 2017.
- BARZOTTO, A. C.; VANINI, J.; BUSIN, C. S. Avaliação da genotoxicidade e citotoxicidade do Glifosato em *Allium cepa*. In Seminário: **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 38, n. 1, supl 1, p. 98, maio/jun. 2017.
- 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**, [s.l.], v. 13, n. 3, p. 220-228, 2016.
- BONDAREV, N.; RESHETNYAK, O.; NOSOV, A. Peculiarities of diterpenoid steviol glycoside production in vitro culture of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Plant Science**, [s.l.] n. 161, p. 155 -163, jun. 2001.
- CABRERA, G. L.; RODRIGUES, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research**, [s.l.], 426: 211-214, 1999.
- CAPONIO, I. et al. Aspectos de la biología reproductiva de *Stevia rebaudiana* (Asteraceae). **Bonplandia**, [s.l.], v. 25, n. 1, p. 59-72, 2016.

CHRISTOFOLETTI, C. A. **Avaliação dos Potenciais Citotóxico, Genotóxico e Mutagênico das águas de um Ambiente Lêntico, por meio dos sistemas-teste de *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus***. 2008. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Biologia Celular e Molecular) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. Rio Claro, SP. 2008.

COELHO, A. P. D. et al. Genotoxic and antiproliferative potential of extracts of *Echinodorus grandiflorus* and *Sagittaria montevidensis* (Alismataceae). **Caryologia**, [s.l.], v. 70, n. 1, p. 82-91, 2017.

COELHO, A. P. D. **Potencial genotóxico e antiproliferativo dos extratos de *Echinodorus grandiflorus* e *Sagittaria montevidensis* (Alismataceae)**. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2013.

CRUZ, M. M. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Una revisión. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 36, supl. 1, p. 5-15, 2015.

DIAS, M. G. et al. Efeito genotóxico e antiproliferativo de *Mikania cordifolia* (L. F.) Willd. (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 202-208, 2014.

DIAS, N. S. et al. Estudo dos Efeitos Mutagênicos e Citotóxicos do Confrei (*Symphytum officinale*) no ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, [s.l.], v. x, n. 3, p. 20 - 29, 2013.

DORNELLES, R. C. et al. Antiproliferative and genotoxic potential from extracts and fractions of *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae) by the *Allium cepa* L. test system. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 72, n. 3, p. 424-431, 31 dez. 2017.

FERNANDES, T. C. C. **Investigação dos efeitos tóxicos, mutagênicos e genotóxicos do herbicida trifluralina, utilizando *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus* como sistemas-testes**. 2005. 211 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Biologia Celular e Molecular) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. Rio Claro, SP. 2005.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FREDERICO, A. P. et al. Chromosome studies in some *Stevia* Cav. (Compositae) species from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Genetics**, [s.l.] v.19, n.4, p. 605-609, 1996.

FRESCURA, V. D. S. **Avaliação do potencial antiproliferativo, genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Briton e *Psychotria birotula* Smith & Downs (Rubiaceae)**. 2012. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. 2012.

FRESCURA, V. D. S. et al. **Evaluation of the allelopathic, genotoxic, and antiproliferative effect of the medicinal species *Psychotria brachypoda* and**

***Psychotria birotula* (Rubiaceae) on the germination and cell division of *Eruca sativa* (Brassicaceae).** *Caryologia*, [s.l.], v. 66, n. 2, p. 138–144, 2013a.

FRESCURA, V. D. S. et al. Post-treatment with plant extracts used in Brazilian folk medicine caused a partial reversal of the antiproliferative effect of glyphosate in the *Allium cepa* test. **BIOCELL**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 23-28, 2013b.

FRESCURA, V. D. S.; LAUGHINGHOUSE, H. D.; TEDESCO, S. B. Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Luehea divaricata* on the *Allium cepa* cell cycle. **Caryologia**, [s.l.], v. 65, n. 1, p.27-33, mar. 2012.

FRONZA, D.; FOLEGATTI, M. V. Water consumption of the estevia (*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni) crop estimated through microlysimeter. **Scientia Agricola**, [s.l.], v. 60, n. 3, p. 595- 599, jul/set. 2003.

FROTA, R. G. et al. Citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade da infusão de *Plectranthus barbatus* – Lamiaceae (malva-santa) avaliados pelo sistema teste *Allium cepa*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 18, n. 1, p. 67-72, jan/abr. 2019.

FUNK, V. A. et al. (eds.). **Systematics, evolution, and biogeography of the Compositae**. IAPT, Vienna. Cap 11, p. 171-189. 2009.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na Agricultura**. ACADCOM Gráfica e Editora Ltda. 67p. 2005.

GARCÍA, Y. S. et al. Caracterización de un cultivar de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Asteraceae-Eupatorieae) a partir de morfología vegetativa, reproductiva y morfoanatomía foliar. **Revista de Investigación**, Caracas, v .41, n. 92, 2017.

GIAQUINTO, P. C. et al. Effects of Glyphosate-Based Herbicide Sub-Lethal Concentrations on Fish Feeding Behavior. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [s.l.], v. 98, p.460-464, 2017.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, [s.l.], v. 167, p.35–120, 2000.

GINDRI, A. L. et al. Genotoxic evaluation of infusions of *Urera baccifera* leaves and roots in *Allium cepa* cells. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, [s.l.], v. 3, n. 2, p. 51-58, 2015.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002, 131p.

HERRERO, O. et al. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research**, [s.l.], v. 743, p. 20-14, mar. 2012.

HISTER, C. A. L. et al. Atividade antiproliferativa e determinação dos compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus* sp.) pelo sistema teste *in vivo* de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 15, n. 1, jan/mar. 2017.

HISTER, C. A. L. et al. Determinação de compostos fenólicos e avaliação do potencial genotóxico e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). **Caderno de Pesquisa**, Santa Cruz do Sul, v. 31, n. 1, p. 17-30, jan/abr. 2019.

HOSSAIN, M. F. et al. Cultivation and uses of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): a review. **African Journal Of Food Agriculture, Nutrition and Development**, [s.l.], v. 17, n. 4, p. 12745-12757, nov. 2017

KHIRAOUI, A. et al. Antioxidant Ability, Total phenolic and Flavonoid contents of Leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni Cultivated in Morocco, **International Journal of Scientific & Engineering Research**, [s.l.] 9 (5): 1585-1590, mai. 2018

KHIRAOUI, A. et al. Nutritional and biochemical properties of natural sweeteners of six cultivars of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves grown in Morocco. **Journal of Materials and Environmental Sciences**, [s.l.], v. 8, n. 3, p.1015-1022, 2017

KIM, D. et al. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. **LWT – Food Science and Technology**, [s.l.] v. 44, p. 1328–1332, 2011.

KRÜGER, R. A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. 2009. 58 f. Dissertação (Mestre em Qualidade Ambiental). Centro Universitário Feevale. Novo Hamburgo, RS, 2009.

KUHN, A. W. et al. Genotoxic and chromatographic analyses of aqueous extracts of *Peltodon longipes* Kunth ex Benth. (hortelã-do-campo). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, São Paulo, v. 51, n. 3, p. 533-540, jul/set. 2015a.

KUHN, A. W. et al. Chromatographic analysis and antiproliferative potential of aqueous extracts of *Punica granatum* fruit peels using the *Allium cepa* test. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 51, n. 1, p. 241-248, jan/mar. 2015b.

KUHN, A. W. et al. Mutagenic and antimutagenic effects of *Eugenia uniflora* L. by the *Allium cepa* L. test. **Caryologia**, v. 68, n. 1, p. 25–30, 2015c.

LEMUS-MONDACA, R. et al. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 132, p.1121–1132, 2012.

LESSA, L. R.; SILVA, M. C. C.; CARIELLO, F. M. R.; Fundamentos e aplicações do *Allium cepa* L. como bioindicador de mutagenicidade e citotoxicidade de plantas medicinais. **Revinter**, [s.l.], v. 10, n. 03, p. 39-48, out. 2017.

LIMA FILHO, O. F.; VALOIS, A. C. C.; LUCAS, Z. M. (Ed.). **Estévia**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Steviafarma Industrial S/A, (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de Produção, 5), p. 1-59, mar. 2004.

MARIA, M. A. et al. Avaliação da concentração de efeito do glifosato para controle de *Eichhornia crassipes* e *Salvinia* sp. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [s.l.] v. 23, n. 5, p. 881-889, set/out. 2018.

MARTINS, P. M. et al. Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. [s.l.], v. 27, p.510–518, 2017.

MELIS, M. S. Effects of chronic administration of *Stevia rebaudiana* on fertility in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. [s.l.], v. 67, n. 2, p. 157-161, nov.1999.

MONTANA, M. M. Processo Internacional pelos danos socioambientais causados a Equador pelo uso do Glifosato no combate de cultivos ilícitos na Amazônia Colombiana. **Revista Eletrônica do Curso de Direito - UFSM**, [s.l.], p. 342-355, 2012.

MOURA, R. L. et al. O efeito terapêutico da Camomila (*Matricaria recutita* L.). **International Journal of Nutrology**, [s.l.], v. 11, 2018.

NAKAJIMA, J.; GUTIÉRREZ, D.G. 2020. *Stevia* in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB16310>>. Acesso em: 29 jun. 2021

NEVES, S. B. E. et al. Action of aqueous extracts of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves on meristematic Root cells of *Allium cepa* L. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, [s.l.], v. 86, n. 3, p. 1131-1136, 2014.

NUNES, B. A. P.; PEREIRA, N. A. Influência do chá da caã-heê, *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni, sobre o peso dos órgãos sexuais isolados de camundongos jovens. **Supl. Acta amazônica**, Manaus, 18(1-2): 181-185, 1988.

OLIVEIRA, M. L.; VOLTOLINI, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. **Ambiente e Água**, Taubaté, v. 6, n. 1, p. 90- 103, 2011.

PARVAN, L. G. et al. Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 11, p.1-0, 2020.

PASQUALLI, M.; TEDESCO, M.; TEDESCO, S. B. Potencial Antiproliferativo e Genotóxico de Extratos de *Allophylus edulis* (A.St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk. Pelo Teste De *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 2365-2372, 2015.

PASTORI, T. et al. Ação genotóxica e antiproliferativa de *Polygonum punctatum* Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 186-194, 2015.

PASTORI, T. et al. Genotoxic effects of *Campomanesia xanthocarpa* extracts on *Allium cepa* vegetal system. **Pharmaceutical Biology**, [s.l.], v. 10, n. 10, p. 1249–1255, 2013.

PEREIRA, D. O. et al. Micropropagación de *Stevia rebaudiana* Bertoni, un cultivo promisorio para México. **BioTecnología**. [s.l.], v. 19, n. 2, p.14-27, 2015.

PEREIRA, J. S. P. et al. Potencial Antiproliferativo de Extratos Aquosos de cascas de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. Ex Dc.) Mattos pelo teste *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 16, n. 29, p. 1925-1932, 2019.

PEREIRA, J. S. P. **Potencial genotóxico, citotóxico e compostos fenólicos de extratos aquosos de *Phyllanthus tenellus* Roxb. Cultivada sob duas condições de luminosidade**. 2020. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS, 2020.

REBESSI, A. C. et al. Estudo da toxicidade crônica do herbicida glifosato em sementes de milho, de quiabo e rúcula. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 8, n. 2, p. 17-27, abr/jun. 2011.

RODRIGUES, L. G. et al. Antiproliferative analysis of aqueous extracts of cabreúva (*Myrocarpus frondosus*) on the *Allium cepa* cell cycle. *Caryologia*. [s.l.], v. 73, n. 4, p. 39-44, 2020.

ROQUE, N. et al. Asteraceae in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB55>>. Acesso em: 15 jun. 2021

ROQUE, N., TELES, A. M., NAKAJIMA, J. N. (orgs). **A família Asteraceae no Brasil: classificação e diversidade**. Salvador: EDUFBA, 266 p. 2017

ROQUE, N.; BAUTISTA, H. P. **Asteraceae: caracterização e morfologia floral**. EDUFBA. 2008

ROSSATO, L. V. et al. Alterations in the mitotic index of *Allium cepa* induced by infusions of *Pluchea sagittalis* submitted to three different cultivation systems. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p.857-860, dec. 2010.

SALVADOR-REYES, R.; SOTELO-HERRERA, M.; PAUCAR-MENACHO, L. Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. **Scientia Agropecuaria**, [s.l.], v.5, p. 157-163, 2014.

SAMANTA, P. et al. Histopathological and ultrastructural alterations in some organs of *Oreochromis niloticus* exposed to glyphosate-based herbicide, Excel Mera 71. **Journal of Microscopy and Ultrastructure**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.35-43, mai. 2018.

SANTOS, K. R. **Efeito toxicogenético, bioquímico e anatômico do herbicida Clethodim no sistema de *Allium cepa* L.** 2020. 65 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, ES, 2020.

SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, Washington D.C., v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

SILVA, L. M. da. et al. Efeito antiproliferativo do extrato hidroalcoólico de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae, Caesalpinioideae) sobre as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. **Biotemas**, Florianópolis, v. 28, n. 1, p. 45-49, mar. 2014.

SILVA, L. N. L. et al. Revisão sistemática: toxicidade do herbicida glifosato com contaminação in vivo em peixes. **Research, Society and Development**, [s.l.], v. 9, n. 9, p. 1-17, 2020.

SILVA, M. R. R. L. da. Avaliação da toxicidade celular do herbicida glifosato em *Astyanax* spp. **Saúde Meio Ambiente**, [s.l.], v. 3, n. 2, p. 62-69, jul/dez. 2014.

SILVA, T. F.; CARMO, K. B.; ARMILIATO, N. Toxicidade celular do herbicida glifosato sobre os ovários do peixe *Danio rerio*. **Revista Saúde e Meio Ambiente**. [s.l.], v.8, p.1-12, 2019.

SOUZA, L. F. B. et al. Genotoxic potential of aqueous extracts of *Artemisia verlotorum* on the cell cycle of *Allium cepa*. **International Journal of Environmental Studies**, v.67, n.6, p.871-877, dec. 2010.

TAIARIOL D.; MOLINA N. **Producción de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Ka'a He'ê) en Bella Vista (Corrientes)**. Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista. Bella Vista. Corrientes. Argentina. 2010

TEDESCO, M. et al. Assessment of the antiproliferative and antigenotoxic activity and phytochemical screening of aqueous extracts of *Sambucus australis* Cham. & Schltdl. (ADOXACEAE). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s.l.], v. 89, n. 3, p. 2141-2154, 2017.

TEDESCO, M. et al. Chromatographic analysis, antiproliferative effect and genotoxicity of aqueous extracts of *Citrus sinensis* (L.) OSBECK on the *Allium cepa* L. test system. **Bioscience Journal, Uberlândia**, v. 31, n. 4, p.1213-1221, jul/ago. 2015.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. **Environmental Contamination. InTech**, p. 220, 2012.

TRAPP, K. C. et al. Análise Proliferativa e Fitoquímica de *Commelina Erecta* L. pelo teste *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 13, n. 24, p. 64-75, 2016.

TRAPP, K. C. et al. Determination of phenolic compounds and evaluation of cytotoxicity in *Plectranthus barbatus* using the *Allium cepa* test. **Caryologia**, [s.l.], v. 73, n. 2, p. 145-153, 2020.

TRAPP, K. C. et al. Efeitos Genotóxicos e Antiproliferativos de *Prunus myrtifolia* (Pessequeiro-Do-Mato) pelo teste de *Allium cepa*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 2222-2230, 2015.

UBESSI, C. et al. Antiproliferative potential and phenolic compounds of infusions and essential oil of chamomile cultivated with homeopathy. **Journal of Ethnopharmacology**. [s.l.], v. 239, p. 1-7, 2019.

VALADEZ-VEGA, C. et al. The role of natural antioxidants in cancer disease. In **Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants**; Ed.; In Techopen: Rijeka, Croatia, pp. 391–418, 2013.

VELÁSQUEZ, T. T. M.; ROJAS, C. M. M.; BAUTISTA, M. H. B. Efectos letales y subletales del glifosato (Roundup®Activo) en embriones de anuros colombianos. **Acta Biológica Colombiana**, [s.l.], v. 18, n. 2, p. 271-278, mai/ago. 2013.

VILLAGÓMEZ-FLORES, E.; HINOJOSA-ESPINOSA, O.; VILLASEÑOR, J. L. El género *Stevia* (Eupatorieae, Asteraceae) en el estado de Morelos, México. **Acta Botanica Mexicana**. [s.l.], v. 125, p. 7-36, out. 2018.

WANDSCHEER, A. C. D. et al. Cytogenotoxicity of rice crop water after application of the tricyclazole fungicide. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s.l.], v. 89, n. 3, p. 1251-1258, 2017.

WÖLWER-RIECK, U. The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses there of: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 60, n. 4, p. 886–895, 2012.

YADAV, A. K. et al. A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. **Canadian Journal Of Plant Science**, [s.l.], v. 91, p. 1-27, 2011