

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

**POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E
DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE
Cordia trichotoma (VELL.) ARRÁB. ex STEUD.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Leonardo Bachio Pavanelo

Santa Maria, RS, Brasil

2014

**POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E DETERMINAÇÃO DE
COMPOSTOS FENÓLICOS DE *Cordia trichotoma* (VELL.)
ARRÁB. ex STEUD.**

Leonardo Bachio Pavanelo

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Solange Bosio Tedesco

Santa Maria, RS, Brasil

2014

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado**

**POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E DETERMINAÇÃO DE
COMPOSTOS FENÓLICOS DE *Cordia trichotoma* (VELL.) ARRÁB.
ex STEUD.**

**elaborada por
Leonardo Bachio Pavanelo**

**como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agrobiologia**

COMISSÃO EXAMINADORA:

Solange Bosio Tedesco, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Thais Scotti do Canto-Dorow, Dr^a. (UFSM)

Ionara Fátima Conterato, Dr^a. (FEPAGRO)

Santa Maria, 10 de março de 2014.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a realização deste trabalho:

A Deus, por iluminar os meus passos e guiar-me ao encontro de pessoas que sempre contribuíram para minha felicidade e engrandecimentos pessoal e profissional.

À querida orientadora, Solange Bosio Tedesco, que mesmo sem conhecer minha trajetória acadêmica, deu-me a oportunidade para concretizar esta importante etapa de minha vida.

Aos meus pais, Carmela e Nelsi, que estiveram ao meu lado durante todo o tempo, incentivando-me a estudar cada vez mais, aguentando meu humor não muito agradável de alguns dias, e principalmente, por acreditarem no meu potencial como estudante e como pessoa. Um abraço especial ao meu pai, que com muita vontade (e na companhia inseparável de uma Pampa), saiu por aí comigo à procura de árvores de louro-pardo que pudessem ser usadas para minha pesquisa.

Aos meus grandes colegas e, posso dizer, grandes amigos do laboratório — e de todos os outros lugares —, por toda a ajuda e energia despendidas à elaboração deste trabalho. Marília, Andri, Kássia, Jéssica, Felipe e Ana, há um pouco de cada um de vocês nas linhas desta Dissertação. Obrigado por existirem e por fazerem do LABCITOGEN o melhor lab do mundo. Valeu mesmo!

À pequena grande amiga e colega de laboratório, Vívi (com acento mesmo), pela paciência e tempo gastos a fim de que tudo ficasse cada vez melhor. Obrigado por tudo, querida.

A todas as pessoas que, de alguma forma, envolveram-se na elaboração desta Dissertação, em laboratório ou fora dele.

Meus sinceros agradecimentos e carinho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia
Universidade Federal de Santa Maria

POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO E DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE *Cordia trichotoma* (VELL.) ARRÁB. ex STEUD.

AUTOR: LEONARDO BACHIO PAVANELO

ORIENTADOR: SOLANGE BOSIO TEDESCO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 10 de março de 2014.

Cordia trichotoma (Vell.) Arráb. ex Steud., conhecida como louro-pardo, pertence à família Boraginaceae e é de ampla distribuição geográfica no Brasil. No Rio Grande do Sul (RS), é encontrada nas regiões do Alto Uruguai e Depressão Central. Trata-se de uma espécie de grande porte, podendo chegar a 35 metros de altura. É apreciada pela qualidade de sua madeira, a qual possui valor paisagístico, e pode ser empregada na recuperação de áreas degradadas; suas folhas têm valor medicinal, as quais são utilizadas para o preparo de chás. Estes, por sua vez, são empregados no tratamento de doenças renais, reumatismo, artrite e raquitismo. O teste de *Allium cepa* é utilizado como bioindicador da capacidade antiproliferativa e genotóxica de extratos aquosos (chás) preparados com materiais vegetais diversos como folhas, flores, frutos e cascas. Este estudo teve como objetivos verificar o potencial antiproliferativo das infusões de quatro populações de *C. trichotoma* sobre o ciclo celular de *A. cepa*, bem como analisar os compostos fenólicos presentes nas infusões. As folhas e frutos de louro-pardo, utilizados na montagem dos experimentos, foram coletados em três municípios do RS. Para o experimento 1, foram usados chás (infusões) das folhas, e para o experimento 2, utilizaram-se os frutos. Foram usados seis grupos de quatro bulbos de cebola enraizando em água, os quais constituíram seis tratamentos com quatro repetições para cada uma das populações de *C. trichotoma*, em ambos os experimentos. Os tratamentos foram: T1- controle negativo em água destilada; T2- infusão de 5 g.L⁻¹; T3- infusão de 20 g.L⁻¹; T4- infusão de 5 g.L⁻¹; T5- infusão de 20 g.L⁻¹; T6- controle positivo em glifosato 2%. Após os tratamentos, as raízes de *A. cepa* foram fixadas, conservadas e então preparadas lâminas pela técnica de esmagamento, coradas com orceína acética 2%. Posteriormente, foram analisadas no microscópio com aumento de 40x. Foi realizada a contagem de 500 células por bulbo, totalizando 2000 células para cada um dos tratamentos e para cada uma das populações. Foi realizado o cálculo do índice mitótico, bem como a verificação de possíveis irregularidades no ciclo celular. Os compostos fenólicos foram determinados por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os resultados mostraram diferença estatística significativa para o aumento da inibição da divisão celular conforme o aumento da concentração das infusões de louro-pardo em ambos os experimentos, não tendo sido observada genotoxicidade nos extratos. Os compostos que apareceram em maior quantidade foram o ácido cafeico, o ácido rosmarínico e o ácido elágico. As infusões de *C. trichotoma* preparadas nas diferentes concentrações apresentam potencial antiproliferativo e não possuem atividade genotóxica sobre o ciclo celular de *A. cepa*. Os resultados obtidos na área de genotoxicidade, bem como os fenólicos encontrados nas infusões de *C. trichotoma* configuram informações inéditas para esta espécie.

Palavras-chave: Louro-pardo. Extratos aquosos. *Allium cepa*. Índice mitótico. Cromatografia líquida de alta eficiência.

ABSTRACT

Masters Science Dissertation
Agrobiology Post Graduation Program
Universidade Federal de Santa Maria

ANTIPROLIFERATIVE POTENTIAL AND DETERMINATION OF PHENOLIC FROM *Cordia trichotoma* (VELL.) ARRÁB. ex STEUD.

AUTHOR: LEONARDO BACHIO PAVANELO

ADVISOR: SOLANGE BOSIO TEDESCO

Date and Venue: Santa Maria, March 10th, 2014.

Cordia trichotoma (Vell.) Arráb. ex Steud., known as louro-pardo, belongs to the Boraginaceae family and is widely distributed in Brazil. In Rio Grande do Sul (RS), is found in the Alto Uruguai and Depressão Central. This is a large species, reaching 35 meters in height. It is appreciated for the quality of its wood, which has scenic value, and can be employed in the recovery of degraded areas; its leaves have medicinal value, which are used to prepare teas. These, in turn, are used to treat kidney diseases, rheumatism, arthritis and rickets. The *Allium cepa* test is used as a bioindicator of genotoxic and antiproliferative capacity of aqueous extracts (teas) prepared with different plant materials such as leaves, flowers, fruit and bark. This study aimed to evaluate the antiproliferative potential of infusions of four populations of *C. trichotoma* on the cell cycle of *A. cepa*, as well as to analyze the phenolic compounds in infusions. The leaves and fruits of louro-pardo, used in the assembly of the experiments, were collected in three municipalities in the RS. For experiment 1, teas (infusions) leaves were used, and for the experiment 2, the fruits were used. Six groups of four onion bulbs rooting in water were used, which consisted of six treatments and four replications for each of the populations of *C. trichotoma* in both experiments. The treatments were: T1 - negative control in distilled water; T2- infusion of 5 g.L⁻¹; T3- infusion of 20 g.L⁻¹; T4- infusion of 5 g.L⁻¹; T5- infusion of 20 g.L⁻¹; T6- positive control in glyphosate 2%. After treatments, the roots of *A. cepa* were fixed, conserved and then slides prepared by squashing technique, stained with 2% acetic orcein. Therefore, it were subsequently analyzed under a microscope 40x. It were counted 500 cells by bulb, totaling 2000 cells for each treatment and for each of the populations. The mitotic index was calculated as well as the verification of possible irregularities in the cell cycle. Phenolic compounds were determined by the technique of high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed a statistically significant difference for the increased inhibition of cell division as the concentration of infusions of louro-pardo in both experiments, no genotoxicity was observed in extracts. Compounds that appeared in larger quantities were caffeic acid, rosmarinic acid and ellagic acid. *C. trichotoma* infusions prepared in different concentrations exhibit antiproliferative potential and have no genotoxic activity on the cell cycle of *A. cepa*. The results obtained in the area of genotoxicity as well as the phenolic found in *C. trichotoma* infusions constitute new information for this species.

Keywords: Louro-pardo. Aqueous extracts. *Allium cepa*. Mitotic index. High performance liquid chromatography.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Árvore de louro-pardo. A- aspecto de uma planta de Nova Esperança do Sul, RS; B- frutos; C- folhas 21
- Figura 2 – Células de *Allium cepa* submetidas ao controle negativo (água destilada) durante a divisão celular mitótica. A- intérfase; B- prófase; C- metáfase; D- anáfase; E- telófase 29
- Figura 3 – Perfil representativo da cromatografia líquida de alta eficiência das folhas da população de *Cordia trichotoma* de Cruz Alta; detecção UV a 327 nm. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido cafeico (pico 4), ácido rosmarínico (pico 5), ácido elágico (pico 6), rutina (pico 7), quercitrina (pico 8), quercetina (pico 9) e canferol (pico 10)..... 30
- Figura 4 – Perfil representativo da cromatografia líquida de alta eficiência das folhas da população de *Cordia trichotoma* de Nova Esperança do Sul; detecção UV a 327 nm. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido cafeico (pico 4), ácido rosmarínico (pico 5), ácido elágico (pico 6), rutina (pico 7), quercitrina (pico 8), quercetina (pico 9) e canferol (pico 10) 32
- Figura 5 – Perfil representativo da cromatografia líquida de alta eficiência dos frutos de *Cordia trichotoma* das populações de Nova Esperança do Sul e de Santa Maria; detecção UV a 327 nm. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido cafeico (pico 4), epicatequina (pico 5), ácido rosmarínico (pico 6), ácido elágico (pico 7), rutina (pico 8), isoquercitrina (pico 9), quercitrina (pico 10), quercetina (pico 11) e canferol (pico 12)..... 34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Médias dos índices mitóticos das células de raízes de *Allium cepa* tratadas com extratos aquosos por infusão das folhas de *Cordia trichotoma* em diferentes concentrações e para populações distintas (experimento1) 27
- Tabela 2 – Médias dos índices mitóticos das células de raízes de *Allium cepa* tratadas com extratos aquosos por infusão dos frutos de *Cordia trichotoma* em diferentes concentrações e para populações distintas (experimento 2). 28
- Tabela 3 – Compostos fenólicos e flavonoides em folhas de *Cordia trichotoma* de Cruz Alta..... 31
- Tabela 4 – Compostos fenólicos e flavonoides em folhas de *Cordia trichotoma* de Nova Esperança do Sul..... 32
- Tabela 5 – Compostos fenólicos e flavonoides em frutos de *Cordia trichotoma* de Nova Esperança do Sul e Santa Maria..... 34

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	09
1 REVISÃO DE LITERATURA	12
1.1 Família Boraginaceae	12
1.2 Gênero <i>Cordia</i>	13
1.3 <i>Cordia trichotoma</i> (Vell.) Arráb. ex Steud.	13
1.4 Sistema-teste <i>Allium cepa</i>	15
1.5 Compostos Fenólicos	17
1.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	19
2 MATERIAL E MÉTODOS	21
2.1 Preparo dos extratos.....	22
2.2 Ação dos extratos sobre a divisão celular das raízes de cebola	22
2.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	23
2.3.1 Produtos químicos, aparelhos e procedimentos gerais	24
2.3.2 Quantificação dos compostos através da CLAE	24
2.4 Análise Estatística	25
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.1 Resultados.....	26
3.1.1 Sistema-teste <i>A. cepa</i>	26
3.1.2 Compostos fenólicos.....	29
3.2 Discussão	35
3.2.1 Sistema-teste <i>A. cepa</i>	35
3.2.2 Compostos fenólicos.....	38
4 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44

INTRODUÇÃO

O louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud.) é uma espécie da família Boraginaceae, de ampla distribuição geográfica no território brasileiro, podendo ser encontrado desde o nordeste até o sul do país (CARVALHO, 2003). Ocorre entre a latitude de 3° 45' S no Ceará, até 30° 30' S no Rio Grande do Sul (LORENZI, 2002). No Rio Grande do Sul, o louro-pardo é encontrado nas florestas do Alto Uruguai e nos capões dos campos da Depressão Central (LORENZI, 1992).

Trata-se de uma espécie de grande porte, com folhas caducas e que pode chegar a 35 metros de altura. Seu tronco é reto e cilíndrico, e o fuste pode apresentar comprimento de cerca de 20 metros (CARVALHO, 1988). As flores possuem corola marcescente, isto é, permanece presa nos frutos quando estes desprendem-se da planta (CARVALHO, 1994; PEDROSO; MATTOS, 1987). Os frutos, por sua vez, são subcilíndricos, encerrados pelo tubo da corola e pelo cálice persistente, tendo dispersão anemocórica (RIZZINI, 1971).

O louro-pardo é apreciado tanto no mercado interno quanto no mercado externo devido à excelente qualidade e à fácil empregabilidade de sua madeira. Por tratar-se de uma espécie com tendência a ser pioneira, é exigente em relação ao tipo de solo, adaptando-se melhor naqueles de média a alta fertilidade, profundos e bem drenados (CARVALHO, 2003).

Na região nordeste do Rio Grande do Sul, a espécie encontra-se em erosão genética, sendo, então, recomendada a coleta de germoplasma (MEDEIROS, 1997).

O chá de louro-pardo é preparado com suas folhas e utilizado no tratamento de doenças renais, reumatismo, artrite e raquitismo (AGRA et al., 2007).

Neste contexto, faz-se necessário o estudo de genotoxicidade sobre a espécie, já que não foram encontradas, na literatura, informações a respeito de pesquisas realizadas com o intuito de verificar o potencial genotóxico em populações de *C. trichotoma*.

Genotoxicidade refere-se à capacidade de certas substâncias físicas ou químicas agirem sobre o material genético, podendo produzir alterações na estrutura e função do DNA. A análise das alterações cromossômicas serve como um importante método para medir os possíveis danos causados por agentes genotóxicos ou mutagênicos. Para permitir a avaliação desses danos, é fundamental

que a amostra esteja em constante divisão mitótica para que ocorra a identificação dos efeitos tóxicos sobre todo o ciclo celular. Por esse motivo, o teste de *Allium cepa* L. (cebola) é amplamente aplicado na detecção de possíveis danos causados por substâncias tóxicas ao material genético (SILVA et al., 2003).

O teste de *A. cepa* é bastante utilizado na área de citogenética para avaliar o potencial de extratos aquosos (chás) preparados com materiais vegetais diversos como folhas, flores, frutos e cascas. Pesquisadores como Camparoto et al. (2002); Dalla Nora et al. (2010); Frescura et al. (2012) fizeram o uso do teste de *A. cepa* para analisarem o possível efeito genotóxico dos extratos de pata-de-vaca (*Bauhinia candicans* Benth.), guaco (*Mikania glomerata* Spreng.) e açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Martius), respectivamente.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 60 a 80% da população nos países em desenvolvimento, como o Brasil, utilizam plantas medicinais para o tratamento das mais diversas doenças. Isso ocorre, sobretudo, devido à pobreza e falta de acesso à medicina tradicional. Além disso, apesar de a diversidade vegetal ser grande em todo o mundo, poucas espécies (15 a 17%) foram cientificamente estudadas para a avaliação de suas qualidades, segurança e eficácia (SIMÕES et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2003; CALIXTO, 2005; SOARES et al., 2006).

Embora as plantas sejam amplamente empregadas no tratamento de doenças em todo o mundo, uma pequena quantidade de espécies teve seus potenciais citotóxico e mutagênico estudados, os quais podem ser monitorados pelo emprego do sistema-teste *A. cepa* (BAGATINI et al., 2007).

Vicentini et al. (2001) relataram que tanto as alterações cromossômicas quanto as da divisão das células meristemáticas das raízes de cebola podem ser usadas como alerta às pessoas, indicando, assim, possíveis riscos no consumo de determinado chá.

A variação dos metabólitos secundários nas plantas ocorre em diferentes níveis (sazonais e diárias, inter e intraespecífica), e a interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos pode gerar mudanças na expressão dessa variação, apesar da existência do controle genético (LINDROTH et al., 1987; WATERMAN et al., 1989; BOWERS; STAMP, 1993; HARTMANN 1996; DARROW; BOWERS, 1997).

De acordo com Kutchan (2001), a síntese de metabólitos secundários é afetada pelas condições ambientais porque os mesmos representam uma interface química das plantas com o ambiente ao redor. Dentre as classes de metabólitos secundários com maior representação no reino vegetal encontram-se os compostos fenólicos, os quais são notadamente reconhecidos devido à enorme importância para o sistema solo-planta. A presença deste grupo de substâncias na planta dá-se, sobretudo, em decorrência do estresse metabólico. Tais compostos atuam na pigmentação de flores, na proteção contra pragas e doenças, como moléculas-sinais, na alelopatia, além de fazerem parte da matéria orgânica do solo (SIQUEIRA et al., 1991).

Para Tomás-Barberán e Espín (2001), os compostos fenólicos apresentam propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral e atividade oestrogênica. Isso denota o emprego desses metabólitos na prevenção de doenças coronárias e câncer.

Este estudo foi conduzido com quatro populações da espécie *C. trichotoma* oriundas de três municípios do estado do Rio Grande do Sul, e teve como objetivos verificar o potencial antiproliferativo das infusões das distintas populações sobre o ciclo celular de *A. cepa*, bem como analisar os compostos fenólicos presentes nas infusões.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Família Boraginaceae

Composta por indivíduos pequenos, como algumas ervas, até grandes árvores, esta família botânica possui grande riqueza de espécies e alta complexidade taxonômica, apresentando variedades florísticas e frutíferas de acordo com seu gênero e espécie (BARROSO et al., 1991).

De acordo com Al-Shehbaz (1991), a família Boraginaceae compreende cerca de 2500 espécies reunidas em 130 gêneros. Estão espalhadas pelas regiões tropicais e subtropicais do planeta, tendo sido encontradas poucas representantes nas zonas temperadas do Hemisfério Norte.

Além disso, ela é atualmente dividida em cinco subfamílias: Ehretioideae, Wellstedioideae, Cordioideae, Heliotropioideae e Boraginoideae (GÜRKE, 1897; MELCHIOR, 1964; NOWICKE; MILLER, 1990; THORNE, 1992; RETIEF; VAN WYK, 1997), sendo que os gêneros registrados como nativos no Brasil foram: *Auxemma* Miers, *Cordia* L., *Heliotropium* L., *Lepidocordia* Ducke, *Moritzia* DC. ex Meisn., *Patagonula* L., *Rotula* Lour., *Thaumatocaryum* Baill. e *Tournefortia* L. (BARROSO et al., 1986; CAVALHEIRO et al., 2003).

As folhas são simples, alternas, opostas ou verticiladas, sem estípulas. As inflorescências apresentam-se como cimeira escorpioide; por sua vez, as flores são hermafroditas, e, em geral, regulares e pentâmeras. O cálice é gamossépalo, tubuloso, de maneira que, em determinados gêneros, é formado por sépalas unidas apenas na base; a corola é simpétala. O androceu é geralmente formado por cinco estames epipétalos, enquanto o gineceu apresenta de dois a quatro carpelos, bem como ovário súpero com dois a quatro lóculos, uniovulados, raramente uniloculares, com quatro óvulos. O fruto é indeiscente, carnoso, e constitui uma drupa com dois a quatro lóculos, ou unilocular, sendo, às vezes, esquizocarpo. As sementes podem apresentar-se com ou sem endosperma (SMITH, 1970; BARROSO et al., 1986).

De acordo com Percival (1974); Carvalho e Marchini (1999); Judd et al. (1999), os integrantes desta família são usualmente polinizados por abelhas, borboletas, formigas, morcegos e moscas.

Segundo Judd et al. (1999, 2002), a subfamília Cordioideae é caracterizada por apresentar estilete com quatro ramificações, cotilédones plicados, bem como ausência de endosperma. Os gêneros *Auxemma*, *Patagonula* e *Cordia* estão classificados nesta subfamília (NOWICKE; MILLER, 1990).

1.2 Gênero *Cordia*

De acordo com Taroda e Gibbs (1986), o gênero *Cordia* contempla 250 espécies ao redor do mundo abrangendo 65 espécies no Brasil.

Trata-se de um gênero cosmopolita, de grande diversidade, provavelmente o mais complexo dentro da família Boraginaceae (NOWICKE; RIDGWAY, 1973; TARODA; GIBBS, 1986), composto por árvores, arbustos ou subarbustos. As folhas são alternadas, homomórficas, por vezes dimórficas, pecioladas ou sésseis. As inflorescências estão reunidas em panículas axilares ou internodais, espigas, capítulos ou glomérulos. As flores, por sua vez, normalmente são heterostílicas, mas podem apresentar-se como funcionalmente dioicas. Os estames são cinco, ou tantos quantos forem os lobos da corola, raramente reduzidos, exsertos ou inclusos (TARODA, 1984).

Por apresentar estilete terminal bifurcado, bem como cada ramo ser dividido em dois, além de o cálice tubuloso não sofrer aumento, nem modificação durante a frutificação, o gênero *Cordia* distingue-se dos demais dentro da família Boraginaceae (BARROSO et al., 1986).

1.3 *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud.

O nome *Cordia* foi dado em homenagem ao consagrado médico e botânico alemão Euricius Cordus (1486 a 1535), bem como a seu filho Valerius Cordus (1515 a 1544) (MARCHIORI, 1995); por outro lado, o nome específico *trichotome*, de acordo com Smith (1970), significa dividido em três partes, uma referência ao estigma.

O louro-pardo é uma árvore caducifólia, uma vez que nota-se a perda de suas folhas entre os meses de julho e agosto (RIZZINI, 1971). De acordo com Reitz et al. (1988), pode atingir até 35 metros de altura, e 100 cm de diâmetro à altura do peito (DAP) na idade adulta, além de possuir copa estreita, comprida e com folhagem densa. As folhas são simples, alternas, verde-escuras na face adaxial e grisáceas na abaxial; contudo, para Carvalho (1994); Pedroso e Mattos (1987), trata-se de uma espécie variável em relação à densidade do indumento, visto que são observadas formas quase glabras, bem como outras fortemente pilosas. As flores, por sua vez, são polígamas, masculinas e hermafroditas, de maneira que, no início da floração, apresentam coloração branca, e posteriormente, assumem o aspecto pardo. Além disso, são perfumadas e permanecem presas na planta.

A espécie apresenta fruto do tipo núcula com pericarpo pouco espessado e seco, o qual apresenta cálice e corola persistentes e marcescentes, de coloração castanha (BARROSO et al., 1999); a semente, por outro lado, é elipsoidal, com cerca de 6 mm de comprimento e 2 mm de diâmetro, de modo que encontra-se presa à parede do fruto, pela base do estigma (EMBRAPA, 2002).

Segundo Rizzini (1976), a dispersão dos frutos e sementes dá-se por meio do vento (anemocórica), de maneira que, envolvidas pelo cálice persistente, as sementes conseguem dispersar-se por longas distâncias em função da corola marcescente, a qual funciona como uma espécie de paraquedas.

O florescimento é observado entre os meses de fevereiro e abril, enquanto a maturação dos frutos ocorre de maio a julho, período em que devem ser coletadas as sementes. Estas, por sua vez, possuem germinação do tipo epígea, com percentuais que vão de 14% podendo alcançar 80%, e por apresentarem dormência tegumentar e comportamento recalcitrante ao armazenamento, podem perder a viabilidade aos 60 dias (CARVALHO, 2003; MENDONÇA et al., 2001).

C. trichotoma apresenta ramificação do tipo monopodial quando jovem, e dicotômica ou simpódica quando adulta. Sua copa alongada, densifoliada, arredondada, pode atingir até oito metros de diâmetro (EMBRAPA, 2002).

Sua madeira é apreciada nos mercados interno e externo porque pode ser facilmente polida e vergada, além de ser empregada na fabricação de molduras, decoração de interiores, e até na recuperação de áreas degradadas (CARVALHO, 2003).

A espécie integra o grupo sucessional de secundária inicial (DURIGAN; NOGUEIRA, 1990; JESUS, 1997; NAVE et al., 1997; VACCARO et al., 1999) a secundária tardia (PINA-RODRIGUES et al., 1997), e para Harrit e Jesus (1987), tem tendência a ser pioneira; porém, não para ser espécie clímax. Além disso, de acordo com a Embrapa (2002), o louro-pardo é comum na vegetação secundária, de maneira que aparece em terrenos abandonados, capões e roças frequentemente.

1.4 Sistema-teste *Allium cepa*

O uso de plantas com propriedades medicinais é uma prática comum no Brasil (ROSA; FERREIRA, 2001). Por conta disso, fazem-se necessárias pesquisas para avaliação da toxicidade e mutagenicidade dessas plantas empregando bioindicadores, como o sistema-teste *A. cepa*, o qual contribui para o uso seguro desses vegetais (BAGATINI et al., 2007).

Segundo Sampaio (2012), o teste foi primeiramente realizado pelo pesquisador Levan, em 1938. As modificações ocorridas em sua metodologia, no decorrer dos anos, fizeram com que o sistema-teste *A. cepa* tornasse possível a avaliação de compostos solúveis e insolúveis em água.

Um grande número de pesquisadores empregou o sistema-teste *A. cepa* para diferentes tipos de estudos, tais como: bioindicador da poluição ambiental (BAGATINI et al., 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009), e como um eficiente teste para a avaliação do potencial genotóxico de plantas medicinais (CAMPAROTO et al., 2002; KNOLL et al., 2006; FACHINETTO et al., 2007; LUBINI et al., 2008; FACHINETTO et al., 2009; FACHINETTO; TEDESCO, 2009; DALLA NORA et al., 2010), uma vez que trata-se de um modelo útil para detectar inúmeras substâncias que podem causar alterações nos cromossomos.

De acordo com Vicentini et al. (2001); Teixeira et al. (2003); Fachinetti et al. (2007); Bagatini et al. (2009), em se tratando da análise da genotoxicidade de extratos vegetais, o sistema-teste *A. cepa* é um dos bioindicadores utilizados com maior eficácia. Além disso, foi validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) e Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de

substâncias ambientais (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999; SILVA et al., 2004; LEME; MORALES, 2009).

Por ser responsável pela primeira triagem da genotoxicidade, o teste é um bioindicador viável quando busca-se estudar a prevenção de danos na saúde humana (BAGATINI et al., 2007), bem como um excelente modelo *in vivo*, já que as raízes das cebolas crescem em contato direto com as substâncias a serem analisadas, como por exemplo, extratos aquosos de plantas medicinais, ou efluentes industriais e hospitalares. Dessa forma, possibilita a verificação de possíveis compostos prejudiciais às células de organismos eucariotos. Por conta disso, os resultados obtidos com o emprego das raízes de *Allium* na avaliação de genotoxicidade podem ser extrapolados para células animais (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE IV, 2012). Ainda, segundo Vicentini et al. (2001), o teste possibilita o emprego de diferentes concentrações da substância estudada, em tempos distintos.

Estudos mostraram que há uma correlação de 82% entre este teste e aquele realizado para monitorar a carcinogenicidade de roedores. Além disso, o teste de *A. cepa* mostrou-se mais sensível que os testes de Ames e Microscreen (RANK; NIELSEN, 1994). Chauan et al. (1999), em estudos para avaliar a genotoxicidade de extratos aquosos vegetais, observaram a sensibilidade do sistema-teste *A. cepa*, em comparação com o teste realizado em células de mamíferos, validando seu uso como um teste alternativo para monitorar o potencial genotóxico de compostos químicos ambientais e pesticidas.

Para Fatima e Ahmad (2006), trata-se de um teste viável para o estudo das aberrações observadas durante a fase mitótica da anáfase, e baseia-se na avaliação de possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos, bem como das alterações verificadas nos cromossomos das células meristemáticas da ponta das raízes de cebola.

Estudos conduzidos por Souza et al. (2010) demonstraram que o sistema-teste *A. cepa* indicou haver capacidade antiproliferativa e genotóxica em infalivina (*Artemisia verlotorum* Lamotte), visto que, na maior concentração dos extratos da planta (48 g.L^{-1}), os autores observaram 32,2% de alterações cromossômicas, além de que, com o aumento das concentrações dos chás, houve maior inibição da divisão celular, e conseqüentemente, valores mais baixos para o índice mitótico (IM).

El-Shahaby et al. (2003) enfatizaram a importância do teste para detecção da poluição ambiental, bem como para a avaliação da toxicidade e genotoxicidade. Ainda, estudos conduzidos por Fiskesjö em 1985 relatam sua contribuição na análise da genotoxicidade, uma vez que as células de *A. cepa* apresentam enzimas oxidase, as quais são capazes de metabolizar hidrocarbonetos policíclicos.

Çelik et al. (2006) demonstraram que *Plantago lanceolata* L., conhecida como erva-de-ovelha, apresentou, por meio da análise de células de *A. cepa* tratadas com extratos aquosos da planta, redução no índice mitótico e nas alterações cromossômicas quando comparados com os controles.

1.5 Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos são uma classe de compostos secundários presentes nas plantas. São formados por um grupo fenol, o qual caracteriza-se por uma hidroxila funcional ligada a um anel aromático. Esses compostos formam um grupo quimicamente heterogêneo e bastante representativo no reino vegetal, com aproximadamente dez mil compostos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Essa classe de metabólitos é sintetizada através da rota do ácido chiquímico, e sua estrutura é variável, podendo aparecer compostos fenólicos simples como os catecóis, até polímeros de cadeias longas como os taninos condensados (PARR; BOLWELL, 2000).

Dois grandes grupos desses compostos são conhecidos na natureza: os ácidos fenólicos e os flavonoides. Três grupos distintos formam os ácidos fenólicos:

- a) o primeiro é composto pelos derivados do ácido benzoico;
- b) o segundo é formado pelos derivados do ácido cinâmico;
- c) o terceiro é formado por ácidos fenólicos associados a outros compostos.

A associação entre o ácido cafeico e o ácido quínico origina o ácido clorogênico, constituindo, assim, a combinação mais importante desses ácidos (SOARES, 2002).

Os flavonoides, por sua vez, caracterizam-se como um grande grupo de compostos fenólicos de baixo peso molecular, amplamente distribuídos entre as

plantas. Incluem-se nesse grupo: flavonas, isoflavonas, flavonóis, antocianinas, flavanonas e flavanóis (VIEIRA; AGOSTINI-COSTA, 2007).

Segundo Bruneton (2001), a habilidade para a redução da permeabilidade e fragilidade vascular é a principal propriedade farmacológica dos flavonoides, embora também possam ser empregados como anti-inflamatórios, hepatoprotetores, antialérgicos, antiespasmódicos ou antibacterianos. Os flavonoides agem como antioxidantes prevenindo o desenvolvimento de determinadas doenças porque os fenóis que constituem parte de suas moléculas conseguem capturar os radicais livres formados em diferentes ocasiões, tais como nos estados inflamatórios ou nos processos de auto-oxidação lipídica. Por atuar na inibição de enzimas, esse grupo de compostos fenólicos apresenta propriedades anti-inflamatórias e antialérgicas, as quais podem ser conferidas no efeito das drogas sintetizadas a partir dessas substâncias. Observou-se que poucos flavonoides apresentam efeito anticancerígeno, inibindo o crescimento de células tumorais *in vitro*. Por outro lado, a maioria deles é antimutagênica *in vitro*, embora alguns tenham apresentado comportamento mutagênico nos mesmos modelos.

De uma forma geral, os compostos fenólicos, devido sua diversidade química, apresentam um amplo espectro de atuação no reino vegetal. Enquanto alguns atuam na defesa contra herbívoros e patógenos, outros são capazes de atrair polinizadores ou atuarem como dispersores de frutos, agindo também na proteção do vegetal contra a radiação ultravioleta, bem como na redução do crescimento de plantas competidoras (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A concentração de compostos fenólicos nas plantas pode ser afetada devido a alguns fatores agronômicos como, por exemplo, a disponibilidade de água, composição do solo, intensidade luminosa, diferenças de temperaturas entre o dia e a noite e o emprego de fertilizantes. Além disso, uma condição importante na disponibilidade desses metabólitos nas plantas é a variabilidade genética (TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001). Para Vieira e Agostini-Costa (2007), o efeito desses fatores ambientais pode variar tanto com a espécie botânica considerada quanto com os tipos de compostos fenólicos avaliados.

Existem evidências que denotam as propriedades benéficas desta classe de metabólitos na prevenção de doenças cardiovasculares e de alguns tipos de câncer. O ácido cafeico e derivados, bem como os flavonóis, especialmente quercetina e derivados, catequinas, isoflavonas, flavanonas, antocianinas e resveratrol

constituem os compostos de grande interesse em estudos que visam estabelecer a atividade biológica dos fenólicos integrantes da dieta, além de suas disponibilidades e metabolismos (TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001).

1.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O método de separação predominante nesta técnica dá-se por meio das interações entre as fases estacionária e móvel juntamente com as substâncias presentes em uma mistura. A distribuição das substâncias ocorre quando a fase móvel passa sobre a fase estacionária. Dessa forma, os componentes são retidos pela fase estacionária, o que implica migrações diferenciais (SNYDER et al., 1997).

Segundo Collins e Braga (1988); Marston e Hostettmann (1991), a CLAE é um procedimento no qual a fase estacionária – caracterizada por conter partículas finas, entre 3 a 10 μm , esféricas ou irregulares, além de homogêneas – está inserida em colunas. Essas partículas conferem, a este tipo de cromatografia, resistência ao fluxo da fase móvel, fazendo com que esta seja uma técnica mais onerosa que as demais.

A área sob a curva, bem como a altura do pico são utilizadas para determinar o teor das substâncias analisadas no cromatograma. Os cálculos realizados para verificação das substâncias são feitos utilizando recursos computacionais de integração, os quais estão presentes na maior parte dos equipamentos (FARIAS, 2001).

A separação cromatográfica em fase normal dá-se quando a fase móvel é apolar, e a fase estacionária é polar. Contudo, as separações em fase reversa ocorrem quando a fase móvel é polar, e a estacionária, apolar (COLLINS; BRAGA, 1988).

Este tipo de cromatografia possibilita ótimos resultados quando objetiva-se separar flavonoides, proporcionando a separação de diferentes tipos. Entretanto, é mais eficiente no que diz respeito à separação de compostos que apresentam a mesma estrutura. Os aparelhos que contêm detectores de diodo em série conseguem relacionar o espectro ultravioleta ao pico detectado durante a cromatografia (ZUANAZZI, 2001).

A CLAE é a técnica mais utilizada na separação de diferentes compostos de plantas, como por exemplo, em erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire), para a qual foram observados flavonoides e ácidos hidroxicinâmicos, os principais componentes dessa espécie. Para tal ação, utiliza-se, principalmente, gradiente da fase móvel (MENINI et al., 2007; FILIP et al., 2001; HOFFMANN-RIBANI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006).

Löbler (2013) verificou, por meio desta técnica, a presença de ácido clorogênico, quercetina e rutina em extratos aquosos de erva-lanceta (*Solidago chilensis* Meyen) preparados a partir de plantas de um terreno baldio, plantas de casa de vegetação, plantas micropropagadas *in vitro*, e também oriundas de estaquia.

Utilizando o mesmo procedimento, Kataoka e Cardoso (2013), em um estudo com guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg) e guabirobeira-verde (*Campomanesia sessiliflora* (O. Berg)), verificaram que os extratos orgânicos e infusos preparados a partir das folhas de ambas as espécies obtiveram maiores concentrações de fenóis e flavonoides nas plantas coletadas durante o período reprodutivo, em comparação àquelas coletadas no período vegetativo.

Hendricks et al. (2005) afirmam que um cromatograma possibilita a informação qualitativa das espécies, mas não é capaz de quantificar o número total de compostos existentes em uma amostra.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo, foram utilizados folhas e frutos maduros de quatro populações de plantas de *C. trichotoma* (Figura 1) coletadas em três municípios do estado do Rio Grande do Sul: Cruz Alta, Nova Esperança do Sul e Santa Maria. As folhas foram coletadas nos municípios de Cruz Alta e Nova Esperança do Sul em abril de 2012, enquanto os frutos foram coletados nos municípios de Nova Esperança do Sul e Santa Maria em julho de 2013.

As plantas foram identificadas pela taxonomista Dra. Thais Scotti do Cantodorow, e cada uma das populações possui exsicata armazenada no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria (SMDB-UFSM), sob os seguintes números: exsicata da população de Santa Maria (SMDB 14494); exsicata da população de Cruz Alta (SMDB 14495); exsicata da população de Nova Esperança do Sul cujas folhas foram utilizadas no preparo das infusões (SMDB 14496) e exsicata da população de Nova Esperança do Sul cujos frutos foram utilizados no preparo das infusões (SMDB 14497).



Figura 1 – Árvore de louro-pardo. A- aspecto de uma planta de Nova Esperança do Sul, RS; B- frutos; C- folhas.

A metodologia a seguir está descrita para os experimentos realizados com o teste de *A. cepa* e com a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de maneira que foram executados dois experimentos em épocas distintas. O experimento 1 foi realizado com os chás das folhas de uma população de Cruz Alta e de uma população de Nova Esperança do Sul em outubro de 2012; já o experimento 2, realizado com os chás dos frutos de outra população de Nova Esperança do Sul e de uma população de Santa Maria em julho de 2013.

2.1 Preparo dos extratos

Os chás foram preparados por infusão (extratos aquosos), utilizando-se as concentrações de 5 g.L⁻¹ e 20 g.L⁻¹ em 1 litro de água destilada durante quinze minutos. As concentrações foram escolhidas levando-se em consideração a quantia utilizada pela população para o preparo tradicional de chás (5 g.L⁻¹), bem como uma dose quatro vezes mais concentrada (20 g.L⁻¹). Para o preparo das infusões, a água destilada foi primeiramente fervida para que, posteriormente, fosse colocada em frascos onde estavam contidas as diferentes concentrações de material botânico (folhas e frutos). Os frascos ficaram tampados por quinze minutos. Logo após, os extratos foram coados, e após o resfriamento, utilizados para a montagem dos respectivos experimentos, utilizando-se bulbos de *A. cepa* previamente enraizados em água destilada.

2.2 Ação dos extratos sobre a divisão celular das raízes de cebola

As células meristemáticas das radículas de *A. cepa* foram utilizadas de acordo com a metodologia descrita por Fiskesjö (1985), para a avaliação das alterações morfológicas e estruturais celulares, bem como para determinar os índices mitóticos.

Para a montagem do primeiro experimento, seis grupos de quatro bulbos foram colocados para enraizar em água, os quais constituíram seis tratamentos com

quatro repetições para cada uma das populações de *C. trichotoma*. Os tratamentos foram os seguintes: T1- controle negativo em água destilada; T2- extrato aquoso de Cruz Alta por infusão de 5 g.L⁻¹; T3- extrato aquoso de Cruz Alta por infusão de 20 g.L⁻¹; T4- extrato aquoso de Nova Esperança do Sul por infusão de 5 g.L⁻¹; T5- extrato aquoso de Nova Esperança do Sul por infusão de 20 g.L⁻¹; T6- controle positivo em glifosato 2%. No segundo experimento, também foram utilizados seis grupos com quatro bulbos cada, perfazendo seis tratamentos com quatro repetições para cada uma das populações. Os tratamentos foram os seguintes: T1- controle negativo em água destilada; T2- extrato aquoso por infusão de 5 g.L⁻¹ dos frutos de Santa Maria; T3- extrato aquoso por infusão de 20 g.L⁻¹ dos frutos de Santa Maria; T4- extrato aquoso por infusão de 5 g.L⁻¹ dos frutos de Nova Esperança do Sul; T5- extrato aquoso por infusão de 20 g.L⁻¹ dos frutos de Nova Esperança do Sul; T6- controle positivo em glifosato 2%.

O grupo controle (T1) permaneceu em água, e os demais grupos de bulbos de cebola foram submetidos aos distintos tratamentos por 24 horas em ambos os experimentos. Após esse período, as radículas foram retiradas e armazenadas em frascos contendo fixador 3:1 (etanol:ácido acético) por 24 horas. Posteriormente, foram transferidas para etanol 70%, e armazenadas na geladeira.

Para análise da divisão celular das raízes dos bulbos de cebola submetidas aos extratos das plantas e aos controles negativo e positivo, radículas foram coletadas com aproximadamente 5 mm, hidrolisadas em HCl 1N por cinco minutos, lavadas em água destilada e coradas comorceína acética 2%. A região meristemática foi esmagada com auxílio de um pequeno bastão de vidro, e sobre o material, colocada uma lamínula. As lâminas foram analisadas com auxílio de microscópio. Foi realizada a contagem total de células em divisão, e calculado o índice mitótico baseando-se na porcentagem de células que se encontravam em divisão. Foram contadas 500 células por bulbo, totalizando 2000 células para cada um dos tratamentos e para cada uma das populações em estudo.

2.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida foi empregada para a determinação dos compostos fenólicos nos extratos aquosos das folhas e dos frutos das quatro populações de *C. trichotoma*, e sua análise foi realizada no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia Industrial, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFSM.

2.3.1 Produtos químicos, aparelhos e procedimentos gerais

Todos os produtos químicos utilizados foram de grau analítico. O metanol, o ácido acético, o ácido gálico, o ácido clorogênico, o ácido cafeico, o ácido rosmarínico e o ácido elágico foram comprados da Merck (Darmstadt, Alemanha), enquanto a catequina, a epicatequina, a quercitrina, a isoquercitrina, a quercetina, a rutina e o canferol foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA). A cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada com um Sistema CLAE (Shimadzu, Kyoto, Japão) Shimadzu Prominence Auto Sampler (SIL-20A), equipado com bombas alternativas Shimadzu LC-20AT, conectadas a um degaseificador DGU 20A5 com integrador CBM 20A, diodo detector em série SPD-M20A e software LC solution 1.22 SP1.

2.3.2 Quantificação dos compostos através da CLAE

As análises cromatográficas da fase reversa foram realizadas sob condições de gradiente usando coluna C_{18} (4.6 mm x 150 mm) carregada com partículas de 5 μ m de diâmetro. A fase móvel foi água contendo 2% de ácido acético (A) e metanol (B), e a composição de gradiente foi: 5% (B) por dois minutos; 25% (B) até dez minutos; 40, 50, 60, 70 e 80% (B) a cada dez minutos, de acordo com o método descrito por Sabir et al. (2012) com pequenas modificações. As infusões das folhas e frutos das quatro populações de *C. trichotoma*, além da fase móvel, foram filtradas através de um filtro de membrana de 0.45 μ m (Millipore), e degaseificadas por banho de ultrassom antes do uso. As amostras de *C. trichotoma* foram analisadas

na concentração de 20 mg.mL⁻¹. A taxa de fluxo foi de 0.7 ml.min, volume de injeção de 50 µl. O comprimento de onda foi de 271 nm para o ácido gálico, 280 nm para a catequina e epicatequina, 327 nm para os ácidos cafeico, clorogênico, rosmarínico e elágico, e 365 nm para a rutina, quercitrina, quercetina, isoquercitrina e canferol.

Soluções-estoque dos padrões de referência foram preparadas na fase móvel da CLAE com uma variação na concentração de 0.050–0.250 mg.ml⁻¹ para a catequina, epicatequina, quercitrina, isoquercitrina, quercetina, canferol e rutina; 0.020–0.200 mg.ml⁻¹ para os ácidos gálico, clorogênico, cafeico, rosmarínico e elágico.

Os picos de cromatografia foram confirmados comparando seu tempo de retenção com aqueles dos padrões de referência e por meio dos espectros de DAD (200 a 500 nm). A curva de calibração para o ácido gálico foi: $Y = 12740x + 1375.6$ ($r = 0.9991$); para a catequina: $Y = 13481x + 1206.5$ ($r = 0.9997$); para a epicatequina: $Y = 11984x + 1257.2$ ($r = 0.9996$); para o ácido clorogênico: $Y = 11984x + 14011.7$ ($r = 0.9999$); para o ácido cafeico: $Y = 13472x + 1570.3$ ($r = 0.9996$); para o ácido rosmarínico: $Y = 14168x + 1367.2$ ($r = 0.9993$); para o ácido elágico: $Y = 11679x + 1307.1$ ($r = 0.9989$); para a quercitrina: $Y = 15183x + 1374.6$ ($r = 0.9992$); para a isoquercitrina: $Y = 13754x + 1267.9$ ($r = 0.9993$); quercetina: $Y = 12547x + 1138.5$ ($r = 0.9997$); para a rutina: $Y = 15983x + 1321.5$ ($r = 0.9998$) e para o canferol: $Y = 16423x + 1853.2$ ($r = 0.9990$).

Todas as operações de cromatografia foram realizadas em temperatura ambiente e em triplicata. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram calculados com base no desvio padrão das respostas, e a inclinação, usando três curvas analíticas independentes. LOD e LOQ foram calculados como 3.3 e 10 σ/S , respectivamente, onde σ é o desvio padrão da resposta, e S é a inclinação da curva de calibração (BOLIGON et al., 2013).

2.4 Análise Estatística

Os dados foram analisados quanto à normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias, e em seguida, submetidos à análise da variância, na qual as médias dos índices mitóticos foram comparadas utilizando-se o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Resultados

3.1.1 Sistema-teste *A. cepa*

Os resultados obtidos para o experimento 1 podem ser observados na tabela 1. Houve diferenças significativas entre as concentrações usadas no preparo dos extratos aquosos das folhas de *C. trichotoma*, tanto na população de Cruz Alta quanto na população de Nova Esperança do Sul. Em ambas as populações, a concentração mais elevada do extrato (20 g.L^{-1}) proporcionou uma maior redução do índice mitótico, observado no ciclo celular de *A. cepa*, em comparação ao extrato na concentração de 5 g.L^{-1} (Tabela 1).

As maiores concentrações dos chás não diferiram nem entre as duas populações (T3 e T5), nem com o glifosato (T6), que é o controle positivo, e na concentração de 2% causou inibição da divisão celular (Tabela 1).

Os tratamentos com a concentração de 5 g.L^{-1} (T2 e T4) não diferiram nem entre as duas populações, nem com o controle negativo em água destilada (T1), para o qual foi observado índice mitótico de 4,34%.

As células em intérfase e em divisão celular regulares durante as fases prófase, metáfase, anáfase e telófase foram observadas em praticamente todos os tratamentos, com exceção do controle positivo em glifosato, o qual não apresentou células em metáfase mitótica. Além disso, para o controle positivo, a maioria das células observadas estava em intérfase (Tabela 1).

Observa-se que o controle negativo registrou o maior número de células em divisão, seguido por T4. Na figura 2, observam-se as células em intérfase e em divisão celular normais do controle negativo em água destilada.

Tabela 1 – Médias dos índices mitóticos das células de raízes de *Allium cepa* tratadas com extratos aquosos por infusão das folhas de *Cordia trichotoma* em diferentes concentrações e para populações distintas (experimento1).

Tratamentos	TCA	Células em Intérfase	P	M	A	T	Índice Mitótico (%)
T1	2000	1898	41	16	19	26	4.34 ^a
T2	2000	1939	24	11	10	16	2.80 ^a
T3	2000	1977	5	8	6	4	0.74 ^b
T4	2000	1915	23	23	23	6	3.60 ^a
T5	2000	1952	18	10	9	11	1.88 ^b
T6	2000	1992	2	0	2	4	0.51 ^b

T1- água destilada (controle negativo); T2- chá 5 g.L⁻¹ das folhas de Cruz Alta; T3- chá 20 g.L⁻¹ das folhas de Cruz Alta; T4- chá 5 g.L⁻¹ das folhas de Nova Esperança do Sul; T5- chá 20 g.L⁻¹ das folhas de Nova Esperança do Sul; T6- glifosato 2% (controle positivo). TCA- Total de Células Analisadas. P= Prófase; M= Metáfase; A= Anáfase; T= Telófase. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Scott-Knott, a um nível de 5% de probabilidade de erro. CV= 62,05%

De forma semelhante ao que ocorreu com os extratos das folhas no primeiro experimento, ao aumentar a concentração das infusões dos frutos de *C. trichotoma*, foi verificada uma diminuição do índice mitótico da região meristemática das raízes de *A. cepa* (Tabela 2). Os extratos aquosos preparados com a concentração de 20 g.L⁻¹ (T3 e T5) não diferiram estatisticamente entre si. Por tratar-se de uma concentração que causou efeito antiproliferativo, os tratamentos nos quais ela foi usada diferiram estatisticamente do controle negativo (T1) em água destilada. Entretanto, esses tratamentos não diferiram do controle positivo (T6) em glifosato, no qual foram observadas poucas células em divisão mitótica, embora o número de células em mitose ser maior que o verificado no controle positivo do experimento 1.

Por sua vez, os extratos aquosos preparados na concentração de 5 g.L⁻¹ (T2 e T4), além de apresentarem efeito antiproliferativo menor que os tratamentos

realizados na maior concentração, ainda diferiram estatisticamente da água destilada e do glifosato (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias dos índices mitóticos das células de raízes de *Allium cepa* tratadas com extratos aquosos por infusão dos frutos de *Cordia trichotoma* em diferentes concentrações e para populações distintas (experimento 2).

Tratamentos	TCA	Células em Intérfase	P	M	A	T	Índice Mitótico (%)
T1	2000	1883	40	38	14	25	4.33 ^a
T2	2000	1953	12	16	8	11	2.26 ^b
T3	2000	1979	4	9	3	5	1.13 ^c
T4	2000	1947	11	19	9	14	2.73 ^b
T5	2000	1972	6	12	2	8	1.23 ^c
T6	2000	1946	17	13	8	16	0.26 ^c

T1- água destilada (controle negativo); T2- chá 5 g.L⁻¹ dos frutos de Santa Maria; T3- chá 20 g.L⁻¹ dos frutos de Santa Maria; T4- chá 5 g.L⁻¹ dos frutos de Nova Esperança do Sul; T5- chá 20 g.L⁻¹ dos frutos de Nova Esperança do Sul; T6- glifosato 2% (controle positivo). TCA- Total de Células Analisadas. P= Prófase; M= Metáfase; A= Anáfase; T= Telófase. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Scott-Knott, a um nível de 5% de probabilidade de erro. CV= 61,96%

As análises das células em intérfase e em divisão celular, pelo teste de *A. cepa*, mostraram a presença de irregularidades cromossômicas dos tipos pontes anafásicas, cromossomos perdidos e metáfases desorganizadas; contudo, não houve diferença significativa entre o controle negativo em água e os demais tratamentos, e nem entre os mesmos. Além disso, numericamente, os valores das alterações foram muito reduzidos, atingindo, no máximo, 0,3%. Por esse motivo, verificou-se que as infusões preparadas a partir das folhas e frutos das quatro populações de *C. trichotoma* não apresentaram efeito genotóxico sobre as células meristemáticas de *A. cepa*.

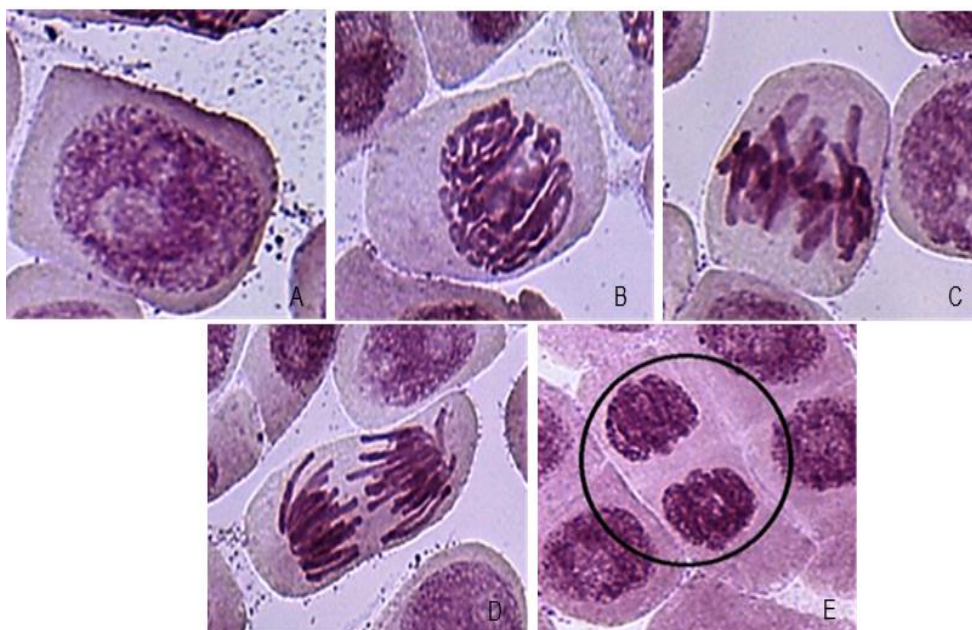


Figura 2 – Células de *Allium cepa* submetidas ao controle negativo (água destilada) durante a divisão celular mitótica. A- intérfase; B- prófase; C- metáfase; D- anáfase; E- telófase.

3.1.2 Compostos fenólicos

Foram detectados os seguintes compostos fenólicos nos extratos aquosos das folhas e dos frutos de *C. trichotoma* das populações de Cruz Alta, Nova Esperança do Sul e Santa Maria: ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido gálico, ácido rosmarínico, canferol, catequina, epicatequina, isoquercitrina, quercetina, quercitrina e rutina. As substâncias epicatequina e isoquercitrina foram encontradas apenas nos extratos preparados a partir dos frutos em ambas as populações; contudo, os demais compostos fenólicos foram observados tanto nos extratos das folhas quanto dos frutos para as quatro populações.

A análise da cromatografia do extrato das folhas da população de *C. trichotoma* de Cruz Alta revelou a presença de ácido gálico (tR = 10,23 min; pico 1), catequina (tR = 15,09 min; pico 2), ácido clorogênico (tR = 20,17 min; pico 3), ácido cafeico (tR = 24,85; pico 4), ácido rosmarínico (tR = 31,52 min; pico 5), ácido elágico

(tR = 35,01 min; pico 6), rutina (tR = 41,76 min; pico 7), quercitrina (tR = 44,93 min; pico de 8), quercetina (tR = 43,27 min; pico 9) e canferol (tR = 54,16 min; pico 10).

Na figura 3 é possível observar que o composto mais representativo para este extrato foi o ácido cafeico. Por outro lado, o ácido elágico e o canferol foram as substâncias menos presentes no perfil cromatográfico das folhas da população de Cruz Alta.

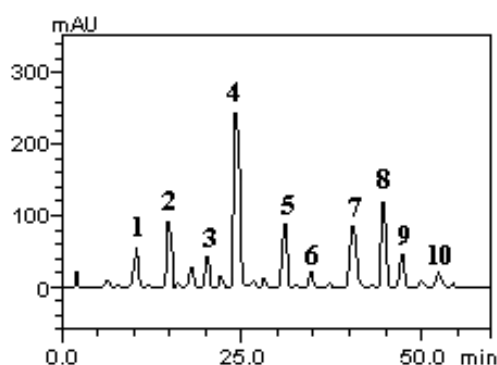


Figura 3 – Perfil representativo da cromatografia líquida de alta eficiência das folhas da população de *Cordia trichotoma* de Cruz Alta; detecção UV a 327 nm. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido cafeico (pico 4), ácido rosmarínico (pico 5), ácido elágico (pico 6), rutina (pico 7), quercitrina (pico 8), quercetina (pico 9) e canferol (pico 10).

A tabela 3 confirma os dados verificados no perfil, uma vez que é possível observar que o ácido cafeico obteve a maior concentração entre os compostos fenólicos detectados pela cromatografia líquida (1,64%). Enquanto isso, os compostos que apresentaram as menores concentrações no extrato aquoso das folhas oriundas de Cruz Alta foram o ácido elágico e o canferol, com 0,17% e 0,18%, respectivamente.

Tabela 3 – Compostos fenólicos e flavonoides em folhas de *Cordia trichotoma* de Cruz Alta.

Compostos			LOD	LOQ
	mg.L ⁻¹	%	μg.mL ⁻¹	
Ácido Gálico	3.56 ± 0.01 a*	0.35	0.017	0.056
Catequina	7.01 ± 0.02 b	0.70	0.034	0.112
Ácido Clorogênico	3.12 ± 0.01 a	0.31	0.009	0.030
Ácido Cafeico	16.48 ± 0.01 c	1.64	0.015	0.049
Ácido Rosmarínico	7.19 ± 0.03 b	0.71	0.028	0.093
Ácido Elágico	1.74 ± 0.02 d	0.17	0.031	0.102
Rutina	7.23 ± 0.05 b	0.72	0.046	0.151
Quercitrina	8.31 ± 0.01 e	0.83	0.011	0.036
Quercetina	3.45 ± 0.01 a	0.34	0.008	0.027
Canferol	1.82 ± 0.02 d	0.18	0.035	0.114

Resultados são expressos como média ± desvios padrões (SD) de três determinações. LOD é o limite de detecção e LOQ é o limite de quantificação. Médias seguidas por letras diferentes diferem pelo Teste Tukey a $p < 0.05$.

A análise da cromatografia do extrato das folhas de *C. trichotoma* da população de Nova Esperança do Sul revelou a presença de ácido gálico ($t_R = 10.27$ min; pico 1), catequina ($t_R = 15.09$ min; pico 2), ácido clorogênico ($t_R = 20.13$ min; pico 3), ácido cafeico ($t_R = 24.85$; pico 4), ácido rosmarínico ($t_R = 31.52$ min; pico 5), ácido elágico ($t_R = 35.01$ min; pico 6), rutina ($t_R = 41.76$ min; pico 7), quercitrina ($t_R = 44.93$ min; pico 8), quercetina ($t_R = 43.25$ min; pico 9) e canferol ($t_R = 54.18$ min; pico 10). Os compostos fenólicos mais representativos neste extrato foram o ácido cafeico e o ácido rosmarínico, como pode ser observado na figura 4. O ácido elágico, por sua vez, foi o composto menos observado no perfil cromatográfico, a

exemplo do que ocorreu no perfil do extrato das folhas de *C. trichotoma* de Cruz Alta.

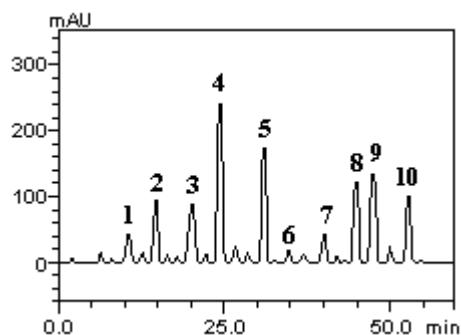


Figura 4 – Perfil representativo da cromatografia líquida de alta eficiência das folhas da população de *Cordia trichotoma* de Nova Esperança do Sul; detecção UV a 327 nm. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido cafeico (pico 4), ácido rosmarínico (pico 5), ácido elágico (pico 6), rutina (pico 7), quercitrina (pico 8), quercetina (pico 9) e canferol (pico 10).

A concentração de ácido cafeico no extrato das folhas de Nova Esperança do Sul foi de 1,59%, sendo a maior entre todos os compostos fenólicos. Por outro lado, a menor concentração foi obtida pelo ácido elágico, seguido pela rutina, os quais apresentaram concentração de 0,17% e 0,31%, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 – Compostos fenólicos e flavonoides em folhas de *Cordia trichotoma* de Nova Esperança do Sul.

(continua)

Compostos			LOD	LOQ
	mg.L ⁻¹	%	μg.mL ⁻¹	
Ácido Gálico	3.37 ± 0.01 a*	0.33	0.017	0.056
Catequina	7.18 ± 0.02 b	0.71	0.034	0.112
Ácido Clorogênico	6.95 ± 0.01 b	0.69	0.009	0.030
Ácido Cafeico	15.97 ± 0.03 c	1.59	0.015	0.049
Ácido Rosmarínico	13.40 ± 0.01 d	1.34	0.028	0.093
Ácido Elágico	1.74 ± 0.01 e	0.17	0.031	0.102
Rutina	3.16 ± 0.02 a	0.31	0.046	0.151

Tabela 4 – Compostos fenólicos e flavonoides em folhas de *Cordia trichotoma* de Nova Esperança do Sul.

(conclusão)

Compostos			LOD	LOQ
	mg.L ⁻¹	%	μg.mL ⁻¹	
Quercitrina	8.95 ± 0.03 f	0.89	0.011	0.036
Quercetina	9.34 ± 0.01 f	0.93	0.008	0.027
Canferol	7.50 ± 0.02 b	0.75	0.035	0.114

Resultados são expressos como média ± desvios padrões (SD) de três determinações. LOD é o limite de detecção e LOQ é o limite de quantificação. *Médias seguidas por letras diferentes diferem pelo Teste Tukey a $p < 0.05$.

A análise dos extratos dos frutos de *C. trichotoma* revelou a presença do ácido gálico ($t_R = 10.19$ min; pico 1), catequina ($t_R = 15.04$ min; pico 2), ácido clorogênico ($t_R = 20.13$ min; pico 3), ácido cafeico ($t_R = 24.85$ min; pico 4), epicatequina ($t_R = 27.36$ min; pico 5), ácido rosmarínico ($t_R = 30.52$ min; pico 6), ácido elágico ($t_R = 34.91$ min; pico 7), rutina ($t_R = 40.16$ min; pico 8), isoquercitrina ($t_R = 43.67$ min; pico 9), quercitrina ($t_R = 45.03$ min; pico 10), quercetina ($t_R = 47.25$ min; pico 11) e canferol ($t_R = 53.18$ min; pico 12)

A cromatografia dos extratos aquosos dos frutos de *C. trichotoma* de ambas as populações registrou a presença de dois novos compostos fenólicos, não encontrados nos extratos das folhas: epicatequina e isoquercitrina.

Os compostos mais representativos no perfil cromatográfico dos frutos, para ambas as populações de *C. trichotoma*, foram o ácido rosmarínico e o ácido elágico (Figura 5).

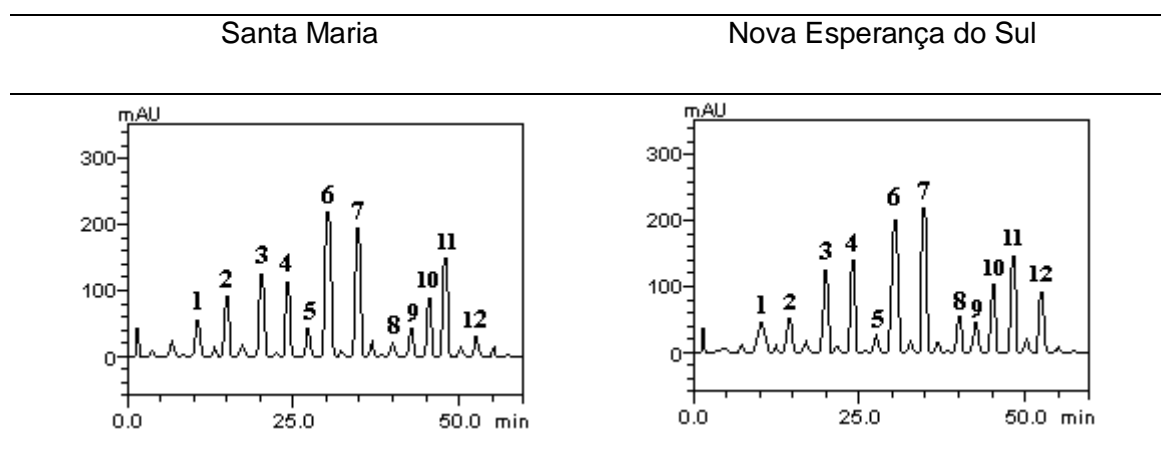


Figura 5 – Perfil representativo da cromatografia líquida de alta eficiência dos frutos de *Cordia trichotoma* das populações de Santa Maria e de Nova Esperança do Sul; detecção UV a 327 nm. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido cafeico (pico 4), epicatequina (pico 5), ácido rosmarínico (pico 6), ácido elágico (pico 7), rutina (pico 8), isoquercitrina (pico 9), quercitrina (pico 10), quercetina (pico 11) e canferol (pico 12).

Para os frutos da população de Nova Esperança do Sul, o composto fenólico com a maior concentração foi o ácido elágico (1,67%), enquanto a menor concentração foi obtida pela epicatequina (0,23%). Entretanto, para os frutos da população de Santa Maria, a maior concentração foi verificada para o ácido rosmarínico (1,63%), e a menor para a rutina (0,12%) (Tabela 5).

Tabela 5 – Compostos fenólicos e flavonoides em frutos de *Cordia trichotoma* de Nova Esperança do Sul e Santa Maria.

(continua)

Compostos	Santa Maria		Nova Esperança do Sul		LOD	LOQ
	mg.L ⁻¹	%	mg.L ⁻¹	%		
Ácido Gálico	3.67 ± 0.03 a*	0.36	3.91 ± 0.01 a*	0.39	0.017	0.056
Catequina	6.11 ± 0.01 b	0.61	4.45 ± 0.02 a	0.44	0.034	0.112
Ácido Clorogênico	9.58 ± 0.01 c	0.95	9.72 ± 0.01 b	0.97	0.009	0.030
Ácido Cafeico	8.70 ± 0.02 c	0.87	10.26 ± 0.01 b	1.02	0.015	0.049

Tabela 5 – Compostos fenólicos e flavonoides em frutos de *Cordia trichotoma* de Nova Esperança do Sul e Santa Maria.

(conclusão)

Compostos	Santa Maria		Nova Esperança do Sul		LOD	LOQ
	mg.L ⁻¹	%	mg.L ⁻¹	%		
Epicatequina	2.65 ± 0.03 d	0.26	2.37 ± 0.03 b	0.23	0.010	0.034
Ácido Rosmarínico	16.34 ± 0.01 e	1.63	15.94 ± 0.01c	1.59	0.028	0.093
Ácido Elágico	15.02 ± 0.01 f	1.50	16.73 ± 0.02d	1.67	0.031	0.102
Rutina	1.25 ± 0.02 g	0.12	4.51 ± 0.03 a	0.45	0.046	0.151
Isoquercitrina	2.71 ± 0.03 d	0.27	4.19 ± 0.01 a	0.40	0.027	0.089
Quercitrina	5.98 ± 0.02 b	0.59	6.74 ± 0.03 e	0.67	0.011	0.036
Quercetina	11.65 ± 0.01h	1.16	10.96 ± 0.01b	1.09	0.008	0.027
Canferol	2.30 ± 0.01 d	0.23	6.12 ± 0.03 e	0.61	0.035	0.114

Resultados são expressos como média ± desvios padrões (SD) de três determinações. LOD é o limite de detecção e LOQ é o limite de quantificação. *Médias seguidas por letras diferentes diferem pelo Teste Tukey a $p < 0.05$.

3.2 Discussão

3.2.1 Sistema-teste *A. cepa*

Os resultados obtidos em ambos os experimentos demonstraram que houve atividade antiproliferativa nos extratos preparados com as folhas e os frutos de *C. trichotoma* nas distintas populações. Além disso, os extratos de maior concentração (20 g.L⁻¹) apresentaram efeito antiproliferativo mais acentuado que aquele observado

nos extratos de menor concentração (5 g.L⁻¹), tanto para as folhas quanto para os frutos, em quaisquer populações analisadas.

Fachinetto et al. (2007), ao utilizarem extratos aquosos de duas populações de marcela (*Achyrocline satureioides* DC) nas concentrações de 5 mg.mL⁻¹ e 20 mg.mL⁻¹, não observaram diferença significativa entre os extratos oriundos de populações distintas da planta sobre a divisão celular de *A. cepa*, e da mesma forma que ocorreu com as infusões de *C. trichotoma*, a maior concentração das infusões de marcela inibiu de maneira mais acentuada o índice mitótico, indicando, assim, um efeito antiproliferativo maior para a concentração de 20 mg.mL⁻¹.

Os dados obtidos neste estudo estão de acordo com o observado por Frescura et al. (2012) quando, ao avaliarem duas populações de *L. divaricata*, obtiveram resultados semelhantes ao aumentar a concentração das infusões preparadas a partir de folhas e cascas de duas populações da espécie. No referido trabalho, as concentrações de 6 g.L⁻¹ e 30 g.L⁻¹ das folhas, bem como as concentrações de 32 g.L⁻¹ e 160 g.L⁻¹ das cascas de *L. divaricata* provocaram um declínio nos valores dos índices mitóticos sobre o ciclo celular de *A. cepa* nesses tratamentos, a exemplo do que ocorreu com o índice mitótico das células de *A. cepa* tratadas com extratos aquosos de *C. trichotoma* nas duas concentrações.

Em outro trabalho, Frescura (2012) relatou um declínio no índice mitótico ao utilizar extratos da espécie *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Briton nas concentrações de 5 g.L⁻¹ e 20 g.L⁻¹, de maneira que, na maior concentração, o efeito antiproliferativo foi maior, comparando-se com o extrato na menor concentração e também com o controle negativo em água destilada.

Fachinetto e Tedesco (2009) relataram o efeito antiproliferativo dos extratos de duas populações de carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) A.P. de Candolle) e de duas populações de carquejinha (*Baccharis articulata* (Lam.) Pers.) nas concentrações de 15 mg.mL⁻¹ e 75 mg.mL⁻¹ sobre o ciclo celular de *A. cepa*, devido à redução no índice mitótico em comparação com o controle negativo em água destilada.

Outros autores também relataram a diminuição do índice mitótico das células das raízes de cebola submetidas à maior concentração dos extratos aquosos, e, portanto, maior efeito antiproliferativo. Foi o caso de Teixeira et al. (2003) em um estudo com a goiabeira (*Psidium guajava* L.) e mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), assim como o que demonstrou Knoll et al. (2006) em uma pesquisa acerca do

potencial genotóxico de diferentes populações de quitoco (*Pterocaulom polystachyum* D.C.).

Em um estudo que tratava do potencial citotóxico da erva-lanceta (*Solidago microglossa* DC.), Bagatini et al. (2009) avaliaram o efeito de infusões das folhas da planta sobre o ciclo celular de *A. cepa*, e observaram que a maior concentração testada (14 mg.mL^{-1}) provocou uma redução no índice mitótico comparando-se ao controle negativo em água destilada e também à menor dose do extrato ($1,75 \text{ mg.mL}^{-1}$), demonstrando, assim, o efeito antiproliferativo dessa espécie.

De acordo com Ya-Qin et al. (2001), *S. microglossa* possui flavonoides em sua composição, os quais possuem atividade citotóxica. Foi registrado que os flavonoides presentes em lúpulo (*Humulus lupulus* L.) e *Lonchocarpus* spp. apresentaram efeito antiproliferativo e citotóxico sobre o ciclo celular do câncer de próstata (DELMULLE et al., 2006; BORGES-ARGÁEZ et al., 2007). Por outro lado, a pesquisa realizada por Camparoto et al. (2002) não detectou inibição celular em *A. cepa* ao utilizarem infusões de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e *B. candicans*, embora essas espécies contenham flavonoides e taninos. Além disso, a alta concentração dessas substâncias pode ser responsável pela atividade antimutagênica e provavelmente anticancerígena apresentada pelo chá-verde (*Camellia sinensis* L.) (BU-ABBAS et al., 1996).

Tedesco et al. (2012) observaram efeito antiproliferativo em extratos de poejo (*Mentha pulegium* L.) sobre o ciclo celular de *A. cepa*. Nesse trabalho, foram preparados extratos aquosos nas concentrações de 5 g.L^{-1} , 15 g.L^{-1} e 30 g.L^{-1} , de maneira que a maior concentração inibiu completamente a divisão celular, já que todas as células analisadas na concentração de 30 g.L^{-1} encontravam-se em intérfase. Por causa disso, o índice mitótico verificado para as células de cebola na maior dose dos extratos foi 0%.

Coelho (2013) relatou efeito antiproliferativo em células de *A. cepa* submetidas ao extrato de chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus* (Cham. e Schtdl.) Micheli) na concentração de 24 g.L^{-1} em comparação com o extrato de 6 g.L^{-1} da planta e com a água destilada, devido à queda acentuada no valor do índice mitótico para a maior concentração. Além disso, a autora encontrou IM de 1,02% para o tratamento com glifosato 15% no experimento com populações de *E. grandiflorus*, e IM de 0,16% para o glifosato 15% no experimento com populações de falso-chapéu-de-couro (*Sagittaria montevidensis* Cham. e Schlecht), indicando,

dessa forma, intensa inibição na divisão celular mitótica de *A. cepa* para o controle positivo em ambos os experimentos realizados. Esses resultados corroboram com o que ocorreu no tratamento em glifosato 2% no presente estudo.

Em uma pesquisa conduzida por Luz et al. (2012), foi observada a redução no IM em células meristemáticas de *A. cepa* tratadas com extrato hidroalcoólico de transagem (*Plantago major* L.) em concentrações iguais ou maiores a 1 mg.mL⁻¹. Isso demonstra que o extrato interferiu no ciclo celular normal devido à inibição da divisão das células, alertando que o mesmo possui atividade citotóxica, uma vez que, segundo Carvalho et al. (2005), pode-se determinar a citotoxicidade de uma substância pelo aumento ou diminuição do IM das células expostas ao seu efeito.

O decréscimo no índice mitótico mostra a capacidade que o extrato de *P. major* possui para que ocorra a diminuição da proliferação celular, indicando seu uso como potencial anticarcinogênico e antitumoral, como fora relatado em pesquisas anteriores para outras espécies do gênero *Plantago* (LUZ et al., 2012).

Outros modelos de bioindicadores *in vivo* também são utilizados para verificação da inibição da divisão celular. Foi verificado efeito antiproliferativo em células de alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a extratos aquosos de folhas secas de mamona (*Ricinus communis* L.) nas concentrações de 20 mg.mL⁻¹ e 40 mg.mL⁻¹, visto que, na maior concentração, todas as células analisadas encontravam-se em intérfase; portanto, o IM para tal tratamento foi 0% (CUCHIARA et al., 2007).

Os efeitos mutagênicos e antiproliferativos dos flavonoides foram relatados por pesquisadores como Santos e Salatino (2000); Labieniec et al. (2003), além de Knoll et al. (2006); Fachinetto et al. (2007), ao fazerem uso do sistema-teste *A. cepa* em estudos com plantas que apresentam esse grupo de compostos fenólicos em sua constituição, como em *P. polystachyum* e *A. satureioides*.

3.2.2 Compostos fenólicos

Os resultados da cromatografia líquida de alta eficiência relataram a presença de diferentes compostos fenólicos nos extratos aquosos das folhas e frutos de *C. trichotoma*, tais como ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido gálico, ácido rosmarínico, canferol, catequina, epicatequina, isoquercitrina, quercetina, quercitrina e rutina.

De acordo com Tomás-Barberán e Espín (2001), esse grupo de metabólitos secundários está relacionado com a prevenção de doenças cardiovasculares e câncer. Em estudos que tratam do efeito dos compostos fenólicos presentes na dieta, o ácido cafeico e derivados, os flavonóis como a quercetina, catequinas, resveratrol, entre outros, são as substâncias mais requeridas.

Os metabólitos epicatequina e isoquercitrina foram encontrados somente nos extratos dos frutos de *C. trichotoma*. No entanto, todos os outros compostos relatados foram observados nos extratos das folhas e dos frutos das quatro populações.

Abe et al. (2007), por meio da técnica da CLAE, relataram a presença de epicatequina em cinco cultivares de uvas das espécies *Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L. cultivadas no estado de Minas Gerais. Antonelli-Ushirobira et al. (2004) observaram este metabólito em extratos brutos preparados a partir de sementes de guaraná (*Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) oriundas da Amazônia brasileira.

Para Meyer et al. (1997), tanto a epicatequina quanto a catequina (flavanóis) parecem estar relacionadas às cascas e às sementes dos frutos.

A substância isoquercitrina, por sua vez, foi detectada em extratos metanólicos de folhas e galhos de *Bauhinia purpurea* coletados nos municípios de Manaus e São Gabriel da Cachoeira, no Amazonas (SANTOS et al., 2014).

Barni, Filho e Couto (2009) encontraram isoquercitrina nas folhas e na planta inteira da espécie salsa-da-praia (*Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br.) por meio da técnica de cromatografia em camada delgada (CCD). Entretanto, os pesquisadores não observaram a presença deste fenólico nos caules da planta utilizados para o estudo, e concluíram que o teor de flavonoides totais nas folhas desta espécie é quase quatro vezes maior que aquele relatado para os caules.

Tanto os agentes bióticos quanto os abióticos são responsáveis pelo acúmulo de compostos fenólicos nos vegetais. Fenólicos como o canferol e isoflavonoides têm sua concentração aumentada nas plantas com a exposição destas à radiação ultravioleta, e assim, protegem-nas dos efeitos nocivos dos raios UV-B, evitando a morte celular. O ácido clorogênico, por sua vez, é acumulado na planta em função da ocorrência de ferimentos, já que trata-se de um metabólito relacionado com a parede celular (DIXON; PAIVA, 1995).

Flavonas e flavonóis são dois tipos de flavonoides observados nas folhas e nas flores das plantas verdes. Sua presença está relacionada com a proteção contra os raios UV-B (280-320 nm), uma vez que podem agrupar-se nas camadas epidérmicas das folhas, e absorverem a luz dessa região do espectro. Há uma grande síntese de flavonas e flavonóis em vegetais que têm sua exposição à radiação UV-B aumentada (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Souza et al. (2003) observaram uma maior intensidade de flavonoides em galhos de candeia-da-serra (*Vanillosmopsis erythropappa* Schult. Bip.) nos meses de verão. Esse acúmulo de metabólitos pode estar relacionado com a proteção que estes conferem aos vegetais em relação à incidência de raios ultravioleta. Os flavonoides ainda agem contra a ação de insetos, fungos, vírus e bactérias.

Oh et al. (2001); Lima et al. (2006) relataram a importância dos flavonoides e demais compostos fenólicos como agentes antioxidantes. O estudo conduzido por Tapia et al. (2004) confirma isso, uma vez que foi observada a inibição da formação de radicais livres por extratos aquosos da espécie *Baccharis grisebachii* Hieron *in vitro*. Tal efeito foi relacionado com a presença de compostos fenólicos isolados na planta.

Atribuem-se aos flavonoides das espécies do gênero *Plantago* as atividades de prevenção e inibição de diferentes tipos de câncer (GALVÉZ et al., 2003). Foi relatada, na espécie *P. major*, a presença do ácido clorogênico (LORENZI; MATOS, 2002).

Segundo Li et al. (1993), por não produzirem a enzima chalcona sintase, os mutantes de *Arabidopsis thaliana* não conseguem sintetizar flavonoides, e dessa forma, são mais suscetíveis à radiação UV-B.

A alelopatia ocorre quando os compostos liberados por uma planta acarretam efeitos em outra (TAIZ; ZEIGER, 2013). Foi demonstrado que o ácido cafeico possui atividade alelopática, uma vez que observou-se a inibição da germinação e o crescimento de algumas plantas expostas ao seu efeito em laboratório (INDERJIT et al., 1995).

Um dos ácidos fenólicos encontrados nos extratos aquosos das folhas e frutos de *C. trichotoma* foi o ácido gálico. De acordo com Carvalho, Gosmann e Schenkel (2001), esse metabólito é encontrado naturalmente na forma de ácido elágico, o qual representa seu dímero de condensação. Ambos são formadores de outra classe de fenólicos, a dos taninos hidrolisáveis. Os taninos, por sua vez, são

formados por alguns ácidos fenólicos como o ácido gálico, além de açúcares (TAIZ; ZEIGER, 2013), e possuem comprovada atividade alelopática, interferindo na germinação de sementes e no crescimento de plantas (COSTA, 1975; ALMEIDA, 1988), além de conferirem, às madeiras-de-lei, resistência contra o ataque de fungos e insetos, tornando-as muito valiosas (ALMEIDA, 1988; SIQUEIRA et al., 1991).

Silva et al. (1995) observaram os efeitos anti-inflamatório, antivirótico, antioxidante e antimicrobiano do flavonoide quercetina, bem como o efeito fungistático para o canferol, além do efeito antivaricoso conferido à rutina.

Em extratos de hipérico (*Hypericum perforatum* L.), foi observada a presença de flavonoides na concentração de 2 a 4%, e relatado o efeito antioxidante desses metabólitos (VITIELLO 1999; BILIA et al., 2002). Esta espécie possui atividade antidepressiva (WOELK 2000; BILIA et al., 2002), e para Butterweck et al. (2000); Nöldner e Schötz (2002), a presença de flavonoides como a rutina pode estar relacionada com tal efeito.

Em ramos vegetativos de hipérico cultivados no município de Cruz Alta (RS), os pesquisadores Diniz, Astarita e Santarém (2007) observaram que os flavonoides rutina e quercitrina apareceram em maior concentração. Em outra pesquisa com a espécie, Kazlauskas e Bagdonaitė (2004) mostraram que o composto presente em maior concentração nas folhas foi a rutina. Por outro lado, a quercetina foi o metabólito com maior presença nas flores da planta.

Segundo Büter et al. (1998); Constantine e Karchesy (1998), a variabilidade genética das plantas, bem como as partes vegetais empregadas para a análise, além das mudanças de ambiente, podem ter relação direta com a variação dos flavonoides relatados nos perfis. Além disso, as variações sazonais também influenciam na quantidade de flavonoides, como é o caso do aumento de três a cinco vezes na concentração de quercetina e canferol observado em alface e alho-poró (*Allium porrum* L.) durante o verão. Uma explicação para tal aumento é o efeito causado pela luz na biossíntese dos flavonoides (HOLLMAN; ARTS, 2000).

Coelho (2013) observou a presença de flavonoides e ácidos fenólicos, por meio da técnica de CLAE, em extratos aquosos de populações de *Echinodorus grandiflorus* e *Sagittaria montevidensis* coletadas em diferentes locais no Rio Grande do Sul. Segundo a autora, o ácido cafeico e o flavonoide glicosídeo foram os fenólicos encontrados em maior concentração nos extratos de *E. grandiflorus*,

enquanto em *S. montevidensis*, o composto observado em maior quantidade foi o glicosídeo fenol.

Em *Solidago microglossa* foi relatada a presença do flavonoide glicosídico quercitrina (TORRES; AKISUE; ROQUE, 1987; ROQUE et al., 1988; LORENZI; MATOS, 2000), e de acordo com Smolarek et al. (2009), a presença desse flavonoide confere à espécie atividades anti-inflamatória e analgésica.

Em raízes de *Solidago chilensis*, Lorenzi e Matos (2000) isolaram os seguintes compostos fenólicos: rutina, ácido quínico, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido hidrocínâmico e seus derivados. Em outra espécie do gênero, *Solidago aureus*, Guntner et al. (1999) destacaram que a presença de flavonoides como a quercetina pode estar envolvida no efeito antioxidante verificado para a planta.

Além dos flavonoides, outros compostos também podem conferir atividade antioxidante às plantas, já que, segundo Larson (1988); Gugliucci (1996); Yen, Chen e Peng (1997), os ácidos cafeico e clorogênico, além de seus ésteres, apresentam efeito antioxidante. Os autores ainda enfatizam que uma dieta contendo antioxidantes naturais pode retardar o aparecimento de determinadas doenças causadas por reações oxidativas no organismo, e destacam os efeitos benéficos da atividade antioxidante das espécies *Ilex paraguariensis* e *Camellia sinensis*.

A atividade antioxidante verificada em frutos pode estar relacionada à presença de polifenóis na planta (NEGI; JAYAPRAKASHA, 2003). Em romã (*Punica granatum* L.), por exemplo, há relatos da presença de metabólitos como o ácido elágico e o ácido gálico (FETROW; AVILA, 2000).

4 CONCLUSÃO

Os extratos aquosos preparados a partir das folhas e frutos de *C. trichotoma* das populações de Cruz Alta, Nova Esperança do Sul e Santa Maria, nas concentrações de 5 g.L⁻¹ e 20 g.L⁻¹, possuem efeito antiproliferativo em comparação com o controle em água destilada.

O extrato na maior concentração demonstra efeito antiproliferativo maior sobre as células meristemáticas de *A. cepa* quando comparado à menor concentração, em ambos os experimentos realizados.

Os extratos de *C. trichotoma*, em ambas as concentrações testadas, apresentam atividade antiproliferativa, e não possuem capacidade genotóxica sobre o ciclo celular de *A. cepa*.

Os compostos fenólicos analisados nos extratos de *C. trichotoma* são: ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido gálico, ácido rosmarínico, canferol, catequina, epicatequina, isoquercitrina, quercetina, quercitrina e rutina. Epicatequina e isoquercitrina foram encontrados apenas nos frutos.

Nos extratos das folhas das populações de Cruz Alta e Nova Esperança do Sul, o ácido cafeico é o composto mais representativo. No extrato dos frutos da população de Santa Maria, o ácido rosmarínico é o composto fenólico mais presente, enquanto no extrato dos frutos de Nova Esperança do Sul, o metabólito mais representativo é o ácido elágico.

Os resultados apresentados nesta dissertação são inéditos para *C. trichotoma*, uma vez que não foram encontradas, na literatura, informações sobre o potencial antiproliferativo e genotoxicidade, nem a verificação de tais compostos fenólicos para a espécie.

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, abr./jun. 2007.
- ANTONELLI-USHIROBIRA, T. M.; YAMAGUTI, E.; UHEMURA, L. M.; DE MELLO, J. C. P. Controle de Qualidade de Amostras de *Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 23, n. 3, p. 383-386, 2004.
- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; FILHO, J. M. B. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 114-140, jan./mar. 2007.
- ALMEIDA, F. S. **A alelopatia e as plantas**. Londrina, PR: IAPAR, 1988. 60 p.
- AL-SHEHBAZ, I. A. The genera of Boraginaceae in the Southeastern United States. **Journal of the Arnold Arboretum** [S.l.], Suppl. v. 1, p. 1-169, 1991.
- 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**, João Pessoa, v. 17, n. 3, p. 444-447, jul./set. 2007.
- BAGATINI, M. D.; FACHINETTO, J. M.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO S. B. Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 19, n. 2b, p. 632-636, Apr./June 2009.
- BARNI, S. T.; FILHO, V. C.; COUTO, A. G. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria-prima farmacêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 19, n. 4, p. 865-870, out./dez. 2009.
- BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v. 3, Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, Viçosa, 1986. 326 p.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; COSTA, C. G.; ICHASO, C. L. F.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H.C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**, v. 3, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, il., 1991. 326 p.

BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. **Frutos e sementes**: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 443 p.

BILIA, A. R.; GALLORI, S.; VINCIERI, F. F. St. John's wort and depression: efficacy, safety and tolerability – an update. **Life Sciences** [S.l.], v. 70, n. 26, p. 3077-3096, May 2002.

BOLIGON, A. A.; KUBIÇA, T. K.; MARIO, D. B., BRUM, T. F.; PIANA, M.; WEIBLEN, R.; LOVATO, L.; ALVES, S. H.; SANTOS, R. C. V.; ALVES, C. F. S.; ATHAYDE, M. L. Antimicrobial and antiviral activity-guided fractionation from *Scutia buxifolia* Reissek extracts. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v. 35, n. 7, p. 2229-2239, July 2013.

BORGES-ARGÁEZ, R.; BALNBURY, L.; FLOWERS, A.; GIMÉNEZ-TURBA, A.; RUIZ, G.; WATERMAN, P. G.; PENÃ-RODRÍGUEZ, L. M. Cytotoxic and antiprotozoal activity of flavonoids from *Lonchocarpus* spp. **Phytomedicine** [S.l.], v. 14, n. 7-8, p. 530-533, Aug. 2007.

BOWERS, M. D.; STAMP, N. E. Effects of Plant Age, Genotype and Herbivory on *Plantago* Performance and Chemistry. **Ecology**, Washington, v. 74, n. 6, p. 1778-1791, Sep. 1993.

BRUNETON, J. Flavonoids. In: **Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants**. 2.ed. [S.l.] intercept, 2001. 1995 p.

BU-ABBAS, A.; NUNEZ, X.; CLIFFORD, M. N.; WALKER, R.; IOANNIDES, C. 1996. A comparison of the antimutagenic potential of green, black and decaffeinated teas: contribution of flavanols to the antimutagenic effect. **Mutagenesis**, Oxford, v. 11, n. 6, p. 597-603, 1996.

BÜTER, B.; ORLACCHIO, C.; SOLDATI, A.; BERGER, K. Significance of genetic and environmental aspects in the field cultivation of *Hypericum perforatum*. **Planta Medica** [S.l.], v. 64, n. 5, p. 431-437, 1998.

BUTTERWECK, V.; JURGENLIEMK, G.; NAHRSTEDT, A.; WINTERHOFF, H. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. **Planta Medica** [S.l.], v. 66, n. 1, p. 3-6, 2000.

CABRERA, G. L., RODRIGUEZ, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research**. [S.l.], v. 426, n. 2, p. 211-214, 1999.

CALIXTO, J. B. Twenty-five of research on medicinal plants in Latin America. **Journal of Ethnopharmacology** [S.l.], v. 100, n. 1-2, p. 131-134, 2005.

CAMPAROTO, M. L.; TEIXEIRA, R. O.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 85-89., Mar. 2002.

CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C. Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. no vale do rio Paraguaçu, Município de Castro Alves, Bahia. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, p. 333-338, 1999.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídeos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2001. 833 p.

CARVALHO, P. E. R. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 17, p. 63-66, dez. 1988.

CARVALHO, P. E. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e usos da madeira**. Colombo: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Florestas, 1994. 640 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, 2003. 1039 p.

CARVALHO, R. O. et al. Diesel emissions significantly influence composition and mutagenicity of the ambient particles: a case study in São Paulo, Brazil. **Environmental Research** [S.l.], v. 98, n. 1, p. 1-7, 2005.

CAVALHEIRO, L., PERALTA, D. F.; FURLAN, A. Flórula fanerogâmica da planície litorânea de Picinguaba, Ubatuba, SP, Brasil: Boraginaceae. **Hoehnea**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 173-179, ago. 2003.

ÇELIK, T. A.; ASLANTÜRK, O. S. Anti-mitotic and anti-genotoxic effects of *Plantago lanceolata* aqueous extract on *Allium cepa* root tip meristem cells. **Biologia**, Bratislava, v. 61, n. 6, p. 693-697, 2006.

CHAUHAN, L. K. S.; SAXENA, P. N.; GUPTA, S. K. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Environmental and Experimental Botany** [S.l.], v. 42, n. 3, p. 181-189, 1999.

COELHO, A. P. D. **Potencial Genotóxico e Antiproliferativo dos Extratos de *Echinodorus grandiflorus* e *Sagittaria montevidensis* (Alismataceae)**. 2013. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. (Coord). **Introdução a métodos cromatográficos**. 3. ed. Campinas: Unicamp, 1988. 298 p.

CONSTANTINE, G. H.; KARCHESY, J. Variations in Hypericin Concentrations in *Hypericum perforatum* L. and Commercial Products. **Pharmaceutical Biology** [S.l.], v. 36, n. 5, p. 365-367, 1998.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, 1975. 988 p.

CUCHIARA, C. C.; BORGES, C. S.; SOPEZKI, M. S.; SOUZA, S. A. M.; BOBROWSKI, V. L. Efeito Antiproliferativo dos Extratos Aquosos de Mamona (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 639-641, jul. 2007.

DALLA NORA, G.; PASTORI, T.; LAUGHINHOUSE IV, H. D.; CANTO-DOROW, T. S.; TEDESCO, S. B. Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikania glomerata* (Asteraceae). **Biocell**, Mendoza, v. 34, p. 85-101, 2010.

DARROW, K.; BOWERS, M. D. Phenological and population variation in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). **Biochemical Systematics and Ecology** [S.l.], v. 25, n. 1, p. 1-11, 1997.

DELMULLE, L.; BELLAHCÈNE, A.; DHOOGHE, W.; COMHAIRE, F.; ROELENS, F.; HUVAERE, K.; HEYERICK, A.; CASTRONOVO, V.; DE KEUKELEIRE, D. Anti-proliferative properties of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus* L.) in human prostate cancer cell lines. **Phytomedicine** [S.l.], v. 13, n. 9-10, p. 732-734, 2006.

DINIZ, A. C. B.; ASTARITA, L. V.; SANTARÉM, E. R. Alteração dos metabólitos secundários em plantas de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) submetidas à secagem e ao congelamento. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 443-450, abr./jun. 2007.

DIXON, R. P.; PAIVA, N. L. Stress-Induced Phenilpropanoid Metabolism. **The Plant Cell**, USA, v. 7, n. 7, p. 1085-1097, 1995.

DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J. C. B. **Recomposição de matas ciliares**. São Paulo: Instituto Florestal, 1990. 14 p. (IF. Série Registros, 4)

EL-SHAHABY, A. O.; ABDEL MIGID, H. M.; SOLIMAN, M. I.; MASHALY, I. A. Genotoxicity screening of industrial wastewater using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. **Pakistan Journal of Biological Sciences** [S.l.], v. 6, n. 1, p. 23-28, 2003.

EMBRAPA: Centro Nacional de Pesquisa de Florestas (Colombo, PR). **Circular Técnica 66 - louro-pardo**, ISSN 1517-5278, 2002.

FACHINETTO, J. M.; BAGATINI, M. D.; DURIGON, J.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Efeito antiproliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 49-54, jan./mar. 2007.

FACHINETTO, J. M.; TEDESCO, S. B. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema-teste de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 360-367, 2009.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2001. 833 p.

FATIMA, R. A.; AHMAD, M. Genotoxicity of industrial wastewaters obtained from two different pollution sources in northern India: a comparison of three bioassays. **Mutation Research** [S.l.], v. 609, n.1, p. 81-91, 2006.

FETROW, C. W.; AVILA, J. R. **Manual de medicina alternativa para o profissional**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2000. 743 p.

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia** [S.l.], v. 72, n. 7, p. 774-778, 2001.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Reino Unido, v. 102, n. 1, p. 99-112, Mar. 1985.

FRESCURA, V. D. S.; LAUGHINGHOUSE IV, D. H.; TEDESCO, S. B. Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Luehea divaricata* on the *Allium cepa* cell cycle. **Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics**, Florence, v. 65, n. 1, p. 27-33, March 2012.

FRESCURA, V. D. S. **Avaliação do potencial antiproliferativo, genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton e *Psychotria birotula* Smith & Downs (Rubiaceae)**. 2012. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

GÁLVEZ, M. et al. Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology** [S.l.], v. 98, n. 2-3, p. 125-130, 2003.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL *in vivo*. **Biochemical and Biophysical Research Communications** [S.l.], v. 224, n. 2, p. 338-344, 1996.

GÜRKE, M. Boraginaceae. In: A. Engler & K. Prantl (eds.). **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**, Band. 4. (3a), Wilhelm Engelmann, Leipzig, 1897. 183 p.

GUNTNER, C.; BARRA, C.; CESIO, M. V.; DELLACASSA, E.; FERRANDO, L.; FERREIRA, F.; GARCIA, C.; GONZALEZ, G.; HEINZEN, H.; LLORER, A.; LORENZO, D.; MENENDEZ, P.; PAZ, D.; SOULE, S.; VAZQUEZ, A.; MOYNA, P. Antioxidant properties of *Solidago chilensis* L. flavonoids. **Acta Horticulturae** [S.l.] 501, p. 159 -163, 1999.

HARRITT, M. M.; JESUS, R. M. de. **Ecology of four hardwood species of the atlantic forest of Brazil**. Raleigh: North Carolina State University 1 Linhares: Reserva Florestal da CVRD, 1987. 29 p. Mimeografado.

HARTMANN, T. **Ent. Exp. Appl.** [S.l.] 80, 177, 1996.

HENDRINKS, M. M. W. B.; CRUZ-JUAREZ, L.; BONT, D. D.; HALL, R. D. Preprocessing and exploratory analysis of chromatographic profiles of plant extracts. **Analytica Chimica Acta** [S.l.], v. 545, n. 1, p. 53-64, 2005.

HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. 4º Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. **Anais...** Posadas, Argentina, 2006.

HOLLMAN, P. C. H.; ARTS, L. C. W. Review – flavonols, flavones and flavanols: nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, p. 1081-1093, 2000.

INDERJIT; DAKSHINI, K. M. N.; EINHELLIG, F. A. Allelopathy: Organisms, Processes and Applications. **ACS Symposium series American Chemical Society**, Washington, DC, 1995.

JESUS, R.M. de. Restauração florestal na Mata Atlântica. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 3., Ouro Preto. **Do substrato ao solo: trabalhos voluntários**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p. 544-557.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sinauer Associates, Sunderland, 1999. 464 p.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. E.; DONOGHUE, M. J. **Plant Systematics: a Phyllogenetic approach**. 2 ed. Sinauer Associates, Sunderland, 2002. 576 p.

KATAOKA, V. M. F.; CARDOSO, C. A. L. Avaliação do perfil cromatográfico obtidos por CLAE-DAD e da atividade antioxidante das folhas de espécies *Campomanesia sessiliflora* (O. Berg) Mattos e *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 15, n. 1, p. 121-129, 2013.

KAZLAUSKAS, S.; BAGDONAITĖ, E. Quantitative analysis of active substances in St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) by the high performance liquid chromatography method. **Medicina**, Kaunas, v. 40, n. 10, p. 975-98, 2004.

KNOLL, M. F.; SILVA, A. C. F.; CANTO-DOROW, T. S.; TEDESCO, S.B. Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 539-542, 2006.

KUTCHAN, T. M. **Plant Physiol.** [S.I.] 125, 58, 2001.

LAAKMAN, G.; SCHÜLE, C.; BAGHAI, T.; KIESER, M. St. John's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. **Pharmacopsychiatry** [S.I.], v. 31, n. 1, p. 54-59, 1998.

LABIENIEC, M. et al. Antioxidant and pro-oxidant effects of tannins in digestive cells of the freshwater mussel *Unio tumidus*. **Mutation Research** [S.I.], v. 539, n. 1-2, p. 19-28, Aug. 2003.

LARSON, R. A. The antioxidants of higher plants. **Phytochemistry** [S.I.], v. 27, n. 4, p. 969-978, 1988.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research** [S.I.], v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009.

LEVAN, A. The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*. **Hereditas**, United Kingdom, v. 24, n. 4, p. 471-486, 1938.

LI, J.; OU-LEE, T. M.; RABA, R.; AMUNDSON, R. G.; LAST, R. L. Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. **Plant Cell** [S.I.], v. 5, n. 2, p. 171-179, Feb. 1993.

LIMA, A. R.; BARBOSA, V. C.; SANTOS FILHO, P. R.; GOUVÊA, C. M. C. P. Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de folhas de bardana. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 4, p. 531-536, out./dez. 2006.

LINDROTH, R. L.; HSIA, M. T. S.; SCRIBER, J. M. Seasonal patterns in the phytochemistry of three *Populus* species. **Biochemical Systematics and Ecology** [S.I.] v. 15, n. 6, p. 681-686, 1987.

LÖBLER, L. **Propagação, metabolismo secundário e genotoxicidade de *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae)**. 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 384 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

LUBINI, G.; FACHINETTO, J. M.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D.; PARANHOS, J. T.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Extracts affecting mitotic division in root-tip meristematic cells. **Biologia**, Bratislava, v. 63, n. 5, p. 647-651, Oct. 2008.

LUZ, A. C.; PRETTI, I. R.; DUTRA, J. C. V.; BATITUCCI, M. C. P. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas-teste *in vivo*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 635-642, 2012.

MARCHIORI, J. N. C. **Elementos de Dendrologia**. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, 1995. 163 p.

MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Modern separation methods. **Natural Product Reports** [S.l.], v. 8, n. 4, p. 391-413, 1991.

MEDEIROS, A. C. de S. **Relatório técnico de viagem**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. 3 p. não publicado.

MELCHIOR, H. Boraginaceae. In: H. Melchior & E. Werdermann (eds.). **Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien**. Gebrüder Bornträger, Berlin-Nikolassee, 12 ed., v. 2, 1964. 666 p.

MENDONÇA, E. A. F.; RAMOS, N. P.; PAULA, R. C. Viabilidade de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 64-71, 2001.

MENINI, T.; HECK, C.; SCHULZE, J.; MEJIA, E.; GUGLIUCCI, A. Protective action of *Ilex paraguariensis* extract against free radical inactivation of paraoxonase-1 in high-density lipoprotein. **Planta Medica** [S.l.], v. 73, n. 11, p. 1141-1147, Sep. 2007.

MEYER, A. S. et al. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolics antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** [S.l.], v. 45, n. 5, p. 1638-1643, 1997.

NAVE, A. G.; RODRIGUES, R. R.; GANDOLFI, S. Planejamento e recuperação ambiental da Fazenda São Pedro da Mata Município de Riolândia - SP. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 3., 1997, Ouro Preto. **Do substrato ao solo: trabalhos voluntários**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p.67-77.

NEGI, P. S.; JAYAPRAKASHA, G. K. Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* peel extracts. **Journal of Food Science** [S.l.], v. 68, n. 4, p. 1473-1477, 2003.

NÖLDNER, M.; SCHÖTZ, K. Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. **Planta Medica** [S.l.], v. 68, n. 7, p. 577-580, 2002.

NOWICKE, J. W.; RIDGWAY, J. E. Polen studies in the genus *Cordia* (Boraginaceae). **American Journal of Botany** [S.l.], v. 60, n. 6, p. 584-591, 1973.

NOWICKE, J. W.; MILLER, J. S. Pollen morphology of the Cordioideae (Boraginaceae): *Auxemma*, *Cordia* and *Patagonula*. **Plant Systematics and Evolution** [S.l.], v. 5, p. 103-121, 1990.

OH, T. Y.; LEE, J. S.; AHN, B. O.; CHO, H.; KIM, W. B.; SURCH, Y. J.; CHO, S. W.; HAHM, K. B. Oxidative damages are critical in pathogenesis of reflux esophagitis: implication of antioxidants in its treatment. **Free Radical Biology and Medicine** [S.l.], v. 30, n. 8, p. 905-915, Apr. 2001.

PARR, A. J.; BOLWELL, G. P. Review phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or

profile. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 985-1012, 2000.

PEDROSO, O.; MATTOS, J. R. **Estudo sobre madeiras do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Instituto de Pesquisas de Recursos Naturais Renováveis "Ataliba Paz", 1987. 181p.

PERCIVAL, M. Floral ecology of coastal scrub in southeast Jamaica. **Biotropica** [S.l.], v. 6, n. 2, p. 104-129, 1974.

PIETTA, P.; GARBANA, C.; PIETTA, A. Comparative evaluation of St. John's wort from different Italian regions. **Il Farmaco** [S.l.], v. 56, n. 5-7, p. 491-496, 2001.

PINA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, L.; BLOOMFIELD, V. K. Análise do desenvolvimento de espécies arbóreas da mata atlântica em sistema de plantio adensado para a revegetação de áreas degradadas em encosta, no entorno do Parque Estadual do Desengano (RJ). In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 3., Ouro Preto. **Do substrato ao solo: trabalhos voluntários**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p. 283-291.

RANK, J., NIELSEN, M. H. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutation Research**. [S.l.], v. 312, n. 1, p. 17-24, 1994.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIZ, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Governo do Estado do RS, 1988. 525 p.

RETIEF, E.; WYK, A. E. Palynology of southern African Boraginaceae: The genera *Lobostemon*, *Echiostachys* and *Echium*. **Grana** [S.l.], v. 36, n. 5, p. 271-278, 1997.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**: manual de dendrologia brasileira. São Paulo: Blücher, 1971. 294 p.

RIZZINI, C.T. **Tratado de fitogeografia do Brasil – aspecto ecológico**. São Paulo: Universidade de São Paulo, v. 1, 1976. 202 p.

ROQUE, N. F.; VILEGAS, W.; GIANELLA, T. L.; KNUDSEN, F. S.; RONDELLA, G. TORRES, L. M. B.; FERRO, V. O.; OLIVEIRA, F. Estudo químico de *Solidago microglossa*, *Mikania triangularis*, *M. diversifolia*, *M. smilacina*, *M. microleptis* e

Wedelia paludosa. **Suplemento Acta Amazônica** [S.l.], v. 18, n. 1-2, p. 473-476, 1988.

ROSA, S. G. T.; FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta Botânica Brasílica** [S.l.], v. 15, n. 2, p. 147-54, 2001.

SABIR S. M.; AHMAD S. D.; HAMID, A.; KHAN, M. Q.; ATHAYDE, M. L. SANTOS, D. B.; BOLIGON, A. A.; ROCHA, J. B. T. Antioxidant and hepatoprotective activity of ethanolic extract of leaves of *Solidago microglossa* containing polyphenolic compounds. **Food Chemistry** [S.l.], v. 131, n. 3, p. 741-747, Apr. 2012.

SAMPAIO, F. A. **Avaliação pré-clínica dos possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos e mutagênicos da morfina e de seu co-tratamento com o composto 3-(2-cloro-6-fluorobenzil) imidazolidina-2,4-diona (PT -31) em *Allium cepa* e em *Mus musculus***. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2012.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. **Phytochemistry** [S.l.], v. 55, n. 6, p. 567-73, Nov. 2000.

SANTOS, P. M. et al. Perfil de flavonoides e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico de *Bauhinia purpurea* (Fabaceae) da região amazônica. **Química Nova** [S.l.], v. 37, n. 1, p. 89-94, 2014.

SILVA, I.; FRANCO, S. L.; MOLINARI, S. L.; CONEGERO, C. I.; MIRANDA NETO, M. H.; CARDOSO, M. L. C.; SANTANA, D. M. G.; IWANKO, N. S. **Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais**. 3. ed. Cascavel, PR: Assoeste, 1995. 203 p.

SILVA, J.; FONSECA, M. B. Estudos Toxicológicos no Ambiente e na Saúde Humana. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. (Org.). **Genética Toxicológica**, p. 69-84, Ed. Alcance, Porto Alegre, 2003.

SILVA, C. R.; MONTEIRO, M. R.; CALDEIRA-DE-ARAÚJO, A.; BEZERRA, R. J. A. C. Absence of mutagenic and cytotoxic potentiality of senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) evaluated by microbiological tests. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 14, supl. 1, p. 1-3. 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCKENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTEZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed., Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2000. 821 p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2001. 833 p.

SIQUEIRA, J. O.; NAIR, M. G.; HAMMESRSCHIMIDT, R.; SAFIR, G. R. Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. **Critical Reviews in Plant Sciences** [S.l.], v. 10, n. 1, p. 63-121, 1991.

SMITH, L. B. Boragináceas. In: P.R. Reitz (ed.). **Flora lustrada Catarinense**. Conselho Nacional de Pesquisa, Itajaí, p. 1-85, 1970.

SMOLAREK, F. S. F.; NUNES, P. M. P.; CANSIAN, F. C.; MERCALI, C. A.; CARVALHO, J. L. S.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, O. G. Abordagem Fitoquímica e das Atividades Biológicas da Espécie Vegetal *Solidago microglossa* D.C. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 10, n. 1, p. 77-82, jan./jun. 2009.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. Non-ionic samples: reversed and normal phase HPLC. In: **Practical HPLC method development**. New York: Wiley; p. 233-291, 1997.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, SP, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOARES, A. K. A.; CARMO, G. C.; QUENTAL, D. P.; NASCIMENTO, D. F.; BEZERRA, F. A. F.; MORAES, M. O.; MORAES, M. E. A. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, p. 447-454, 2006.

SOUZA, O. V. S.; OLIVEIRA, M. S.; RABELLO, S. V.; CUNHA, R. O.; COSTA, B. L. S.; LEITE, M. N. Estudo farmacognóstico de galhos de *Vanillosmopsis erythropappa* Schult. Bip. – Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 13, supl. 1, p. 50-53, 2003.

SOUZA, L. F. B.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D.; PASTORI, T.; TEDESCO, M.; KUHN, A. W.; CANTO-DOROW, T. S.; TEDESCO, S. B. Genotoxic potential of aqueous

extracts of *Artemisia verlotorum* on the cell cycle of *Allium cepa*. **International Journal of Environmental Studies** [S.l.], v. 67, n. 6, p. 871-877, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TAPIA, A.; RODRIGUEZ, J.; THEODULO, C.; LOPEZ, S.; FERESIN, G. E.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Free radical scavengers and antioxidants from *Baccharis grisebachii*. **Journal of Ethnopharmacology** [S.l.], v. 95, n. 2-3, p. 155-161, Dec. 2004.

TARODA, N. **Taxonomic studies on Brazilian species of *Cordia* L. (Boraginaceae)**. 231 p. Philosophy Doctor Thesis - University of Saint Andrews, Saint Andrews, 1984.

TARODA, N.; GIBBS, P. E. A revision of the Brazilian species of *Cordia* subgenus *Varronia* (Boraginaceae). **Notes from the Royal Botanic Garden**, Edinburgh, v. 44, n. 1, p. 105-140, 1986.

TEDESCO, M.; KUHN, A. W.; AGUIAR, A. R.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Potencial Antiproliferativo de Extratos Aquosos de *Mentha pulegium* L. pelo teste de *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 1914-1919, nov. 2012.

TEIXEIRA, R. O.; CAMPAROTO, M. L.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in *in vivo* assays. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003.

THORNE, R. F. Classification and geography of the flowering plants. **The Botanical Review** [S.l.], v. 58, n. 3, p. 225-327, 1992.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 81, n. 9, p. 853-876, July 2001.

TORRES, L. M. B.; AKISUE, M. K.; ROQUE, N. F. Quercitrin from *Solidago microglossa* DC, the Arnica of Brasil. **Revista de Farmácia e Bioquímica da USP**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 33-40, 1987.

VACCARO, S.; LONGHI, S. J.; BRENA, D. A. Aspectos da composição florística e categorias sucessionais do estrato arbóreo de três subseres de uma floresta estacional decidual, no Município de Santa Tereza, RS. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 1-18, 1999.

VICENTINI, V. E. P.; CAMPAROTO, M. L.; TEIXEIRA, R. O.; MANTOVANI, M. S. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum** [S.l.], v. 23, p. 593-598, 2001.

VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Caracterização Química de Metabólitos Secundários em Germoplasma Vegetal. In: NASS, L. L. (Org.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa, 2007. 858 p.

VITIELLO, B. *Hypericum perforatum* extracts as potential antidepressants. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Great Britain, v. 51, n. 5, p. 513-517, 1999.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. In: Bernays, E. A. **Insect-plant interactions**. 1st ed., vol. 1, chapter 4, CRS Press: Boca Raton, 1989.

WOELK, H. Comparison of St. John's wort and imipramine for treating depression: randomised controlled trial. **British Medical Journal**, v. 321, n. 7260, p. 536-539, Sept. 2000.

YA-QIN, S.; TOSHIO, F.; HIROSHI, S.; WEN-JIN, C.; PEI-QUAN, Y.; FENG-PENG, W.; TARO, N. Cytotoxic flavonoids with isoprenoids groups from *Morus mongolica*. **Journal of Natural Products** [S.l.], v. 64, n. 2, p. 181-188, 2001.

YEN, G.-C.; CHEN, H.-Y.; PENG, H.-H. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** [S.l.], v. 45, n. 1, p. 30-34, 1997.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2001. 833 p.