



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**



ANDREZA LARISSA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA CITOTOXICIDADE DOS
EXTRATOS ETANÓLICOS DA MACRÓFITA *Hydrocotyle bonariensis* Lam.
(Apiaceae).**

**PICOS
2019**

ANDREZA LARISSA DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA CITOTOXICIDADE DOS
EXTRATOS ETANÓLICOS DA MACRÓFITA *Hydrocotyle bonariensis* Lam.
(Apiaceae).

Monografia apresentada ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Piauí,
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros,
como requisito parcial para a obtenção do
grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra Maria do Socorro
Mireles de Deus

PICOS

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros
Biblioteca Setorial José Albano de Macêdo
Serviço de Processamento Técnico

N244a Nascimento, Andreza Larissa do.

Avaliação da toxicidade aguda e da citotoxicidade dos extratos etanólicos da macrófita *hydrocotyle bonariensis* lam. (Apiaceae). / Andreza Larissa do Nascimento. -- Picos, PI, 2019. 43 f.

CD-ROM: 4 ¾ pol.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura Plena em Ciências Biológicas). – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2020.

“Orientador(A): Profa. Dra Maria do Socorro Meireles de Deus.”

1. Plantas Mediciniais. 2. *Artemia salina* Leach. 3. Allium cepa L. I. Título.

CDD 615.9

Elaborada por Rafael Gomes de Sousa CRB 3/1163

ANDREZA LARISSA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA CITOTOXICIDADE DOS
EXTRATOS ETANÓLICOS DA MACRÓFITA *Hydrocotyle bonariensis* Lam.
(Apiaceae).**

Data de aprovação: 16/12/2019

BANCA EXAMINADORA

Maria do Socorro Meireles de Deus
Prof^a Dra. Maria do Socorro Meireles de Deus
Orientador (UFPI)

Márcia Maria Mendes Marques Duque
Prof^a Dra. Márcia Maria Mendes Marques Duque
Membro avaliador (UFPI)

Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima
Prof. Dr. Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima
Membro avaliador (UFPI)

*Dedico a minha mãe, Francisca Maria (in
acervo) uma verdadeira lã de vida.*

Dedico a minha mãe uma verdadeira lição de vida. (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus acima de tudo. Sua luz me indicou o caminho para o sucesso, sou grata por ter me mantido na trilha certa durante este projeto de pesquisa, com saúde, tendo me dado forças para chegar até o final, por me dar coragem, paciência e sempre me abençoar permitindo a realização desse sonho. Sou grata a minha mãe Francisca Maria (*in memoriam*), embora não esteja presente para prestigiar esse momento, obrigada pelos ensinamentos, apoio, amizade, amor, por tudo, sem a senhora não seria possível.

A querida professora Dra. Maria do Socorro Meireles de Deus, orientadora do presente trabalho, sou imensamente grata pelas valiosas contribuições dadas, pela sua dedicação e paciência durante o projeto, por ser uma pessoa amável que sempre me transmitiu segurança e por ter confiado em mim diante deste trabalho, a ti minha eterna admiração e gratidão. Saliento o apoio incondicional prestado, a forma interessada e pertinente como acompanhou a produção deste trabalho, suas críticas construtivas, as discussões e reflexões foram fundamentais ao longo de todo o processo. Não posso esquecer a sua grande contribuição para o meu crescimento, me ajudando a conseguir entrar no mestrado. Eternamente grata por todo o apoio.

A minha pessoa na vida Joyce Bezerra Guedes, obrigada por tudo, por me dar tanto apoio nos momentos difíceis, por sempre me socorrer nos momentos de apuro, por sempre estar comigo e principalmente por ajudar na conclusão desse trabalho sem o seu patrocínio, ajuda e apoio não seria possível, muito obrigada, sou imensamente grata por ter lhe conhecido e lhe ter presente em minha vida, amo você.

. Sou grata à minha família pelo apoio que sempre me deram durante toda a minha vida, aos meus tios, tias e avó que sempre estiveram presentes, ainda que à distância nunca deixaram de demonstrar amor e carinho. Um agradecimento especial a minha irmã Rafhaela Carvalho e meu cunhado Jean Alencar que são como pais para mim, muito obrigada por tudo, sem o apoio de vocês esse momento não seria possível e a minha princesa Gabrielly Alencar, a tia te ama demais.

Valtânia Ana de Oliveira, obrigada pela amizade e por todos os momentos oferecidos durante todos esses anos, você é como uma irmã. As minhas companheiras do curso de graduação (Aylla de Oliveira Costa, Maria Eduarda de Sousa e Silva, Mayara Lopes de Moura, Pamela Vitória do Nascimento Silva e Paula Virginia do Nascimento Silva), que compartilharam dos inúmeros desafios, sempre com o espírito colaborativo, foi maravilhoso

dividir esta experiência com vocês, sendo de uma alegria imensa partilhar cada momento, agradeço muito por estarem presentes nessa última etapa. A todos meus amigos, muito obrigada!

A Professora Dra. Márcia Maria Mendes Marques, que me norteou em relação a metodologias utilizadas para realização desta pesquisa, muito obrigada, por todos os ensinamentos ao longo da minha formação, por tudo, tenho uma admiração enorme pela senhora é uma honra lhe ter como membro da banca de defesa do trabalho de conclusão de curso.

Quero agradecer à Universidade Federal do Piauí e a todos os professores do meu curso pela elevada qualidade do ensino oferecido, um agradecimento especial ao professor Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima, obrigada por sempre sanar minhas dúvidas é uma honra lhe ter como membro da banca de defesa do trabalho de conclusão de curso, à professora Dra. Waldima Alves Rocha por toda experiência proporcionada nas disciplinas em que fui sua monitora, ao professor Dr. Luiz Evêncio da Luz, um orientador de excelência do programa residência pedagógica, que me ajudou demais durante a participação no programa e a professora Dra. Ana Paula Peron por todas as oportunidades.

Por último, mas não menos importante gostaria de agradecer aos professores e alunos do grupo de pesquisa da biodiversidade vegetal do semiárido piauiense (BIOVESP), do laboratório de citogenética e mutagenese (LaCM), por toda experiência proporcionada e do laboratório de parasitologia, ecologia e doenças negligenciais (LAPEDONE), onde foi realizado parte deste trabalho, muito obrigada a todos. Em fim, as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Hydrocotyle bonariensis Lam. (Apiaceae), é uma macrófita abundante na América do Sul amplamente distribuída no bioma Caatinga. Encontrada em ambientes aquáticos, é uma planta prostrada, perene, popularmente conhecida como “acariçoba”. Seus componentes bioativos, tais como, alcaloides, flavonoides, taninos compostos fenólicos e saponinas, proporcionam sua utilização na medicina popular como laxante, diurético, eficaz no tratamento de tuberculose, amenizando os sintomas de reumatismo e artrite. Devido a sua ampla utilização para sanar enfermidades, no presente estudo objetivou-se avaliar a toxicidade dos extratos etanólicos das folhas, caules e raízes de *H. bonariensis*, através do bioensaio com sistema teste animal, utilizando microcrustáceo, *Artemia salina* Leach, e o sistema teste vegetal, por meio de meristemas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola). O bioensaio com *A. salina* determinou que os extratos etanólicos de *H. bonariensis* possuem atividade biológica, ou seja, apresentam componentes bioativos e podem ser consumidos. No entanto, a avaliação com sistema teste vegetal *A. cepa*, mostrou que os extratos etanólicos das folhas, caules e raízes da *H. bonariensis* podem ser citotóxicos na concentração de 1000 ppm, sendo o caule também citotóxico em uma concentração menor, a de 500 ppm. Portanto, segundo este estudo *H. bonariensis* contém componentes bioativos, mas apresenta potencial citotóxico em certas concentrações. Os resultados obtidos são de suma importância, contribuem para o consumo da população e incentivam a realização de novos testes, sendo fonte para outros estudos.

Palavras-chave: Plantas medicinais, *Artemia salina* Leach, *Allium cepa* L.

ABSTRACT

Hydrocotyle bonariensis Lam. (Apiaceae), is an abundant macrophyte in South America widely distributed in the Caatinga biome. Found in aquatic environments, it is a prostrate, perennial plant, popularly known as “acariçoba”. Its bioactive components, such as alkaloids, flavonoids, phenolic compound tannins and saponins, provide its use in folk medicine as a laxative, diuretic, effective in the treatment of tuberculosis, easing the symptoms of rheumatism and arthritis. Due to its widespread use to cure diseases, the present study aimed to evaluate the toxicity of the ethanol extracts of the leaves, stems and roots of *H. bonariensis*, through the bioassay with an animal test system, using microcrustaceans, *Artemia salina* Leach, and the system vegetable test, using root meristems of *Allium cepa* L. (onion). The bioassay with *A. salina* determined that the ethanol extracts of *H. bonariensis* have biological activity, that is, they have bioactive components and can be consumed. However, the evaluation with the vegetal test system *A. cepa*, showed that the ethanolic extracts of the leaves, stems and roots of *H. bonariensis* can be cytotoxic in the concentration of 1000ppm, being the stem also cytotoxic in a concentration smaller, that of 500ppm. Therefore, according to this study, *H. bonariensis* contains bioactive components, but has cytotoxic potential in certain concentrations. The results obtained are of paramount importance, contribute to the population's consumption and encourage the realization of new tests, being a source for other studies.

Keywords: Medicinal plants, *Artemia salina* Leach, *Allium cepa* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ambiente composto por macrófitas	19
Figura 2 - <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam.....	20
Figura 3 – (a) Vista da cidade de Picos e do rio Guaribas, (b) local de coleta dos exemplares de <i>Hydrocotyle bonariensis</i>	24
Figura 4 - Separação das partes do vegetal para corte e pesagem.....	25
Figura 5 - Preparação do material botânico para obtenção do extrato.....	26
Figura 6 - Coleta dos náuplios e análise de <i>A. Salina</i>	28
Figura 7 - Bulbos de <i>Allium cepa</i> colocados em copos aerados com água destilada para obtenção de raízes com cerca de 2,0 cm.....	29
Figura 8 - Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de <i>A. salina</i> versus a concentração do extrato etanólico das folhas de <i>H. bonariensis</i> (24 horas).....	32
Figura 9 - Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de <i>A. salina</i> versus a concentração do extrato etanólico dos caules de <i>H. bonariensis</i> (24 horas).....	33
Figura 10 - Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de <i>A. salina</i> versus a concentração do extrato etanólico das raízes de <i>H. bonariensis</i> (24 horas).....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Porcentagem de náuplios mortos de <i>A. salina</i> frente à concentração dos extratos de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam.....	31
Tabela 2: Índices mitóticos observados em tecidos meristemáticos de raízes de <i>Allium cepa</i> expostos, por 24 e 48h, nas três concentrações dos órgãos vegetais de <i>H. Bonariensis</i> . Para cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2	35

LISTA DE ABREVIATURAS

PNPIC - Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

SUS - Sistema Único de Saúde

SNC - Sistema Nervoso Central

DNA – Desoxirribonucleico

UFPI/CSHNB – Universidade Federal do Piauí *campus* Senador Helvídio Nunes de Barros

CL₅₀- Concentração Letal para matar 50% de uma população em teste

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1. Plantas medicinais	16
2.2. Macrófitas	17
2.3. <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam.	20
2.4. Bioensaio de toxicidade aguda frente a <i>Artemia salina</i> Leach.....	21
2.5. Teste utilizando <i>Allium cepa</i>	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.2. Coleta do material botânico	25
3.3. Obtenção do extrato etanólico bruto das folhas, caule e raízes de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam.....	25
3.4 Bioensaio de letalidade frente <i>Artemia salina</i> Leach.....	26
3.4.1. Preparação das diluições seriadas	27
3.4.2. Exposição dos náuplios	27
3.4.3. Análise dos dados	28
3.5 Preparação das diluições seriadas do extrato etanólico de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam. para análise da toxicidade em nível celular com meristemas de raízes de <i>A. cepa</i>	28
3.5.1 Testes de citotoxicidade em células de raízes de <i>Allium cepa</i>	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 <i>Artemia salina</i> Leach.....	31
4.2 <i>Allium cepa</i> L.....	34
5. CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos países com maior biodiversidade (ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2007). Cerca de 80% da população utilizam medicamentos produzidos de plantas, esses quando provenientes de meios naturais tem maior aceitação da sociedade em comparação aos produzidos sinteticamente (CORDELL, 2002; BENT; KO, 2004). No entanto, as informações sobre efeitos adversos como, reações tóxicas provocadas pela automedicação é um fator alarmante à saúde pública (BEZERRA et al., 2012).

A Caatinga, bioma exclusivamente brasileiro, é um dos biomas mais ameaçados (BRASIL, 2002), este apresenta grande diversidade de plantas utilizadas na medicina popular. Podemos a *Hydrocotyle bonariensis* Lam. uma macrófita abundante na América do Sul, amplamente distribuída neste bioma. Encontrada em ambientes aquáticos, é uma planta prostrada, perene, popularmente conhecida como “acariçoba” (LORENZI, 2008). Seus componentes bioativos, tais como, alcaloides, flavonoides, taninos compostos fenólicos e saponinas, proporcionam sua utilização na medicina popular como laxante, diurético, eficaz no tratamento de tuberculose, amenizando os sintomas de reumatismo e artrite (AJANI et al., 2009).

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

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

Os bioensaios vegetais são considerados apropriadamente sensíveis e simples, no

monitoramento dos efeitos tóxicos a nível celular (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; CAMPOS-VENTURA; MARIN-MORALES; DESK, 2016). Dentre eles, os meristemas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola), são considerados no meio científico um eficiente bioensaio para o screening inicial da toxicidade genética, em razão de apresentarem número cromossômico reduzido ($2n=16$), o que favorece a detecção de alterações de fuso mitótico ou aneugênicas, e distúrbios no índice de proliferação celular, sendo aceito internacionalmente por agências de pesquisa. Os resultados obtidos por intermédio dele demonstram, em grande parte das vezes, similaridade satisfatória a aqueles obtidos via sistemas testes animal e em culturas de células (BIANCHI; MONTOVANI; MARINMORALES, 2015).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade aguda de *H. bonariensis* utilizando *A. salina* e a citotoxicidade por meio de células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, na perspectiva que os resultados obtidos possam contribuir para o uso seguro dessa planta pela população.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Plantas medicinais

O homem desde os tempos remotos interage com a natureza e dela retira o que lhe é conveniente, essa interação sempre esteve interligada com as plantas, como forma de alimento e meio de sanar as enfermidades. Na antiguidade, todos os tratamentos desenvolvidos para tratar os doentes, eram feitos a partir do conhecimento empírico e exercidos pelas mulheres presentes em uma determinada civilização, gerando uma cultura popular ao longo das gerações tendo as plantas medicinais como base na confecção de medicamentos (BADKE *et al.*, 2012). Com o início da revolução científica e da revolução industrial, o uso de práticas terapêuticas que não demonstram evidências científicas com base em métodos experimentais e em fenômenos matemáticos quantificáveis foram descartados (FEITOSA *et al.*, 2016). Os medicamentos alopáticos foram adicionados no dia a dia da humanidade, não somente pelos profissionais na área da saúde como também por campanhas publicitárias dos laboratórios, que iniciaram a fabricação de medicamentos com a promessa de curar as mais diversas doenças que afligiam a sociedade (ALVIM *et al.*, 2006).

Em 1980, no território brasileiro, após a inserção dos medicamentos alopáticos, ocorreu uma insatisfação por parte da população, devido ao alto custo e efeitos adversos dos mesmos (BATISTA; VALENÇA, 2012). Essa rejeição ocorreu mundialmente, pessoas principalmente em países em desenvolvimento, mantiveram o uso de plantas medicinais para cura de enfermidades, devido à ineficiência dos medicamentos sintéticos (DEMMA; ENGIDAWORK; HELLMAN, 2009). Devido à procura e preferência por plantas medicinais, intensificaram-se as pesquisas científicas, avaliando as plantas na sua forma bruta ou através de extratos. A segurança de que produtos produzidos a partir de plantas não trazem desvantagens nenhum à saúde, faz parte da crença popular. No entanto a palavra "natural" não é garantia de escusa de algum tipo de ameaça para a saúde (PEREIRA, 2013; MARTINS *et al.*, 2014)

Nos dias atuais, aproximadamente 80% da população mundial utiliza plantas medicinais em cuidados de saúde primários (FRESCURA; LAUGHINGHOUSE; TEDESCO, 2012). Porém, muitas delas não foram suficientemente estudadas quanto aos seus possíveis efeitos tóxicos (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007). Estudos nessa área são de

grande importância para auxiliar a regulamentação da quantidade necessária para o uso seguro e efetivo dessas plantas pela população (ASARE *et al.*, 2012).

No Brasil, somente no ano de 2006, ocorreu a aprovação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), que permitiu o uso e verificação de plantas medicinais, favorecendo o crescimento desta prática e proporcionando avaliação científica adequada das mesmas (BRASIL, 2006). No ano de 2010 foram determinados os requisitos necessários para comprovação de eficácia e segurança de medicamentos naturais para aumento do controle de qualidade e produção permitindo a abertura da Farmácia viva que cultiva, coleta, armazena e manipula plantas medicinais (BRASIL, 2010; CARVALHO *et al.*, 2011).

A forma de uso das plantas medicinais vai se diferenciar pela sua maneira de preparo, podendo ser empregado como fitoterápicos preparados através da extração dos princípios ativos do vegetal e comercializados no mercado na forma de comprimidos ou cápsulas que podem ser manipulados ou industrializados não apresentando substâncias isoladas, nem mesmo aquelas que possuem atividade farmacológica e interagem com o vegetal na preparação do medicamento, as plantas ainda podem ser utilizadas de outra maneira, por meio de preparações caseiras como chás, xaropes, garrafadas, banhos entre outros (PEREIRA, 2013).

Apesar do crescimento e da eficácia das plantas medicinais o uso de medicamentos que nunca foram testados cientificamente é muito arriscado, as plantas em sua maioria apresentam substâncias tóxicas contra agentes causadores de danos (DEMMA; ENGIDAWORK; HELLMAN, 2009), além do potencial tóxico e carcinogênico elevado (DE SA FERREIRA; VARGAS, 1999), podendo apresentar até mesmo alto potencial genotóxico em alguns casos (FLORINSIAH *et al.*, 2013). Com base em todos esses riscos é de suma importância que todas as plantas utilizadas como medicamento sejam previamente testadas.

2.2. Macrófitas

O Semiárido brasileiro é uma zona que apresenta grande densidade populacional (SAMPAIO; ARAÚJO; SAMPAIO, 2005). Constituída por um rico ecossistema exclusivamente brasileiro, com grande diversidade de espécies e elevada incidência de endemismo (CORDEIRO; FÉLIX, 2014), a vegetação formada pela Caatinga, ocupa uma

área de 734.478km² (BRASIL, 2002), sendo dentre os biomas brasileiros, o mais desvalorizado e desconhecido botanicamente (GIULIETTI *et al.*, 2002),

A flora no Semiárido brasileiro é amplamente utilizada pelas comunidades locais na medicina popular, estas comunidades possuem uma vasta farmacopeia natural (GOMES; ALVES, 2009), a eficácia dos medicamentos naturais utilizados pela população provenientes de plantas da Caatinga tem impulsionado investigações dos princípios ativos por parte das indústrias farmacêuticas (BIESKI, 2005).

As plantas podem estar localizadas tanto em ambientes terrestres como aquáticos. As macrófitas, plantas de ambientes aquáticos tem seu desenvolvimento em contato com a água (PENFOUND, 1952), podendo ser submersas ou flutuantes, em diferentes tipos de ambientes aquáticos, apresentando um potencial adaptativo muito diversificado, podendo estar tanto em ecossistemas naturais como artificiais, sendo de suma importância ecológica (PEDRALLI, 2003). As plantas de áreas úmidas variam sua comunidade de espécie principalmente com base nas condições hidrológicas (BASKIN; BASKIN, 2001), localidades cobertas por zonas úmidas e a variação interanual no regime de água, favorecem a germinação de diferentes espécies de plantas; os padrões das comunidades presentes variam de ano para ano, de estação para estação, à medida que muda os níveis de água (CASANOVA; BROCK, 2000).

Existem diversas designações para o termo macrófitas aquáticas, podendo ser denominadas como plantas que vivem na água ou sobre ela (MARTINS; CARAUTA, 1984), até mesmo plantas de margem diretamente ligada com água em abundância (IRGANG; GASTAL, 1996). Segundo Esteves, 1998 o termo macrófitas aquática, designado pelo “*International program of biology*” pode ser utilizado para qualquer planta que habite desde brejos até ambientes verdadeiramente aquáticos (Figura.1).

Figura 1 – Ambiente composto por macrófitas.



Fonte: Autora (2019)

A utilização de macrófitas com finalidade econômica é muito extensa, podendo ser utilizadas como plantas medicinais, ornamentais, despoluidoras, conservacionistas entre outros (POTT; POTT, 2000).

Há uma extensa variedade de macrófitas utilizadas na medicina popular, tendo como exemplo o gênero *Polygonum* da família Polygonaceae que são amplamente utilizadas na medicina popular por diferentes povos distribuídos pelo mundo, essa vem sendo eficaz no tratamento de infecções da pele, disenteria, mordida de cobra, insônia, doenças cardíacas e hemorroidas (ALVES *et al.*, 2001).

Temos ainda algumas espécies de macrófitas utilizadas na medicina popular da família Apiaceae em especial o gênero *Hydrocotyle* L., tendo como exemplos as espécies *H. asiática* (L.) Urban, *H. bonariensis* Lam. (OUVIÑA *et al.* 2009), *H. nepalensis* Hook, *H. setulosa* Hayata, *H. batrachium* Hance e *H. sibthorpioides* Lam. Em Taiwan foi realizada uma avaliação antioxidante utilizando extratos etanólicos que mostrou que a *H. nepalensis*, possui grande potencial antioxidante seguida por *H. setulosa*, *H. batrachium*, e *H. sibthorpioides*. (HUANG *et al.*, 2008).

Temos ainda a *H. asiática*, uma planta nativa de zonas subtropicais da Índia, muito utilizada no tratamento de enfermidades dermatológicas, melhorando a qualidade de vida da

população, ocorrem relatos que esta ajuda na cicatrização de herpes, úlceras dérmicas, prevenção de estrônias, embarios, blefarite, queimaduras e conjuntivite (WAGNER; WISENAUER, 2006).

2.3. *Hydrocotyle bonariensis* Lam.

A macrófita *H. bonariensis*. (Figura 2), a qual é o foco deste trabalho, é uma planta originária do território brasileiro, popularmente denominado como “acariçoba” encontrada em abundância na América do Sul (ROCHA *et al.*, 2011).

Figura 2 - *Hydrocotyle bonariensis* Lam.



Fonte: Lorenzi (2008)

No território argentino é muito comum sua localização em campos úmidos, pradarias e dunas, florescendo apenas durante o verão (RATERA; RATERA, 1980), uma erva prostrada perene, destinada ao tratamento de tuberculose, amenizando os sintomas de reumatismo e artrite, podendo ser utilizada como: laxantes, diuréticos e eméticos (EVANS, 1992). Estudos relatados por Edeoga; Okwu; Mbaebie (2005), mostraram que essa planta vem ganhando popularidade, principalmente na Nigéria Ocidental, por tratar vários sintomas

de enfermidades oftalmológicas, mas essa afirmativa não está totalmente comprovada na literatura científica (FLORINSIAH, 2013).

Na medicina Ayurvédica, medicina oficial na Índia existem relatos que *H. bonariensis* possui efeito no retardo do envelhecimento precoce, queda de cabelos, perda de memória, além de outros sintomas de desgaste psicofísico (CARNEIRO, 2007). Esta ainda gera equilíbrio do sistema nervoso central (SNC), podendo ser utilizada como ansiolítico leve e tônico do coração, podendo ser consumida a planta toda ou apenas as suas folhas (REIS *et al.*, 1992).

As folhas desta planta contem alcaloides, flavonoides taninos, compostos fenólicos e saponinas como componentes bioativos (AJANI *et al.*, 2009). Os flavonoides são um dos grupos mais importante de compostos presentes nos vegetais, sendo amplamente presentes, principalmente em angiospermas (SIMÕES *et al.*, 2000), esses pigmentos têm grande função na proteção destes organismos contra agentes oxidantes (LOPES *et al.*, 2000).

O consumo de flavonoides é de suma importância, levando em consideração os seus benefícios para a saúde humana (GEBHARDT *et al.*, 2005), taxados como antioxidantes de excelência (NARAYAN; VENKATARAMAN, 2002). Os flavonoides são substâncias capazes de diminuir o stress oxidativo, formados por radicais livres ou levar a extinção de uma reação. Estudos relatam que são capazes de prevenir até mesmo lesões musculares, devido a capacidade de desintoxicar alguns peróxidos (MARTINS; COIMBRA; SCHLICHTING, 2014).

2.4. Bioensaio de toxicidade aguda frente a *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach (1819) é uma espécie de microcrustáceo pertencente ao filo Arthropoda, classe Crustácea, subclasse Branquiopoda, ordem Anostraca e família Artemidae, sendo constituída por enormes populações que tem distribuição cosmopolita (VEIGA; VITAL, 2002).

O bioensaio utilizando *A. salina* foi proposto inicialmente por Michael, Thompson; Abramovitz (1956), sendo uma boa ferramenta para o início de investigações de atividades biológicas de plantas (SIQUEIRA *et al.*, 1998).

Meyer *et al.* (1982) determinaram que os extratos com valores de $CL_{50} < 1000$ ppm, utilizando o bioensaio *A. salina* eram tóxicos. Após esta diversos estudiosos de produtos naturais passaram a utilizar esta referência para a avaliação prévia de extratos de plantas com

atividade biológica (JIMÉNEZ *et al.*, 2001), e atividade antimicrobiana e citotóxica (ALALI *et al.*, 1998; BATTINELLI *et al.*, 2001; COLOMBO *et al.*, 2001)

Atualmente a *A. salina* vem sendo amplamente utilizada em testes de toxicidade devido a sua sensibilidade elevada, simplicidade do teste que não requer métodos assépticos e por se tratar de um animal de fácil manutenção em condições de laboratório, não necessitando de equipamentos especiais, favorecendo sua utilização (SIQUEIRA *et al.*, 1998).

A avaliação toxicológica utilizando este bioensaio consiste na exposição dos náuplios (fase larval da *A. salina*) durante 24/48 horas em concentrações previamente estabelecidas, com análise do número de organismos mortos ao final do período de exposição (VEIGA; VITAL, 2002) O bioensaio com este animal permite uma rápida avaliação da toxicidade, considerando o parâmetro vivo ou morto que é determinado pela imobilidade dos náuplios após o período de exposição (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

2.5. Teste utilizando *Allium cepa*

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

As plantas possuem uma grande quantidade de células em divisões mitóticas situadas no tecido meristemático. Esse tecido pode ser encontrado em diferentes órgãos das plantas. Para avaliação cromossômica mitótica o melhor meristema é o de raízes, devido ao maior volume celular e ao crescimento muito veloz (GUERRA; SOUZA, 2002).

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

Os dados registrados por meio deste sistema teste são ótimos parâmetros de análise citotóxica, mutagênica e antimutagênica sendo indicado para prevenir a população sobre

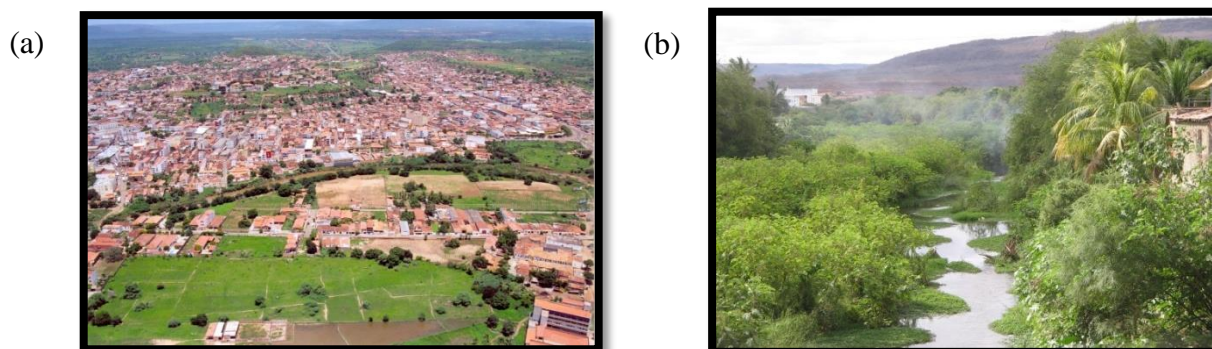
o consumo de medicamentos sintéticos e naturais. É de suma importância citar que os resultados de citotoxicidade obtidos por meio do organismo de prova *A. cepa* foram às primeiras bases de estudos para a fabricação de novas formulações medicamentosas a partir de plantas como a *Baccharis trimera* Less, *Achyrocline satureioides* Lam. (FACHINETTO *et al.*, 2007) e *Aleo vera* L. (STURBELLEETAL, 2008). Ainda, Sturbelleetal (2008) e Rigonato *et al.* (2005) classificam este organismo de prova como satisfatório para a avaliação inicial do potencial citotóxico e antimutagênico de produtos naturais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O município de Picos (Figura 3) está localizado na região Centro/Sul do estado do Piauí, à margem direita do Rio Guaribas, a uma latitude de 7°04'37'' Sul e uma longitude de 41°28'01'' Oeste. Limita-se ao Norte com os municípios de Dom Expedito Lopes e Santana do Piauí; ao Sul com o município de Itainópolis; ao Leste com o município de Geminiano e ao Oeste com o município de Paquetá (AGUIAR-GOMES, 2004). O clima é caracterizado segundo Köppen do tipo Bsh – quente e semiárido, com estações chuvosas no verão. A precipitação média anual é de 679 mm por ano e a umidade relativa do ar permanece em torno de 60% com decréscimo no período de estiagem. O período chuvoso se estende de janeiro a junho (JACOMINE et al., 1986 apud AGUIAR; GOMES, 2004).

Figura 3. (a) Vista da cidade de Picos e do rio Guaribas, (b) local de coleta dos exemplares de *Hydrocotyle bonariensis*.



Fonte: Prefeitura de Picos (2005)

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

3.2. Coleta do material botânico

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

3.3. Obtenção do extrato etanólico bruto das folhas, caule e raízes de *Hydrocotyle bonariensis* Lam.

No laboratório o material foi lavado, retirado as partes danificadas, separado em raiz, caule e folhas e colocado sobre papel toalha para secagem (Figura 04). Após esse processo, o material foi cortado em pequenos pedaços e pesado em balança de precisão (Figura 5 a e b).

Figura 04. Separação das partes do vegetal para corte e pesagem.

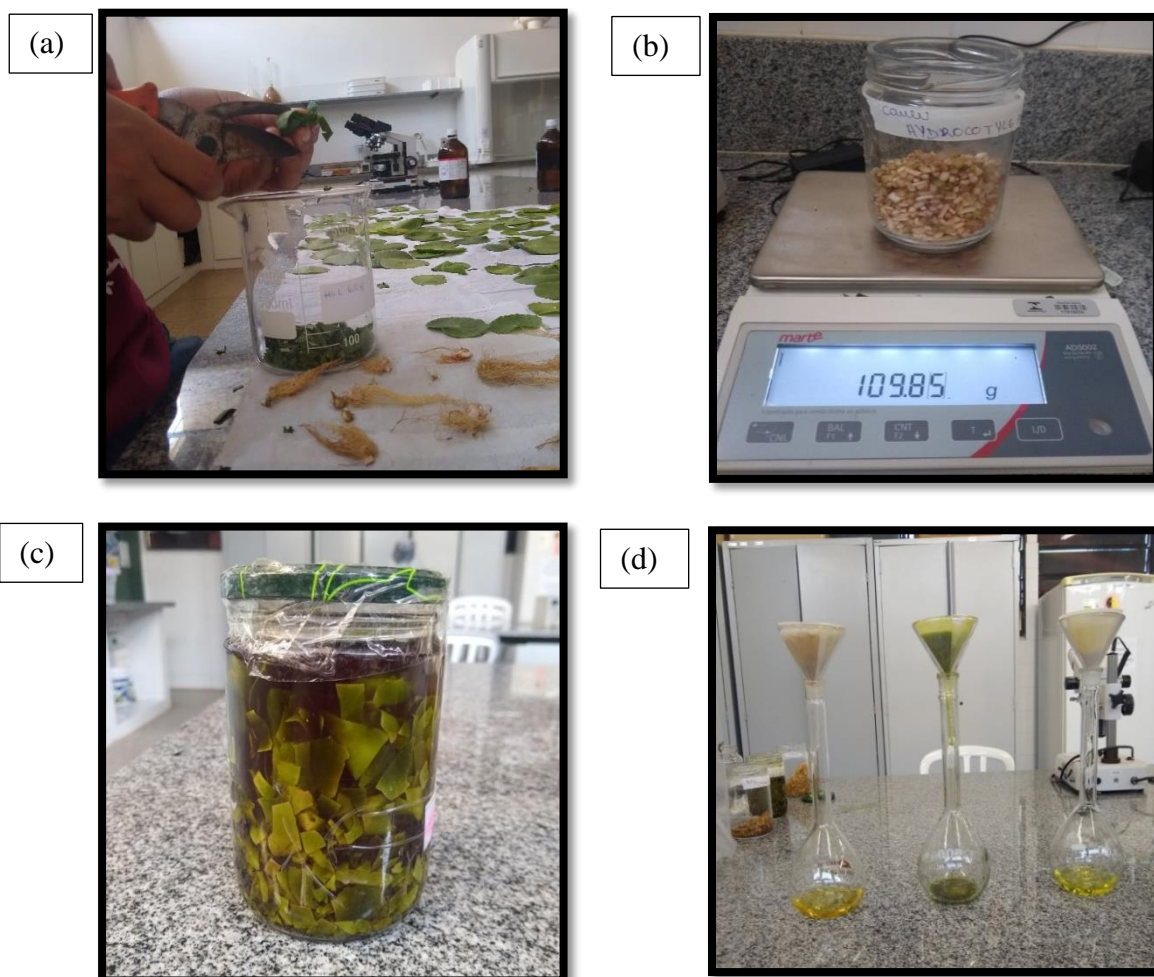


Fonte: Autora (2019)

Em frascos de vidro de 500 ml foram pesados 127,25g de folhas, 109,85g de caule e 17,50g de raízes. A estes foram adicionados 300 ml, 150 ml e 200 ml de etanol (99,5%) (figura 5 c), respectivamente, permanecendo por sete dias; após esse período a solução resultante foi filtrada com o auxílio de papel filtro, e funil de vidro simples (Figura 5 d), a

evaporação do solvente se deu por meio do banho-maria a temperatura de 60° C, obtendo-se o extrato bruto das folhas, caules e raízes.

Figura 5. Preparação do material botânico para obtenção do extrato



Fonte: Autora (2019)

3.4 Bioensaio de letalidade frente *Artemia salina* Leach.

O ensaio de letalidade em *A. salina* foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982) e Paredes, 2016 com algumas modificações.

A princípio foi preparado a água salina, concentração de 30 g/L de NaCl de sal marinho sintético, diluída em 1L de água potável, que foi mantida à temperatura ambiente, com recepção de luz artificial de 100 W, em aquário improvisado, feito a partir de garrafa

PET, em seguida pesou-se 0,3g de cistos de *A. salina* que foram adicionados a água salina no aquário improvisado para aerar por um período de 48 horas até a eclosão dos náuplios.

3.4.1. Preparação das diluições seriadas

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

3.4.2. Exposição dos náuplios

Após 48 horas de eclosão dos cistos, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, os náuplios de *A. salina* (n=10), foram transferidos para os tubos nos quais estavam presentes os extratos nas diferentes concentrações (Figura 6). Os tubos foram deixados em temperatura ambiente e sob iluminação por 24 horas. Após esse período, foram analisados para registrar a quantidade de náuplios vivos e mortos (Figura 6). O número de larvas mortas em cada concentração dos extratos foi utilizado para calcular os valores da CL_{50} (concentração que mata 50% dos náuplios). Sendo assim, diante dos valores da CL_{50} obtidos, os produtos testados foram classificados quanto à toxicidade.

Figura 6 – Coleta dos náuplios e análise de *A. salina*.



Fonte: Autora (2019)

3.4.3. Análise dos dados

Os extratos etanólicos de *H. bonariensis* foram submetidos ao bioensaio com *A. salina*, onde foi possível determinar a relação de organismos vivos e mortos. Ao final do ensaio, no tempo de 24 horas, foi estimada a CL_{50} utilizando regressão linear obtida da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração dos extratos.

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

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

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

O bioensaio vegetal com *A. cepa* foi feito com base em Peron *et al.*, 2008. Para a realização das análises de toxicidade, inicialmente bulbos de cebolas foram colocados em copos aerados contendo água destilada à temperatura ambiente ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento (Figura 7). Para análise de cada amostra (concentração ou tratamento) de extrato estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com a suas respectivas amostras do extrato etanólico de *H. bonariensis* foram coletadas algumas raízes de cada cebola e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram expostas em seus respectivos tratamentos por 24 horas, procedimento denominado de tempo de exposição 24 horas.

Figura 7. Bulbos de *Allium cepa* colocados em copos aerados com água destilada para obtenção de raízes com cerca de 2,0 cm



Fonte: Autora (2019)

Após 24 horas foram retiradas algumas raízes e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas a seus respectivos tratamentos onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição 48 horas. Após este período, raízes

novamente foram coletadas e fixadas. Os tempos de exposição 24 e 48 horas foram escolhidos com o intuito de avaliar a ação do extrato em mais de um ciclo celular.

Em cada coleta, retirou-se, três raízes por bulbo. Nesse contexto, seguindo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002) as lâminas três por bulbo foram montadas e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 400x. Para cada bulbo de cebola analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada tratamento, tempo de exposição 24 horas e tempo de exposição 48 horas. Assim, para cada concentração de *H. bonariensis* analisou-se um total de 15.000 células. Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase.

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

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. *Artemia salina* Leach

Estudos de avaliação toxicológica são realizados inicialmente com *A. salina*, pois os resultados asseguram testes posteriores, por exemplo, testes antioxidantes, o que pode assegurar a aplicabilidade terapêutica de plantas no tratamento de patologias associadas aos radicais livres (MERINO *et al.*, 2015). O bioensaio frente a *A. salina* ainda é utilizado em testes com extratos de plantas, para demonstrar o potencial das mesmas como fonte de compostos antibacterianos e justificar, de forma sucinta o uso popular de determinadas espécies (STEFANELLO *et al.*, 2006).

Os resultados apresentados na Tabela 1. mostram que os extrato da folha e da raiz diminuíramo percentual de mortalidade em concentrações menores. No entanto, com relação ao extrato do caule, não apresentou o mesmo padrão.

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

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

Fonte: Autora (2019)

Os extratos etanólicos obtidos dos caules e raízes tiveram um percentual de mortalidade semelhante nos experimentos onde foram utilizadas as concentrações de 1000ppm e 500ppm, eliminando 100% dos náuplios. Na concentração de 250ppm, os extratos etanólicos dos caules e raízes mantiveram valores aproximados, porém, nas concentrações de 125ppm e 62,5ppm, houve uma redução no percentual de mortes no extrato da raiz, enquanto que no extrato obtido do caule, esses valores se mantiveram elevados. O

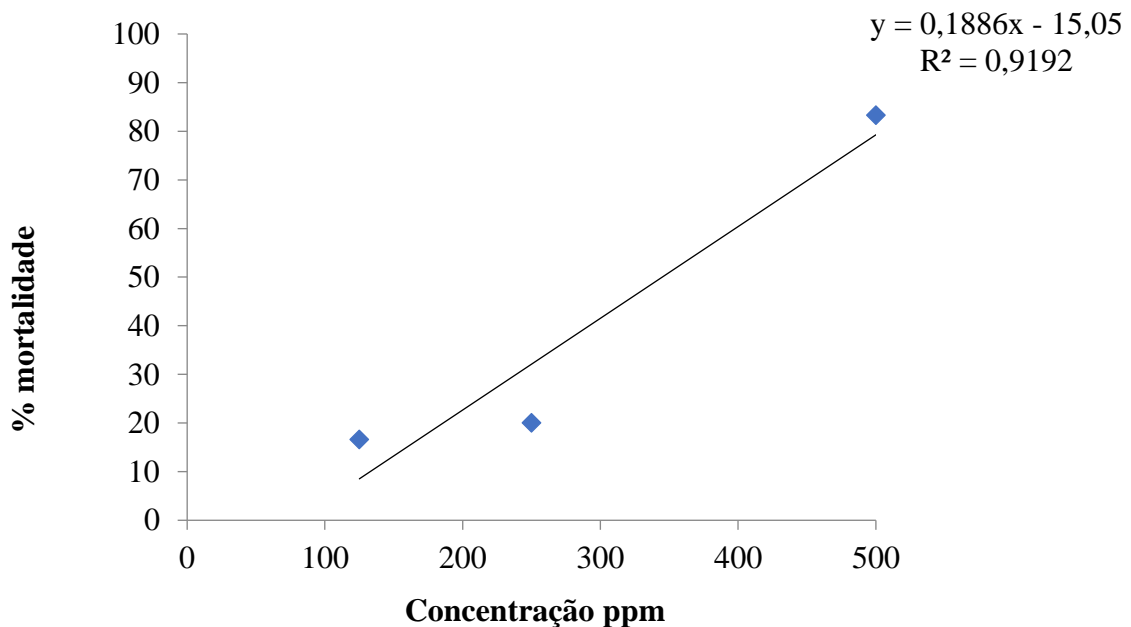
extrato etanólico das folhas apresentou valores de mortalidade diferentes dos extratos etanólicos obtidos para os caules e para as raízes na maioria das concentrações, exceto para a concentração de 62,5ppm, em que o percentual de mortos foi o mesmo.

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

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

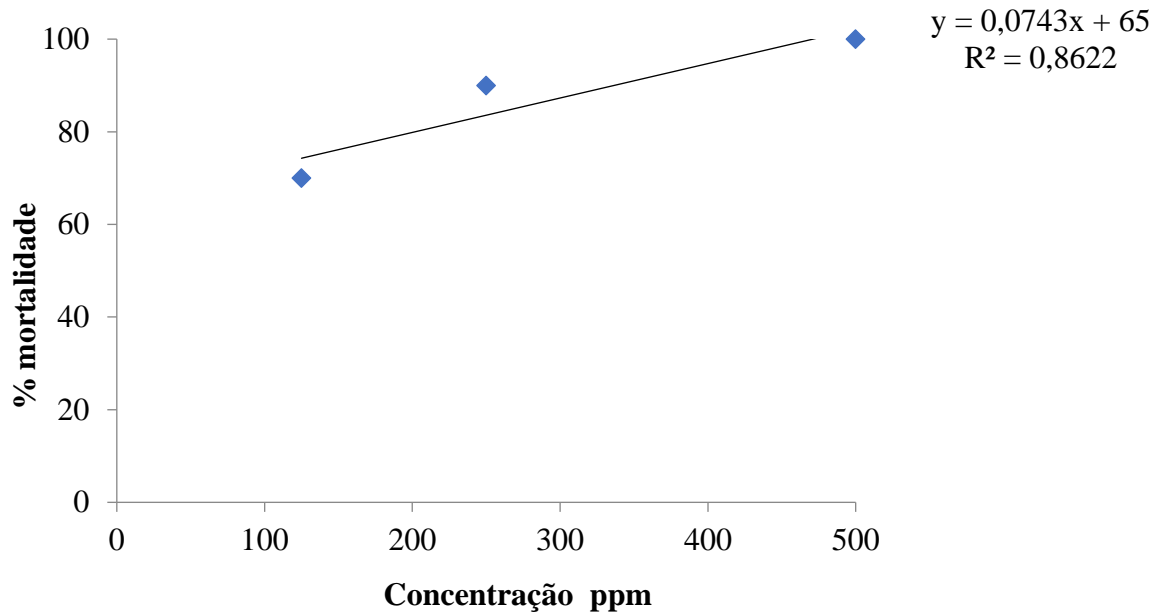
As Figuras 7, 8 e 9 mostram a reta de regressão linear obtida através da correlação entre a concentração dos extratos da folha, do caule e da raiz de *H. bonariensis* e a porcentagem de letalidade de *A. salina*. Para uma melhor adequação da reta foram retirados os valores extremos de concentração.

Figura 8: Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do extrato etanólico das folhas de *H. bonariensis* (24 horas).



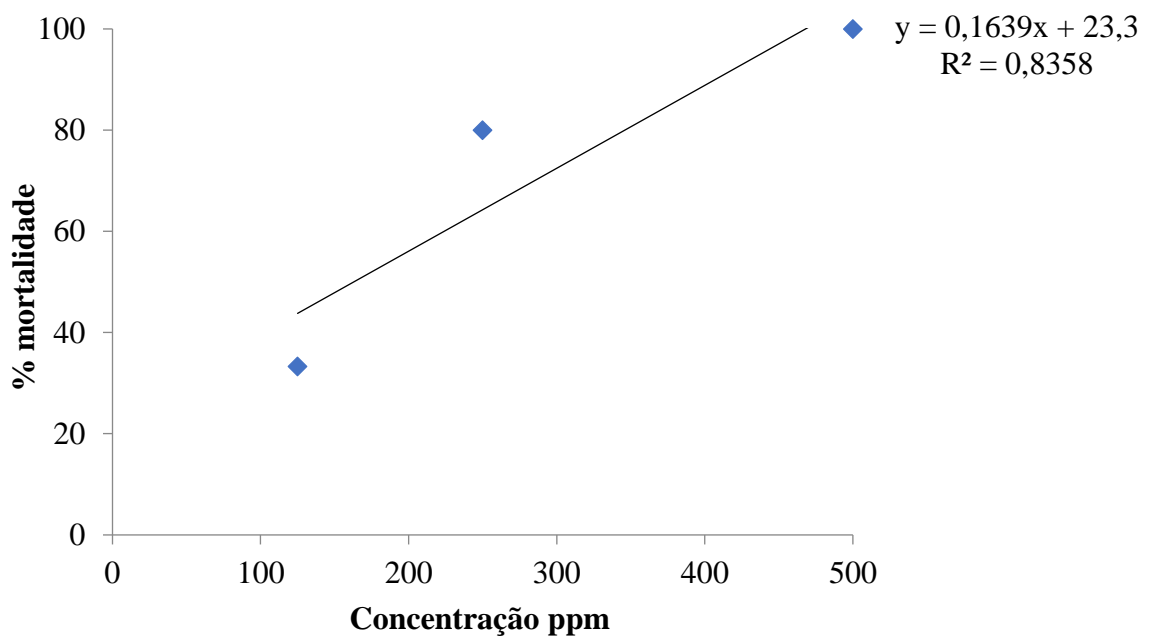
Fonte: Elaborado pela autora (2019)

Figura 9: Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do extrato etanólico dos caules de *H. bonariensis* (24 horas).



Fonte: Elaborado pela autora (2019)

Figura 10: Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do extrato etanólico das raízes de *H. bonariensis* (24 horas).



Fonte: Elaborado pela autora (2019)

No presente trabalho, os extratos etanólicos das folhas apresentaram $CL_{50}=344,9$ ppm, os caules $CL_{50}=201$ ppm e as raízes $CL_{50}=162,9$ ppm. Na avaliação da toxicidade de compostos ativos e extratos vegetais para *A. salina*, um valor de CL_{50} inferior a 1000ppm, são considerados compostos que apresentam toxicidade (Meyer et al., 1982). Segundo Parra

et al. (2001) e Meyer *et al.*, 1982, os extratos podem ser considerados bioativos, pois apresentam CL_{50} menor que $1000 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ (SANTOS; DAIVID e DAIVID, 2011).

Dolabela (1997), considera uma $CL_{50} < 80\text{ppm}$, altamente tóxicos; entre 80ppm e 250ppm, moderadamente tóxico; e $CL_{50} > 250\text{ppm}$, com baixa toxicidade ou não tóxico. Os resultados mostraram que os extratos etanólicos do caule e raiz *H. bonariensis* mostraram-se moderadamente tóxicos, pois os valores da CL_{50} ficaram entre 80ppm e 250ppm. No entanto, os extratos etanólicos das folhas de *H. bonariensis* apresentaram $CL_{50} = 344,9\text{ppm}$, podendo ser considerado com baixa toxicidade, por a CL_{50} ser um pouco maior que 250ppm.

Com base nos resultados obtidos por Ouviaña *et al.*, 2009 os extratos aquosos e de *H. bonariensis* possuem efeito anti-inflamatório, o que sustenta seu uso como planta medicinal, para inibição de edemas.

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

4.2. *Allium cepa* L

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

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

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

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

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

De acordo com Caritá; Marin-Morales (2008), a exposição de tecidos de intensa proliferação celular, como meristemas de raízes de *A. cepa*, a compostos químicos que possuem capacidade de causar instabilidade genética, podem desencadear alterações específicas comprometendo o crescimento e o funcionamento das células, bem como dos órgãos atingidos.

A inibição na divisão celular na concentração de 500ppm do extrato etanólico do caule e na concentração de 1000ppm do extrato etanólico das folhas, caules e raízes, podem comprovar segundo Para Herrero *et al.* (2012), a presença de compostos que possuem ação tóxica capazes de comprometer a divisão celular, não permitindo o crescimento e a reposição celular do organismo exposto para Gomes *et al.* (2013); Sales *et al.* (2016); Moura *et al.* (2016) e Carvalho *et al.* (2016) a inibição da proliferação celular observada neste estudo pode ser provocada por compostos com atividade citotóxicos, presentes na planta testada.

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

Neste estudo não foram apresentadas alterações a nível cromossômico, o que corrobora com o estudo de Florinsiah *et al.*, 2013 onde os extratos das partes aéreas e raízes de *H.bonariensis* não apresentaram efeito mutagênico em ambas as cepas de *Salmonella typhimurium*, corroborando com o uso da mesma na medicina popular.

5. CONCLUSÃO

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

No entanto, a avaliação com sistema teste vegetal *A. cepa*, mostrou que os extratos etanólicos das folhas, caules e raízes da *H. bonariensis* podem ser citotóxicos na concentração de 1000 PPM, corroborando com os resultados obtidos em *A. salina*. Embora *H. bonariensis* apresente componentes bioativos, o que corrobora com seu consumo, a presente estudo mostrou que a maior concentração testada tem potencial citotóxico.

Logo, os resultados obtidos podem contribuir para o uso seguro dessa planta pela população e fomenta a realização de novos testes, sendo fonte para outros estudos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, R. B. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea, estado do Piauí: diagnóstico do município de Picos / Organização do texto: AGUIAR, R. B.; Gomes, J. R. C. Fortaleza: CPRM - **Serviço Geológico do Brasil**, 2004.
- AJANI, E.O. *et al.* Chemopreventive and remediation effect of *Hydrocotyle bonariensis* Comm. Ex Lam (Apiaceae) leave extract in galactose induced cataract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, (1), p. 134-142, 2009.
- ALALI, F.Q. *et al.* Acetogeninas de monotetra -hidrofurano de *Goniothalamus giganteus*. **Fitoquímica**, v. 49, (3), p. 761-768, 1998.
- ALBUQUERQUE, U. P.; OLIVEIRA, R.F. Is the use-impact on native Caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants?. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, (1), p. 156-170, 2007.
- ALVES, A.M. *et al.* Polygodial, the Fungitoxic Component from the Brazilian Medicinal Plant *Polygonum punctatum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, (6), p. 831-83, 2001.
- ALVIM, N.A. *et al.* O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 14, n (3), p. 316-323, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-11692006000300003&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em 10 nov. 2019.
- ARCANJO, D. D. R. *et al.* Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, (3), p. 505-509, 2012.
- ASARE, G. A. *et al.* Genotoxicity, cytotoxicity and toxicological evaluation of whole plant extracts of the medicinal plant *Phyllanthus niruri* (Phyllanthaceae). **Genetics and Molecular Research**, v.1, (1), p. 100-111, 2012. Disponível em: <https://www.geneticsmr.com/articles/1486>. Acesso em 10 nov. 2019.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A.M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. 1ª ed. São Carlos: Rima, 2003.
- BADKE, M.R. *et al.* Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto & Contexto Enfermagem**, v.21 (2), p. 363-70, 2012.
- BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema-teste *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17, (3), páginas 444-447, 2007.
- BARBOSA-FILHO, J. M. *et al.* Anti-inflammatory activity of alkaloids: a twenty-century review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v16 (1), p. 109-139, 2006.

- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. 1^a ed . Academic Press, 666 p., 2001.
- BATISTA, L.M.; VALENÇA A.M.G. A fitoterapia no âmbito da atenção básica do SUS: realidade e perspectivas. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 12, (2), p. 293-296, 2012.
- BATTINELLI, L. *et al.* 2001. Antimicrobial activity of *Epilobium spp.* Extracts. **Farmaco**, v. 56, (5-7), p. 345-348, 2001.
- BENT, S.; KO, R. Commonly used herbalmedicines in the United States: A review. **American Journal of Medicine**, v. 116, (7), p. 478–485, 2004.
- BEZERRA, A. M. F. *et al.* Plantas medicinais utilizadas pela comunidade de mimoso no município de Paulista. **Revista Verde**, v. 7, (5), p. 06-11, 2012.
- BIANCHI, J.; MANTOVANI, M.S.; MARIN-MORALES, M.A. Analysis of the genotoxic potential of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture. **Journal of Environmental Science**, v. 36, (1) p. 102-111, 2015.
- BIESKI, G.C. **Plantas Mediciniais e Aromáticas no Sistema Único de Saúde da Região Sul de Cuiabá-MT**. 2005. Monografia (pós-graduação em plantas medicinais, manejo e manipulação) - Universidade Federal de Lavras, Lavras 2005. Acesso em 10 nov. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº886. Institui a Farmácia Viva no âmbito do SUS**. Brasília, 2010. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/portaria886_20_04_2010.pdf. Acesso em 10 nov. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 971. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS)**. Brasília, 2006). Disponível em: <http://www.saude.df.gov.br/wp-conteudo/uploads/2018/04/Portaria-n%C2%BA-971-2006-Minist%C3%A9rio-da-Sa%C3%BAde-Pol%C3%ADtica-Nacional-de-Pr%C3%A1ticas-Integrativas-e-Complementares-no-SUS..pdf>. Acesso em 10 nov. 2019.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade da Caatinga: Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. Páginas 133 – 173, 2002. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/estruturas/chm/arquivos/Bio5.pdf>. Acesso em 10 nov. 2019.
- BÚFALO, M.C. *et al.* In vitro cytotoxic activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis against HEp-2 cells. **Natural Product Research (Print)**, v. 24, p. 1710-18, 2010.
- CAMPOS-VENTURA, B.; MARIN-MORALES, M. A.; DESK S. Micronuclei and chromosome aberrations derived from the action of Atrazine herbicide in *Allium cepa* meristematic cells. **SDRP Journal of Earth Sciences Environmental Studies**, v. 1, (1), 2016.

CARBALLO, J. L. *et al.* Comparison Between two Brine Shrimp Assays to Detect In Vitro Citotoxicity in Marine Natural Products. **BMC Biotechnology**, v. 2, (17), página 2-17, 2002.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, (5), p. 722-725, 2008.

CARNEIRO, D. M. **Ayurveda: Saúde e Longevidade**. Goiânia: Editora UFG, 2007.

CARVALHO, A.C.B. *et al.* Regulation of herbal medicines in Brazil: advances and perspectives. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, (3), p. 467-73, 2011.

CARVALHO, F.R.S. *et al.* Are salty liquid food flavorings in vitro antitumor substances?. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, (3), p. 1419-1430, 2016.

CASANOVA, M.T.; BROCK, M. A. How do depth, duration and frequency of flooding influence the establishment of wetland plant communities?. **Plant Ecology**, v. 147, (2), p. 237-250, 2000.

COLOMBO, M.L. *et al.* Citotoxicity evaluation of natural coptisine and sintesis of coptisine from berberine. **Farmaco**, v. 56, (5-7), p. 403-409, 2001.

CORDEIRO, J.M.P.; FÉLIX, L.P. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da Caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, (3), p.685-692, 2014.

CORDELL, G. A. Natural products in drug discovery creating a new vision. **Phytochemistry Reviews**, v. 1, (3) , p. 261–273, 2002.

DE SA FERREIRA, I.C.F. ; VARGAS, V.M. Mutagenicity of medicinal plant extracts in Salmonella/microsome assay. **Phytotherapy Research**, v. 13, (5), p. 397–400, 1999.

DEMMA, J.; ENGIDAWORK, E.; HELLMAN, B. Potential genotoxicity of plant extracts used in Ethiopian traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122,(1), p. 136–142, 2009.

DOLABELA, M.F. **Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti-Trypanossoma cruzada de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas**. 1997. Dissertação (Mestrado), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte, 128 p., 1997.

EDEOGA H.O., OKWU O.E.; MBAEBIE B.O. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, (7), 685-688, 2005.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência finep, 575 p., 1988.

EVANS, J.P. The Effect of Local Resource Availability and Clonal Integration on Ramet Functional Morphology in *Hydrocotyle bonariensis*. **Oecologia**, v. 89, (2), p. 265-276, 1992.

FACHINETTO, J. M. *et al.* Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo de celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, (1), p. 49-54, 2007.

FEITOSA, M.H. ALVES; SOARES, L.L.; BORGES, G.A.; ANDRADE, M.M.; COSTA, S.M. Inserção do Conteúdo Fitoterapia em Cursos da Área de Saúde. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 40, (2), p. 197-203, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-52712015v40n2e03092014>. Acesso em 10 nov. 2019.

FLORINSIAH, L. *et al.* Mutagenicity Effect of *Hydrocotyle Bonariensis* Extracts in Salmonella/Microsomen Assay. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 20, (2), p. 47-50, 2013.

FRESCURA V.D.; LAUGHINGHOUSE IV, H.D.; TEDESCOS, B. Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Luehea divaricata* on the *Allium Cepa* cell cycle. **Caryologia**. V. 65, (1), p. 27-33, 2012.

FUNARI, C.S.; FERRO, V.O.; MATHOR, M.B. Análise de própolis de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Compositae) e seus efeitos sobre fibroblastos de rato. **Journal of Ethnopharmacology** v.111, (2) p. 206-212, 2007.

GEBHARDT Y, *et al.* Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae. **Phytochemistry**, v. 66, (11), p. 1273-1284, 2005.

GIULIETTI, A.M. Espécies endêmicas da Caatinga. In: SAMPAIO, E.V.S.B.; GIULIETTI A.M.; VIRGÍNIO J.; GAMARRA-ROJAS C.F.L.; editores. **Vegetação e flora da Caatinga**, Recife: Associação de Plantas do Nordeste; 2002.

GOMES P.M.; ALVES, M. Floristic and vegetational aspects of an inselberg in the semi-arid region of northeast Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 6, (2), p. 329-346, 2009.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. 1 ed. Ribeirão Preto, São Paulo: FUNPEC, 2002.

HERRERO, O.; PEREZ, J.M.M; FERNÁNDEZ, P.F. Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test. **Mutation Research**, v. 743, (1-2), p. 24-34, 2012.

HOCAYEN P. A. S. *et al.* Avaliação da Toxicidade do extrato bruto metanólico de *Baccharis dracunculifolia* por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **INSULA Revista de Botânica**, (41), p. 23-31. 2012.

HUANG, S. S. *et al.* Antioxidant and antiproliferative activities of the four *Hydrocotyle* species from Taiwan. **Botanical Studies**, v. 49, (4), p. 311–322, 2008.

- IRGANG, B. E.; GASTAL JR., C. V. S. **Plantas aquáticas da planície costeira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, Edição dos autores, 290 p., 1996.
- JACOMINE, P.K.T. *et al.* Levantamento exploratório- reconhecimento de solos do estado do Piauí. **Embrapa**, 782p., 1986.
- JIMÉNEZ, G.; *et al.* Biological screening of plants of the venezuelan amazons. **Journal of Ethnopharmacology**, v.77, (1), p. 77-83, 2001.
- LEITE, J. J. G. *et al.* Chemical composition toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea Americana* (avocado) seed extracts. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, (2), p. 110-113, 2009.
- LEME, D. M.; MARIN; M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, v. 682, (1), p. 71–81, 2009.
- LOPES, R.M. *et al.* Flavonóides. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, (14), p. 18-22, 2000.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas** Nova Odessa, SP instituto Plantarum, ed. 4, 640 p., 2008.
- MARTINS, G. S. G., COIMBRA, C., C., B., E., SCHLICHTING, C., L., R., Toxicidade do Goji berry (*Lycium barbarum*). **Revista Uningá Review**, v. 20, (1), p. 87-91, 2014.
- MARTINS, H. F.; CARAUTA, J. P. P. Plantas aquáticas. Classificação e comentários. **Atas da Sociedade Botânica do Brasil**, v. 2, (13), p. 101-104, 1984.
- MERINO, F. *et al.* Phytochemical analysis, antioxidant potential and toxicity of crude ethanol extract and fractions of the species *Seneciowestermanii*Dusén against *Artemiasalina*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 17, (4), p. 1031-1040, 2015.
- MEYER, B. *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active constituents. **Planta Medica**, v. 45, (5), p. 31-34, 1982.
- MICHAEL, A. S.; THOMPSON, C. G.; ABRAMOVITZ, M. *Artemia salina* as a test organism for a bioassay. **Science**, v. 123, (3194), p. 464-468, 1956.
- NGUTA, J.M. *et al.* Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L.(Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v.2, p. 458-78, 2011.
- NARAYAN, M.S.; VENKATARAMAN, L.V. Effect of sugar and nitrogen on the production of anthocyanin in carrot (*Daucus carota*). **Journal Of Food Science**, v. 67, (1), pagina 84-86, 2002.
- OUVIÑA, A. Actividad Antiinflamatoria Tópica de Extractos de *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Apiaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, (6), p. 941-944, 2009.

PAREDES, P. F. M. Screening of Bioactivities and Toxicity of *Cnidocolus quercifolius* Pohl. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, 9 p., 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7930563>. Acesso em 10 nov. 2019.

PARRA, A. L. *et al.* Comparative study of the assay of *Artemiasalina L.* and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, (5), p.395-400, 2001.

PEDRALLI, G. Macrófitas aquáticas como bioindicadoras da qualidade da água: alternativas para usos múltiplos de reservatórios. In: THOMAZ, S. M. E BINI, L. M. **Ecologia e Manejo de macrófitas**. EDUEM, Maringá, p. 171-188, 2003.

PENFOUND, W. T. An outline for ecological life histories of herbaceous vascular hydrophytes. **Ecology**, v.33, p. 123-128, 1952.

PEREIRA, S. S. T. C. **Medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais industrializados e oficializados pelo Ministério da Saúde no Brasil: regulamentação sanitária, abrangência e qualidade dos estudos pré-clínicos e clínicos**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz- Fiocruz, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em:<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/14273>. Acesso em 10 nov. 2019.

PERON, A. P. *et al.* Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis L.* e *Cassia angustifolia vahl* em sistema teste vegetal. **Arquivos de ciências da saúde da UNIPAR**, v. 12, (1), p. 51-54, 2008.

PETER S. E.C. *et al.* Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, (1), p. 12–40, 1997

POTT, V. J.; POTT, A. **Plantas Aquáticas do Pantanal**. Brasília, DF: Embrapa, 404 páginas, 2000.

PRZEDPELSKA-WASOWICZ, E. M.; WIERZBICKA, M. Gating of aquaporins by heavy metals in *Allium cepa L.* epidermal cells. **Protoplasma**, v. 248, (4), p.663-671, 2011.

RATERA, L.E. E M. RATERA **Plantas de la flora Argentina empleadas en Medicina Popular**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 139 p., 1980.

REIS, H. H. T. **Como utilizar plantas medicinais**. Goiânia: Sistema Único de Saúde- ministério da saúde, 74 p., 1992.

RIGONATO, J.; MANTOVANI, M. S. e JORDÃO, B. Q. Mechanism of action of Chlorophyllin against Mitomycin –C mutagenicity in *Allium cepa*. **Cytologia**, v. 69, (4), p. 459-495, 2005.

ROCHA, F.F. *et al.* Anxiolytic-like and sedative effects of *Hydrocotyle umbellata L.*, Araliaceae, extract in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 21, (1), 2011.

- SAMPAIO, E.V.S.B. ; ARAÚJO, M.S.B. e SAMPAIO, Y.S. impactos ambientais da agricultura no processo de desertificação no nordeste do Brasil. In: **Anais do XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**; Recife: SBCS, 2005.
- SANTANA, S. A. **Estudo Farmacognóstico da Acariçoba, *Hydrocotyle umbellata* L. Apiaceae**. 2001. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2001.
- SANTOS, R. A. F.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Atividade citotóxica de extratos polares de seis espécies de Leguminosae. In: **34º REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA**, Florianópolis, 2011.
- SILVA, C. B.; LIMA, V. L. M. **Avaliação da atividade antitumoral em extrato de *Indigofera suffruticosa* Mill.** 2008. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.
- SILVA, R. R. A. *et al.* Avaliação da toxicidade de plantas por meio do bioensaio com *artemia salin*. **69ª Reunião Anual da SBPC**, UFMG Belo Horizonte/MG, 4p. , julho de 2017.
- SIMÕES, C. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 6 ed. 1104 p., 2010.
- SIQUEIRA, J. M. *et al.* Estudo Fitoquímico de *Unonopsis lindmanii*– *Annonaceae*, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. **Revista Química Nova**, v.21, (5), 1998.
- STEFANELLO, M. E. A.; SALVADOR, M. J.; ITO, I. Y.; MACARI, P. A.; Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de *Gochnatiapolymorphasp. floccosa*. **Revista Brasileira de farmacologia**, v.16, p. 525-530, 2006.
- STURBELLE, R. T. *et al.* Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica de *Aloe vera* em teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 409-415, 2008.
- VEIGA, L. F. e VITAL, N. Teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia sp.* In: I. A. Nascimento, E. C. P. M., Sousa e M. Nipper, **Métodos em ecotoxicologia marinha. Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria, São Paulo, p. 111-122, 2002.
- WAGNER, E.; WISENAUER, M. **Fitoterapia: fitofármacos, farmacologia e aplicações clínicas**. Pharmabooks, São Paulo. Ed.2, 200.



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
“JOSÉ ALBANO DE MACEDO”**

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
() Dissertação
(x) Monografia
() Artigo

Eu, Andreza Larissa do Nascimento, autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de 02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DA MACRÓFITA *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Apiaceae) de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI, 09 de Março de 2020.

Andreza Larissa do Nascimento

Assinatura

Andreza Larissa do Nascimento

Assinatura

