



FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE

ADRIANA PÁDUA DINIZ

**ANÁLISE MUTAGÊNICA DA POLPA DO FRUTO DA
Morinda citrifolia (noni) ATRAVÉS DA TÉCNICA DE
MICRONÚCLEO EM *Allium cepa***

ARIQUEMES-RO

2011

Adriana Pádua Diniz

**ANÁLISE MUTAGÊNICA DA POLPA DO FRUTO DA
Morinda citrifolia (noni) ATRAVÉS DA TÉCNICA DE
MICRONÚCLEO EM *Allium cepa***

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Farmácia.

Profº. Orientador. Esp. Leandro José Ramos

Ariquemes - RO

2011

Adriana Pádua Diniz

ANÁLISE MUTAGÊNICA DA POLPA DO FRUTO DA *Morinda citrifolia* (noni) ATRAVÉS DA TÉCNICA DE MICRONÚCLEO EM *Allium cepa*

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia, da Faculdade de Educação e Meio Ambiente como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profº. Orientador. Esp. Leandro José Ramos
Faculdade de Educação e Meio Ambiente -
FAEMA

Prof. Ms. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti
Faculdade de Educação e Meio Ambiente -
FAEMA

Prof. Ms. Nelson Pereira Junior
Faculdade de Educação e Meio Ambiente -
FAEMA

Ariquemes, _____ de _____ de 2011

A Deus, por estar comigo nas dificuldades.

Aos meus familiares por me apoiar sempre.

A meu esposo, por iluminar os meus dias.

A minha filha, razão de meu viver.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Orientador, Leandro José Ramos, pela paciência e dedicação em todas as etapas deste trabalho.

Aos meus familiares que contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao meu esposo e filha, pela força e incentivos, pela paciência nos momentos difíceis.

Ao Prof. Ms. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti, que contribuiu significativamente para realização deste trabalho.

Aos colegas universitários, e todos que, de algum modo, colaboraram para a realização e finalização deste trabalho.

*Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,
Lembrai-vos de que as grandes coisas do homem
foram conquistadas do que parecia impossível.*

CHARLES CHAPLIN

RESUMO

A planta *Morinda citrifolia* (*M. citrifolia*), conhecida popularmente como noni, vem sendo utilizada de forma crescente na medicina tradicional brasileira por acreditar que possui efeito preventivo e terapêutico de várias doenças, entre elas o câncer. O teste de micronúcleo em *Allium cepa* (*A. cepa*) é considerado um excelente biomarcador de atividades mutagênicas, além de apresentar baixo custo e boa correlação com outros testes de genotoxicidade em mamíferos. O presente estudo objetivou realizar uma análise da mutagênicidade da polpa do fruto da *M. citrifolia* através do teste de micronúcleo em *A. cepa*. Os meristemas de *A. cepa* foram postos a germinar em cinco concentrações diferentes sendo 2,5%; 5%; 10% e 20% de polpa do fruto em água destilada e um grupo de meristemas em água destilada à 100% para controle negativo. Após a germinação dos meristemas nas devidas concentrações, os mesmos foram retirados e através da técnica de esfregaço foram preparadas 20 lâminas para cada concentração onde em sequência as lâminas foram analisadas em microscopia óptica, com objetiva de 40x e ocular de 10x tendo um aumento de 400x. Os micronúcleos foram contabilizados a cada 1000 células por lâmina. Após análise das lâminas das concentrações contendo 2,5%; 5%; 10% e 20% de polpa de *M. citrifolia* obtiveram-se respectivamente 2,8 ($P < 0.001$); 3,7 ($P < 0.01$); 2,1 ($P < 0.001$) e 3,9 ($P < 0.05$) micronúcleos por 1000 células, apresentando significância estatística quando comparadas com o controle negativo, mostrando que todas as concentrações analisadas apresentam um efeito anti-mutagênico nas células verificadas.

Palavras-chaves: *Morinda citrifolia*, Mutagenicidade, Micronúcleo, *Allium cepa*.

ABSTRACT

The plant *Morinda citrifolia* (*M. citrifolia*), commonly known as Noni, is used increasingly in Brazilian traditional medicine. It is believed that it has a preventative and therapeutic effect on various diseases, including cancer. The micronucleus test of *Allium cepa* (*A. strain*) is considered an excellent biomarker of mutagenic activity. Moreover, it presents low cost and also a good correlation with other genotoxicity tests of mammals. The objective of this study is to provide an analysis of the mutagenicity of pulp from the juice of *M. citrifolia* via the micronucleus test in *A. strain*. The meristems of *A. strain* were germinated in five different concentrations (2.5%, 5%, 10% and 20%) of fruit pulp in distilled water, and a group of meristems in distilled water at 100% for negative control. After germinating the meristems in proper concentrations, they were withdrawn. The smear technique was used to prepare 20 slides for each concentration in sequence, after which the slides were examined under an optical microscope with a 40X objective and a 10X eyepiece with a 400X magnification. Micronuclei were counted in 1,000 cells per slide. Analysis of slides of concentrations containing 2.5%, 5%, 10% and 20% of *M. citrifolia* pulp resulted respectively in 2.8 ($P < 0.001$); 3.7 ($P < 0.01$); 2.1 ($P < 0.001$) and 3.9 ($P < 0.05$) micronuclei per 1,000 cells, showing statistical significance when compared with the negative control, and that all the analyzed concentrations present an anti-mutagenic effect in the verified cells.

Keywords: *Morinda citrifolia*, Mutagenesis, Micronucleus, *Allium cepa*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Fruto verde <i>M. citrifolia</i>	16
Figura 2	- Fruto Maduro de <i>M. citrifolia</i>	16
Figura 3	- Formação de micronúcleos em células eucarióticas.....	21
Figura 4	- Germinação de <i>Allium cepa</i> em polpa de <i>M. citrifolia</i>	25
Figura 5	- Micronúcleo em célula de <i>Allium cepa</i> exposta (ocular:10x, objetiva 40x)	26
Figura 6	- Média de números de micronúcleo encontrados em 1000 células de <i>A. cepa</i> , por concentrações de polpa do fruto da <i>M.</i> <i>citrifolia</i>	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A. cepa *Allium cepa*

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CCA Comitê Científico para Alimentação

CCl₄ Tetracloreto de Carbono

DNA Ácido Desoxirribonucléico

INBio Instituto Nacional de Biodiversidad

M. citrifolia *Morinda citrifolia*

SMART Teste para Detecção de Mutação e Recombinação

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 PLANTAS MEDICINAIS	14
2.2 <i>Morinda citrifolia</i> (NONI)	15
2.3 PRINCIPAIS COMPONENTES PRESENTES EM <i>Morinda citrifolia</i>	17
2.4 UTILIZAÇÕES CLÍNICAS ASSOCIADOS AO CONSUMO DE <i>MORINDA CITRIFOLIA</i>	17
2.5 ATIVIDADE MUTAGÊNICA DA <i>Morinda citrifolia</i>	19
2.6 MUTAGENICIDADE	20
2.7 TESTE DE MICRONÚCLEO EM <i>Allium cepa</i>	21
3 OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4 METODOLOGIA	24
4.1 OBTENÇÃO E PREPARAÇÃO DO FRUTO	24
4.2 ANÁLISE MUTAGÊNICA	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
5.1 POLPA DOS FRUTOS	27
5.2 ANÁLISE DE MICRONÚCLEO	27
CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31

INTRODUÇÃO

Muitas plantas medicinais são utilizadas mundialmente para o tratamento de diversas doenças, mesmo não contendo estudos suficientes sobre o potencial risco citotóxico/mutagênico. (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007). Podendo assim, resultar em um escasso conhecimento sobre seus efeitos colaterais e seu material genético. (VARANDA, 2006).

Os fitoterápicos são considerados misturas de constituintes, fornecendo assim uma vantagem terapêutica, resultando de maneira aditiva ou sinérgica, e assim aumentando sua eficácia. Pelo fato de serem originados de plantas, os níveis de contaminações por substâncias tóxicas devem ser considerados, sendo necessários ensaios clínicos dentro dos padrões das boas práticas de fabricação e controle de qualidade, assim como, ensaios clínicos que identifiquem seu nível de genotoxicidade, toxicidade e carcinogenicidade. (BRASIL, 2008).

Foi determinado ao longo dos anos, que algumas plantas medicinais contêm substâncias potencialmente perigosas. Em nível científico, pesquisas constataram que muitas delas possuem substâncias agressivas, devendo ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos. (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005). Algumas plantas que possuem alcalóides e flavonóides foram testadas sobre o seu potencial mutagênico, apresentando resultado positivo, o qual pode causar eventos mutacionais. (SANTOS et al., 2006,2008).

Nos dias atuais, as principais suposições de mecanismo de ação de substâncias que causam doenças como o câncer podem ocorrer pela indução de mutações em células somáticas, sendo considerados diversos agentes mutagênicos químicos e físicos propensos à indução de danos ao ácido desoxirribonucléico (DNA) celular com geração de mutações. (MOREIRA et al., 2002). Esses agentes mutagênicos invadem a célula se dirigindo ao núcleo e causando alterações no material genético, podendo assim desregular o ciclo celular, permitindo que as células se reproduzam descontroladamente invadindo os tecidos adjacentes com provável formação de tumores. Por este fato, é importante conhecer os agentes que causam alterações, para prevenir o surgimento de doenças. (ALMEIDA et al., 2005).

Mutações são definidas como qualquer alteração no DNA, e podem ser observados pela formação de micronúcleos, que são pequenos corpúsculos contendo material cromossômico, localizados no citoplasma e resultantes da perda de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros, esses por sua vez, não se prendem ao fuso mitótico, deste modo, os mesmos não chegam aos pólos da célula durante a mitose, ficando assim os cromossomos perdidos no citoplasma, formando a sua própria membrana celular, sendo denominado como micronúcleo. (SILVA; ERDTMANN; HENRIQUES, 2003).

O teste de micronúcleo tem sido utilizado preferencialmente para avaliar de forma confiável, possíveis danos genéticos e seu potencial genotóxico, podendo ser realizado em células eucarióticas vegetais e/ou animais. (FENECH, 2000).

O teste de micronúcleo em *Allium cepa* (*A. cepa*) (conhecido popularmente como cebola) é utilizado para estudos citotóxicos, devido as suas raízes ficarem em contato direto com a substância em teste, sendo atualmente um indicador ideal para testes de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais por ser um teste barato, confiável e bem aceito comparado a outros testes de genotoxicidade. (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

A planta *Morinda citrifolia* (*M. citrifolia*) pertence à família Rubiaceae, e seu gênero morinda abrange cerca de 80 espécies, sendo encontradas principalmente nas regiões de clima tropical. (MORTON, 1992). *M. citrifolia* é conhecida popularmente como **noni**, sendo considerada uma das principais plantas utilizadas para fins medicinais na Polinésia, podendo ser obtida os seus componentes de diferentes partes, incluindo folhas, raízes, cascas e frutos. (Mc CLATCHEY, 2002, grifo meu). Na Polinésia e entre outras localidades a *M. citrifolia* é utilizada para diversos fins terapêuticos, incluindo ação antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, anti-helmíntico, analgésica, antiinflamatória, hipotensora e imunoestimulante. (WANG et al., 2002). Há um grande interesse popular sobre a utilização e as propriedades do fruto da *M. citrifolia*, decorrente de várias publicações populares, que relatam que a planta e seus extratos são capazes de curar e tratar mais de 120 doenças. (RODRIGUEZ; PINEDO, 2004).

Portanto, diante da vasta utilização do suco do fruto da *M. citrifolia* pela população em diversas regiões do Brasil, e por conter poucas informações no que se refere à possível indução de alterações no genoma celular em nível de mutação,

é importante e necessária uma avaliação genotóxica do produto a fim de enriquecer o conhecimento científico do mesmo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

A utilização de plantas com fins medicinais vem ocorrendo a milhares de anos e sua utilização popular propaga-se de geração em geração. (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Embora o emprego de plantas medicinais para o tratamento de diferentes tipos de doenças seja uma prática muito antiga e comum pela população, o seu consumo deve ser monitorado, pois várias plantas contêm uma grande quantidade de substâncias tóxicas, constituindo um risco aos que consomem. (SANTOS; POZETTI; VARANDA, 2006).

Nos dias atuais, as plantas medicinais representam uma opção de tratamento de fácil acesso por aproximadamente 80% da população brasileira, mesmo sem o conhecimento específico sobre suas propriedades químicas e farmacológicas. (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010). Por outro lado, os medicamentos tradicionais são incorporados aos sistemas de saúde pública, e assim distribuídos à população mundial, porém é importante, e necessária a pesquisa científica para avaliar sua ação e eficácia. (WHO-WORLD, 2000).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os fitoterápicos são obtidos a partir de plantas medicinais, e assim como qualquer outro medicamento, devem oferecer garantia de qualidade e segurança, sendo validados por meio de estudos farmacológicos e toxicológicos, pré-clínicos e clínicos. (BRASIL, 2011).

Diversos compostos que são encontrados em plantas medicinais podem ser descritos como mutagênicos e até carcinogênicos, sendo apesar disto, utilizados pela população por acreditarem que por ser de origem natural não causaria agressões ao meio interno, porém, são realizados poucos estudos para avaliar suas possíveis alterações a nível celular. (PERON et al., 2008). Portanto, a determinação sobre o potencial genotóxico de produtos naturais, deve ser avaliada para garantir segurança à população em geral. (MACÊDO et al., 2008).

2.2 *Morinda citrifolia*

Conforme o Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio) (1997), a classificação Taxonômica da *M. citrifolia* é descrita da seguinte forma:

- **Reino:** Plantae
- **Filo:** Magnoliophyta
- **Classe:** Magnoliopsida
- **Ordem:** Rubiales
- **Família:** Rubiaceae
- **Gênero:** *Morinda*
- **Espécie:** *Morinda citrifolia* L.

O fruto da *M. citrifolia*, é consumido na Ásia por mais de 2000 anos, porém sua introdução no Brasil deu-se há poucos anos, devido há várias divulgações sobre seus benefícios, principalmente no combate a dores, tumores, inflamações, hipertensão, fadiga entre outros. (VEIGA et al., 2005).

O gênero *Morinda*, pertence à família Rubiaceae, e sua árvore pode chegar a 6 m de altura, seu fruto tem uma forma incomum ovóide, atingindo até 12 centímetros de comprimento. O fruto imaturo possui cor verde brilhante (Figura 1), e quando amadurece possui coloração amarelada ou branca translúcida (Figura 2) com odor desagradável. Possui ampla distribuição nas Ilhas do Pacífico, sudeste da Ásia, leste da Polinésia e no Hawaii, sendo recentemente inserida nas regiões de clima tropical. (POTTERAT; HAMBURGER, 2007).

Na medicina tradicional as frutas, cascas, flores e raízes de plantas têm sido utilizadas para diversos fins medicinais, (LAVAUT; LAVAUT, 2003). O suco do fruto da *M. citrifolia* é a forma predominante, obtido por processo de pasteurização e fermentação quando industrializado, e geralmente são misturados com outros sucos, como uva e morango, para assim melhorar o seu sabor. (NELSON, 2003).



FIGURA 1 – Fruto verde da *M. citrifolia*.
Fonte: (MATHIVANAN et al., 2005).



FIGURA 2 – Fruto maduro de *M. citrifolia*.
Fonte: (RODRIGUEZ; PINEDO, 2004).

2.3 PRINCIPAIS COMPONENTES PRESENTES EM *Morinda citrifolia*

Aproximadamente 160 fitoconstituintes foram identificados no fruto da *M. citrifolia*, os principais são ácidos orgânicos e alcalóides, dos compostos fenólicos, os mais importantes relatados são antraquinonas (damnancanthal, morindona e morindina), escopoletina entre outros. (WANG; SU, 2001).

Uma classe de metabólitos tem sido descritos na *M. citrifolia*, abrangendo polissacarídeos, ácidos graxos, glicosídeos, iridóides, antraquinonas, cumarinas, flavonóides, lignanas, fitosteróis, carotenóides e diversos componentes voláteis. (POTTERAT; HAMBURGER, 2007).

Uma das teorias para justificar a ação farmacológica de *M. citrifolia*, seria a presença de um precursor natural da xeronina, a proxeronina, que por ação da enzima proxeroninase é convertida em um alcalóide xeronina, sendo responsável por diversas atividades biológicas e entre elas a ativação de enzimas catalisadoras do metabolismo celular. A xeronina pode ter ações benéficas quando uma proteína não exerce completamente suas atividades, onde a mesma irá interagir com a proteína auxiliando em sua atividade adequada, sendo possível, que este alcalóide possa ser responsável por proporcionar grandes benefícios farmacológicos, tais como tratamento de hipertensão, úlceras gástricas, depressão mental, problemas digestivos, entre outros, estando convencido que o fruto noni pode trazer muitos benefícios à saúde quando devidamente ingerido. (HEINICKE, 1985 *apud* WANG et al., 2002).

2.4 UTILIZAÇÕES CLÍNICAS ASSOCIADOS AO CONSUMO DA *Morinda citrifolia*

Na Polinésia, o fruto da *M. citrifolia* tem sido utilizado como alternativa para o tratamento de uma série de doenças, tais como, artrite, diabetes, dores musculares, doenças cardíacas, câncer entre outros. (MATHIVANAN et al., 2005).

Okusada et al. (2011), relatam que o fruto da *M. citrifolia* possui constituintes ativos, o que possibilita o surgimento de novas drogas, e que um constituinte ativo, damnacanthal, isolado a partir da raiz da mesma, apresentou ação antinoceptiva e antiinflamatória em camundongos.

Foi demonstrado que uma fração rica em polissacarídeo, obtidos no suco de seu fruto, apresentou efeitos benéficos, resultando em atividade antitumoral,

aumentando significativamente a sobrevivência de camundongos portadores de tumores. (HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999).

A presença de antraquinonas em raízes de *M. citrifolia*, pode desempenhar um papel significativo na redução dos níveis de glicose, pois foram obtidos resultados ao qual demonstraram que com a administração do extrato de *M. citrifolia* apresentou uma redução nos níveis de glicose em ratos diabéticos. (KAMIYA et al., 2008).

Com a administração de extrato de *M. citrifolia* em ratos, observou-se a diminuição dos níveis de LDL e aumento significativo nos níveis de HDL, este fato provavelmente tenha ocorrido devido a constituintes antioxidantes presentes nesta fruta. (MANDUKHAIL; AZIZ; GILANI, 2010)

Foi relatado um caso de hepatotoxicidade associada ao consumo do fruto da *M. citrifolia* na forma de suco, onde uma paciente que ingeriu por alguns dias o suco do mesmo deu entrada ao hospital apresentando sintomas de icterícia, desconforto abdominal, vômitos, e no diagnóstico laboratorial, aumento significativo nos níveis de transaminases, revelando diagnóstico de hepatite aguda. Ainda no mesmo caso após alguns dias, em regime ambulatorial, foi observado à normalização dos exames e o desaparecimento completo dos sintomas. (STADLBAUER et al., 2005; LOPES-CEPERO et al., 2007). No entanto, Wang et al. (2008), relata que o suco de *M. citrifolia* demonstrou-se eficaz contra lesão hepática, não evidenciando hepatotoxicidade em ratas quando induzidas com Tetracloreto de carbono (CCl₄), não comprometendo os níveis séricos de alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase. West, Jensen e Westendorf (2006), também relatam que o fruto da mesma é incapaz de causar hepatotoxicidade, demonstrando que em suas raízes contém poucas quantidades de antraquinonas, não causando também toxicidade hepática.

As diversas propriedades relacionadas com o fruto da *M. citrifolia* evidenciaram que em testes *in vitro* e *in vivo*, foram capazes de apresentar efeitos benéficos para o tratamento de diversas doenças, no entanto, são necessários estudos que comprovem sua eficácia e seu verdadeiro potencial para a saúde humana. (CHAN-BLANCO et al., 2006, grifo meu).

Com base em um relatório apresentado no dia 11 de dezembro de 2002, pelo Comitê Científico para Alimentação (CCA), informou que a introdução do suco de *M. citrifolia* no mercado é aceitável, porém quando ingeridos nos níveis recomendados,

pois o mesmo não apresentou indícios de efeitos genotóxicos de toxicidade e alergenicidade, mas o CCA não se pronunciou sobre os benefícios a saúde que o suco de *M. citrifolia* oferecia aos consumidores. (COMISSÃO EUROPÉIA, 2002).

Porém, conforme o informe técnico nº 25, de 29 de maio de 2007 emitido pela ANVISA, a comercialização de qualquer produto contendo *M. citrifolia*, só será permitido após testes que comprovem sua segurança, e após registro na ANVISA, com a finalidade de proteger a saúde da população. (BRASIL, 2007).

2.5 ATIVIDADE MUTAGÊNICA DA *Morinda citrifolia*

Muitos estudos relatam que o suco de *M. citrifolia* pode sugerir ação antitumoral, mas o seu mecanismo não foi completamente elucidado, no entanto um estudo demonstra que o fermentado do mesmo seria capaz de estimular o sistema imune inato e adaptativo, com capacidade de rejeição de células tumorais. (JINHUA et al., 2008).

Devido à grande utilização do suco *M. citrifolia*, foram realizados diversos testes de genotoxicidade, evidenciando que o suco não foi capaz de induzir efeitos mutagênicos. (WESTENDORF et al., 2007).

Conforme West, Su e Jensen (2008), a administração de extrato de *M. citrifolia* em ratas no período pré-natal, foi incapaz de causar toxicidade significativa, não sendo observada má formação fetal, ou morte dos embriões.

Em um estudo realizado para avaliar a segurança do uso de derivados de *M. citrifolia*, foram descritos vários testes de genotoxicidade, alergenicidade, toxicidade e estudos clínicos, tanto *in vitro* como *in vivo*, observando que o seu fruto não apresentou níveis significativos quando administrados por via oral, intraperitoneal e intravenosa. (WEST et al., 2006, grifo meu).

Franchi et al. (2008), utilizaram o Teste para Detecção de Mutação e Recombinação (SMART) para avaliar a atividade mutagênica do suco do fruto da *M. citrifolia*, relatando que o suco foi incapaz de provocar alteração no DNA de células somáticas de *Drosophila melanogaster*.

2.6 MUTAGENICIDADE

Danos genômicos são desencadeados pela exposição ambiental, devido a procedimentos médicos (radiação e produtos químicos), deficiência de nutrientes (Ex: ácido fólico), estilo de vida (fumo, drogas, álcool, drogas e estresse) e fatores intrínsecos como defeitos hereditários do metabolismo do DNA, sendo que estes danos são provavelmente a principal causa de doenças degenerativas ou desenvolvimento. (TOLBERT et al., 1992; SPEIT; SCHMID, 2006).

Diversas substâncias possuem efeitos mutagênicos e/ou carcinogênicos, e algumas destas podem ser encontradas em alimentos aos quais podem agir induzindo a mutações no DNA, favorecendo o desenvolvimento de diversas doenças. (ANTUNES; ARAÚJO, 2000).

As lesões do DNA podem ocorrer por reações químicas das próprias células e/ou agentes químicos e físicos provenientes do meio ambiente, sendo esses agentes descritos como genotóxicos ou carcinogênicos, podendo desencadear processos cancerosos e morte celular decorrentes à duplicação do DNA, aberrações cromossômicas e mutações. (COSTA; MENK, 2000).

O processo de mutação pode ser descrito como uma alteração no material genético, sendo que dependendo da linhagem celular que ocorra, a mutação passará as novas células ou as células filhas, e o potencial de um agente mutagênico pode ser identificado pelo aumento na frequência de mutações em um organismo a ele exposto. (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

A ocorrência de mutação celular pode ser observada pela formação de micronúcleos (Figura 3), sendo estruturas contendo DNA, presentes no citoplasma de células em divisão, possuindo características cromatínicas, semelhantes com às do núcleo principal quando observados ao microscópio óptico. (MILLER, 1973).

Os micronúcleos são formados a partir de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros que não estão incluídos no núcleo principal durante a divisão celular, podendo formar um pequeno núcleo individual sendo que sua formação é considerada um indicador de doenças e processos relacionados a danos ao DNA. (FENECH et al., 1999).

Existem diversos testes de genotoxicidade, representando um papel importante para avaliar o nível de toxicidade celular e também seu potencial mutagênico e carcinogênico. Em meio a essas técnicas, o teste de micronúcleo

apresentou grande vantagem em relação a outros testes, devido a sua grande sensibilidade quando expostas a agentes mutagênicos e a sua capacidade de analisar um grande número de células. (FLORES; YAMAGUCHI, 2008).

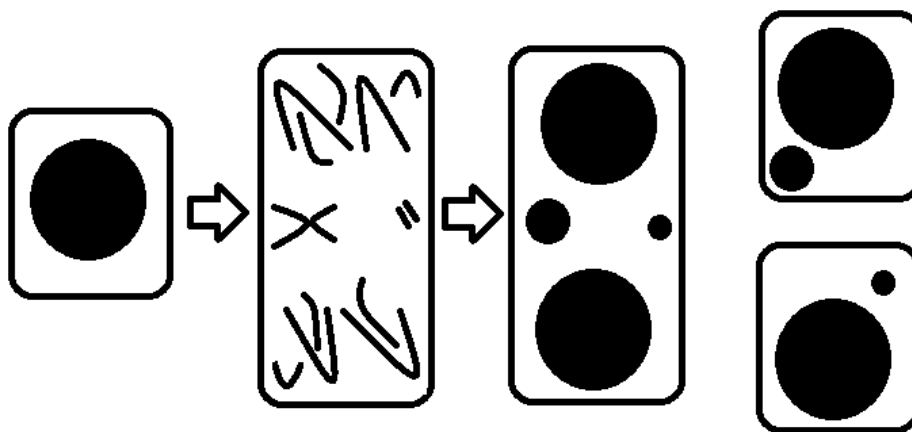


FIGURA 3 – Formação de micronúcleos em células eucarióticas.
Fonte: Arquivo pessoal do autor da Monografia.

2.7 TESTE DE MICRONÚCLEO EM *Allium cepa*

A detecção do potencial genotóxico pode ser observada pelo teste em células meristemáticas de *A. cepa*, através do contato direto de suas raízes em soluções teste (chás), sendo indicado como um eficiente biomarcador para monitorar efeitos mutagênicos. Devido a isso, vem sendo muito utilizado por apresentar diversas vantagens como: baixo custo, fácil acesso, boa sensibilidade e boa correlação com outros testes de genotoxicidade, sendo assim, apropriado também para detectar mutações ocasionadas por produtos químicos e materiais biológicos. (CHANDRA et al., 2005; BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007; ABU; MBA, 2011).

O teste de micronúcleo em *A. cepa* tem sido eficaz para detectar efeitos mutagênicos em células eucarióticas expostas a agentes clastogênicos e/ou aneugênicos, sendo que, além de detectar esses agentes, são bem aceitos por instituições governamentais e agências internacionais que utilizam o mesmo principalmente para estabelecer a obtenção de novos medicamentos. (FENECH, 2000; SOUZA et al., 2009; MANZANO, 2010).

El-Shahaby et al. (2003), salientam que o teste de *A. cepa*, é adequado para detectar efeitos tóxicos e mutagênicos, para avaliação de níveis de poluição ambiental, podendo assim contribuir evitando riscos para a população humana.

Sturbelle et al. (2010) utilizaram células meristemáticas de *A. cepa* para avaliar a atividade mutagênica e anti-mutagênica da solução de *Aloe vera*, onde as mesmas apresentaram sensibilidade e capacidade de avaliar o índice e anomalias do ciclo mitótico.

São utilizados vários ensaios para detectar mutagenicidade, onde muitos destes, necessitam de um tempo prolongado e alto custo para sua realização. Entretanto, a técnica de micronúcleo em *A. cepa* têm se demonstrado eficiente pela sua sensibilidade e exatidão, quando comparado a outros testes, avaliando o índice mitótico e a frequência de micronúcleos em células expostas a agentes mutagênicos. (GAVRONSKI, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2009; SAMUEL; OSUALA; ODEIGAH, 2010). Notando-se, que este teste possui correlação de aproximadamente 82%, quando comparados a ensaios de carcinogenicidade em roedores, obtendo uma concordância entre os sistemas vegetais e em mamíferos de aproximadamente 91%. (KRÜGER, 2009).

Segundo Fiskejö (1985), a sensibilidade do teste de micronúcleo em *A. cepa* é praticamente a mesma quando comparada com testes realizados em algas e linfócitos humanos. Também, segundo pesquisas de Migid, Azab e Ibrahim (2007) o teste de micronúcleo em *A. cepa* demonstrou maior sensibilidade em relação a outras plantas utilizadas em organismos-testes como *Vicia faba* e outras.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a atividade mutagênica da polpa do fruto da *Morinda citrifolia* (noni) através do teste de micronúcleo em *Allium cepa*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Monitorar a atividade mutagênica da polpa do fruto da *M. citrifolia*;
- Relacionar possíveis reações benéficas ou malélicas ao consumo da *M. citrifolia*;
- Gerar subsídios para um consumo saudável de *M. citrifolia* pelo homem;
- Sustentar a eficácia do teste de micronúcleo em *A. cepa* como forma de identificar alterações mutagênicas;

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO E PREPARAÇÃO DO FRUTO

Foram colhidos um total de 15 frutos de *M. citrifolia* (noni), obtidos no Sítio Pontal na linha C-70 da BR 364 em Ariquemes/RO, onde o proprietário informou que as plantas nunca foram pulverizadas com agrotóxicos e fertilizantes foliares. Após a colheita dos frutos, os mesmos foram encaminhados para o Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Educação e Meio Ambientes (FAEMA) no município de Ariquemes-RO.

No laboratório, os frutos foram selecionados de acordo com alguns critérios de exclusão como:

- Sinais de podridão;
- Lesão por larvas, insetos ou roedores;
- Apresentar textura rígida, sugerindo que o fruto apresenta-se em fase precoce (não maduro);
- Fissuras na casca.

Após a seleção dos frutos, foram obtidos oito frutos ideais para os objetivos da pesquisa, sendo lavados em água destilada e colocados em recipientes de vidro esterilizado. Posteriormente foram retiradas as sementes dos frutos e os mesmos foram esmagados manualmente e peneirados com uma peneira em aço inox esterilizado com abertura de dois mm a fim de obter a polpa dos frutos.

4.2 ANÁLISE MUTAGÊNICA

Foram utilizados 50 exemplares de *A. cepa* (bulbos) de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinadas e saudáveis, adquiridas no mercado municipal do município de Ariquemes, Rondônia, Brasil, no dia 12 de agosto de 2011. No mesmo dia, os bulbos foram postos a germinar por um período de seis dias a temperatura de 25°C, em frascos apropriados, com a parte inferior mergulhada em solução contendo concentrações diferentes, sendo 10 bulbos em uma solução de 2,5% de polpa do fruto da *M. citrifolia* e 97,5% de água destilada, 10 bulbos em uma solução de 5% de polpa do fruto da *M. citrifolia* e 95% de água destilada, 10 bulbos em uma solução de 10% de polpa do fruto da *M. citrifolia* e 90%

de água destilada, 10 bulbos em uma solução de 20% de polpa do fruto da *M. citrifolia* e 80% de água destilada e 10 bulbos em uma concentração de 100% de água destilada para o controle negativo (Figura 4).



FIGURA 4 - Germinação de *Allium cepa* na polpa do fruto da *M. citrifolia*.
Fonte: Arquivo pessoal do autor da Monografia.

Ao atingir o tamanho de 0,5 a 3 cm de comprimento, os meristemas foram coletados e colocados em um tubo de ensaio, onde foram lavados em água destilada e hidrolisados com ácido clorídrico (HCl) a 1mol/L por 10 minutos em banho-maria a 60C°, posteriormente os tubos de ensaio foram resfriados em água corrente.

Após a lavagem dos meristemas hidrolisados em água destilada foram feitos esfregaços com lamínula em duas lâminas para cada repetição de tratamento em todas as concentrações analisadas, totalizando 100 lâminas. Após 30 minutos de secagem as lâminas foram coradas com o Kit Panótico Rápido LB que é composto de três recipientes: o primeiro com triarilmetano a 0,1 %, o segundo com xantenos a 0,1% e o terceiro com tiazinas a 0,1 %, sendo as lâminas mergulhadas 10 vezes em cada recipiente com submersão de 1 segundo de duração na sequência acima descrita. Posteriormente, as lâminas foram lavadas em água destilada para retirar o excesso de corantes e secas à temperatura ambiente. (MENEGUETTI et al., 2011).

A avaliação das lâminas consistiu na observação da presença de micronúcleos em 1000 células em interfase por bulbo em microscopia óptica, com objetiva de 40x e ocular de 10x tendo um aumento de 400x (Figura 5).

Em cada lâmina foram contabilizados pelo pesquisador fragmentos extracromossômicos de DNA citoplasmáticos contados como micronúcleos. Sendo que o pesquisador não estava ciente das porcentagens analisadas antes das contagens afim de não falsear os resultados.

Conforme Thomas et al. (2009), as células com micronúcleos foram caracterizadas pela presença de dois núcleos, sendo um núcleo principal e um núcleo menor (variação entre 03/01 e 16/01).

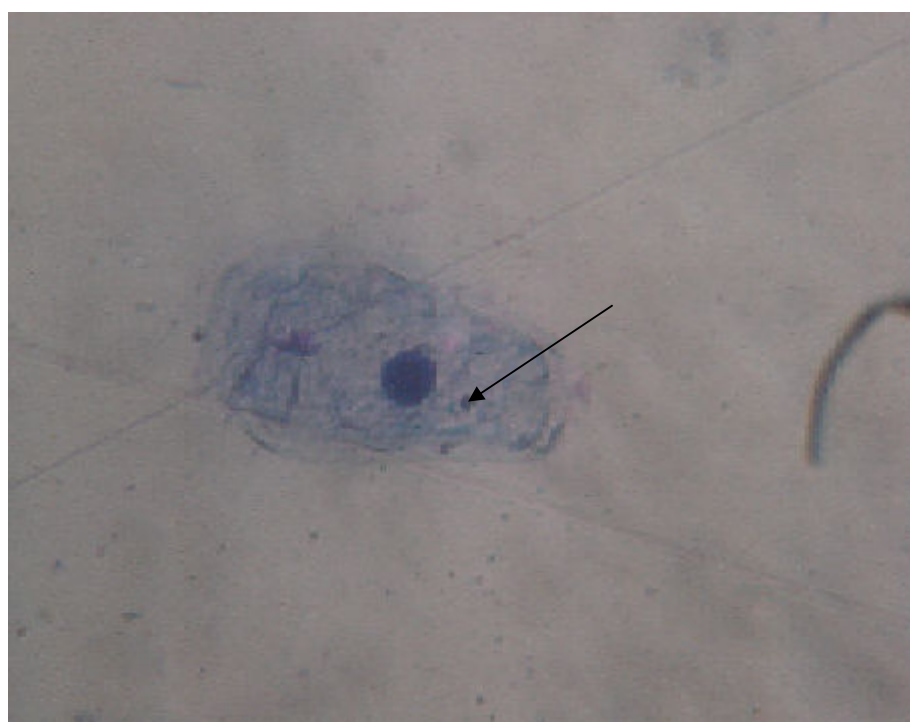


FIGURA 5 - Micronúcleo em célula de *Allium cepa* exposta (ocular:10x, objetiva 40x).

Para a análise estatística foi utilizado variância (ANOVA) teste não-paramétrico TUKEY, feito pelo Software Graphad PRISM 5.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 POLPA DOS FRUTOS

Após o esmagamento e esfregaço do fruto contra a peneira supracitada foi obtido uma substância pastosa o que inviabilizou criar grupos de bulbos germinando em soluções com mais de 20% de polpa do fruto da *M citrifolia*.

5.2 ANÁLISE DE MICRONÚCLEO

Os resultados obtidos através da análise mutagênica em *A. cepa* germinadas nas polpas dos frutos estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Número e média de micronúcleo, em *A. cepa* a cada 1000 células por lâminas e concentrações.

	H ₂ O	2,5 %	5 %	10%	20%
Frasco 01	3	2	2	3	6
	3	2	2	3	6
Frasco 02	5	2	6	3	3
	4	2	3	3	4
Frasco 03	4	2	6	2	3
	13	3	3	2	4
Frasco 04	8	3	4	2	4
	7	2	3	2	3
Frasco 05	6	3	3	2	3
	6	2	5	1	4
Frasco 06	4	3	6	1	2
	3	3	2	2	3
Frasco 07	6	3	3	1	4
	2	2	4	3	6
Frasco 08	4	4	2	1	4
	7	3	5	2	4
Frasco 09	1	4	7	4	3
	8	6	3	2	4
Frasco 10	8	3	3	1	3
	12	2	2	2	5
Total	114	56	74	42	78
Média	5,7	2,8	3,7	2,1	3,9

Fonte: Arquivo pessoal do autor da Monografia.

Observando os dados da tabela acima, nota-se a presença de 5,7 micronúcleos por 1000 células em concentração de água destilada, sendo que a mesma utilizada como controle negativo.

Para as concentrações contendo 2,5%; 5%; 10% e 20% de polpa de *M. citrifolia* obtiveram-se respectivamente 2,8 ($P < 0.001$); 3,7 ($P < 0.01$); 2,1 ($P < 0.001$) e 3,9 ($P < 0.05$) micronúcleos por 1000 células, apresentando significância estatística quando comparadas com o controle negativo, mostrando que as concentrações avaliadas apresentam um efeito anti-mutagênico nas células analisadas (Figura 6).

As concentrações contendo 2,5 e 10% de polpa do fruto da *M. citrifolia* apresentaram uma maior significância estatística (***) quando comparadas ao grupo controle.

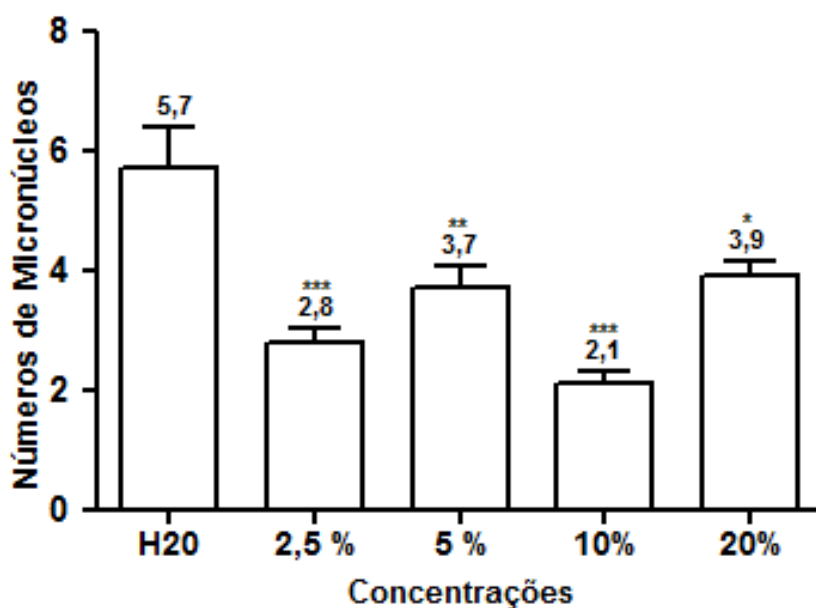


FIGURA 6 - Média de números de micronúcleo encontrados em 1000 células de *A. cepa*, por concentrações de polpa do fruto da *M. citrifolia*. Significativo para * ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$) e *** ($P < 0.001$).

Visto que os grupos de 2,5 e 10% apresentaram valores inferiores em relação aos outros grupos, acreditamos que essas concentrações deveriam ser utilizadas como fórmulas na preparação de suco ou doces para que o fruto apresente um possível efeito anti-mutagênico.

Vale ressaltar que o consumo de suco ou doces derivados da *M. citrifolia* não é autorizado pela ANVISA antes que testes mutagênicos, toxicológicos ou clínicos sejam realizados, a fim de proteger a saúde do ser humano, porém seu consumo esta sendo cada vez maior pela população brasileira de forma não controlada.

Em consonância com Mathivanan et al. (2005), devido ao alto consumo da *M. citrifolia* como alternativa para a prevenção e tratamento de várias doenças entre elas o câncer, os dados apresentados no presente trabalho irão contribuir, enriquecendo o conhecimento sobre um assunto que tão pouco se conhece e fortalecendo o conhecimento que o fruto da *M. citrifolia* apresenta efeitos anti-mutagênicos em consonância com outros trabalhos. (HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999; JINHUA et al., 2008; PALIOTO; JABOR; ROCHA, 2009).

Vale ressaltar que as concentrações estudadas acima foram diluídas em 50 ml de água, por outro lado, quando absorvidas pelo epitélio intestinal de humanos, será diluída na corrente sanguínea em valores próximos a 3.500 ml de água em um adulto jovem normal.

Salienta-se também que o fruto da *M. citrifolia* assim como os componentes da raiz do mesmo, é incapaz de causar hepatotoxicidade. (WEST; JENSEN; WESTENDORF, 2006; WEST et al., 2006). Porém, alguns trabalhos comprovam que o consumo de *M. citrifolia* está diretamente relacionado com a hepatotoxicidade. (STADLBAUER et al., 2005; LOPES-CEPERO et al., 2007).

Em consonância com o trabalho de Chearskul et al. (2004), acreditamos que o consumo dos componentes da *M. citrifolia* devem ser utilizados para fins terapêuticos de forma moderada, visto que a exposição prolongada aos seus componentes poderá apresentar riscos ao ser humano.

CONCLUSÃO

Conclui-se com o presente estudo que a polpa do fruto da *M. citrifolia* apresentou efeito anti-mutagênico ($P < 0.05$) nas concentrações de 2,5%; 5%; 10% e 20% de polpa em água destilada quando comparado ao controle negativo. Observou-se também que as concentrações de 2,5% e 10% de *M. citrifolia* apresentaram uma maior significância estatística ($P < 0.001$) quando comparadas ao grupo controle, contendo referências benéficas para efeitos anti-mutagênicos em células vegetais.

Devido à grande eficácia do teste de micronúcleo para identificar danos mutagênicos em *A. cepa*, além do aumento do consumo da *M. citrifolia* observado no Brasil nos últimos anos, sugere-se novos estudos com diferentes concentrações a fim de eliminar possíveis fatores limitadores, tanto em células vegetais como também em células animais.

REFERÊNCIAS

ABU, Ngozi E.; MBA, K. C. Mutagenicity testing of pharmaceutical effluents on *Allium cepa* root tip meristems. **Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences**, Nsukka, v. 3, n. 2, p. 44-51, febr. 2011. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/jtehs/PDF/Pdf2011/February/Abu%20and%20Mba.pdf>>. Acesso em: 22 Outubro 2011.

ALMEIDA, Jorge X. N. et al. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do Teste de Micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) IN VIVO. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. Paraíba, v. 5, n. 2, p. 1-10, 2005. Disponível em: <<http://eduep.uepb.edu.br/rbct/sumarios/pdf/mutagenese.pdf>>. Acesso em: 18 Agosto 2011.

ANTUNES, Maria Lusânia Gregg; ARAÚJO, Maria Cristina Paiva. Mutagenicidade e Antimutagenicidade dos principais Corantes para Alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 81-88, mai./ago. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732000000200002>. Acesso em: 22 Junho 2011.

BAGATINI, Margarete D.; SILVA, Antonio C. F.; TEDESCO, Solange 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. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000300019&lang=pt>. Acesso em 03 Agosto 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe Técnico nº 25, de 29 de maio de 2007. **Esclarecimentos sobre a comercialização do suco de fruta noni (*Morinda citrifolia*)**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/alimentos>>. Acesso em: 13 Setembro 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medicamentos Fitoterápicos**, Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/busca>>. Acesso em: 02 Setembro 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instruções Operacionais: **Informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com fitoterápicos**. Brasília, 2008. Disponível em: <<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapicos.pdf>>. Acesso em: 17 Agosto 2011.

COMISSÃO EUROPEIA. Diretório Geral de saúde e proteção do consumidor. Comitê Científico para Alimentação. **Perícia do Comitê Científico para Alimentação em relação ao Suco Tahitian Noni**. 2002. Disponível em: <https://www.nonioffice.com/sfs/uc/4998339261/br_portuguese/Comiss_o_europeia.pdf>. Acesso em: 12 Setembro 2011.

COSTA, Renata Maria Augusto; MENK, Carlos Frederico Martins. **Biomonitoramento de Mutagênese Ambiental. Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**. v. 3, n. 12, p. 2-48, jan./fev. 2000. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio12/bio12.pdf#page=24>>. Acesso em: 22 Junho 2011.

CHANDRA, Saurabh. et al. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. **Science of the Total Environment**, Faizabad, v. 347, p. 46-52, 2005. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd43/panda.pdf>>. Acesso em: 22 Outubro 2011.

CHAN-BLANCO, Yanine. et al. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Composition and Analysis**, Costa Rica, v. 19, p. 645-654, 2006. Disponível em: <http://www.alnoni.com.tr/images/The_noni_fruit.pdf>. Acesso em: 12 Setembro 2011.

CHEARSKUL, Supornpim. et al. *Morinda citrifolia* has very weak Estrogenic activity *in vivo*. **Thai Journal of Physiological Sciences**, Bangkok, v. 17, n. 1, p. 22-29, 2004. Disponível em: <<http://www.j-pbs.org/pdf/171/chearskul.pdf>>. Acesso em: 08 Novembro 2011.

EL-SHAHABY, A. O. et al. Genotoxicity Screening of Industrial Wasterwater Using the *Allium Cepa* Chromosome Aberration Assay. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Mansoura, v. 42, n. 6, p. 23-28, 2003. Disponível em: <<http://198.170.104.138/pjbs/2003/23-28.pdf>>. Acesso em: 09 Novembro 2011.

FENECH, M. et al. The HUman MicroNucleus Project—An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. **Mutation Research**, Austrália, v. 1, n. 2, p. 271-283, 1999. Disponível em: <http://ehs.sph.berkeley.edu/Holland/humn/_documents/mutationResearch_428_1999.pdf>. Acesso em 21 Setembro 2011.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**, Austrália, v. 1, n. 2, p. 81-95, nov. 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11113469>>. Acesso em: 31 Agosto 2011.

FISKEJÖ, G. The *Allium* test as a Standard in Environmental Monitoring. **Hereditas**, New York, v. 102, p.99-112,1985.

FLORES, Mônica; YAMAGUCHI, Mirian U. Teste do Micronúcleo: Uma Triagem para Avaliação Genotóxica. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v. 1, n. 3, p. 337-340, set./dez. 2008. Disponível em: <<http://www.cesumar.br/pesquisa/periodicos/index.php/saudpesq/article/view/907/702>>. Acesso em: 21 Setembro 2011.

FRANCHI, Leonardo P. et al. Ausência de Efeito tóxico-Genético de *Morinda citrifolia* (NONI) em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, p. 46-53, 2008. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/view/5371/4419>>. Acesso em: 24 Outubro 2011.

GAVRONSKI, Léia. **Avaliação da Mutagenicidade de Amostras de Água do Rio dos Sinos através do Teste *Allium cepa***. 2008. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Aplicada) – Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 2008. Disponível em: <http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=116000>. Acesso em: 24 Outubro 2011.

HIRAZUMI, Anne; FURUSAWA, Eiichi. An Immunomodulatory Polysaccharide-Rich Substance from the Fruit Juice of *Morinda citrifolia* (Noni) with Antitumour Activity. **Phytotherapy Research**, University of Hawaii, Honolulu, v. 13, p. 380-387, 1999. Disponível em: <[http://www.erbeofficinali.org/dati/nacci/studi/II%20Nunu%20\(Morinda%20citrifolia\)%20attiva%20contro%20il%20tumore%20al%20cervello%20\(3\).pdf](http://www.erbeofficinali.org/dati/nacci/studi/II%20Nunu%20(Morinda%20citrifolia)%20attiva%20contro%20il%20tumore%20al%20cervello%20(3).pdf)>. Acesso em: 11 Setembro 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE BIODIVERSIDAD. Lista dos espécimes de *Morinda citrifolia*. **Jerarquia Taxonômica**, 1997. Disponível em: <<http://www.inbio.ac.cr/bims/k03/p13/c045/o0142/f01359/g008903/s028172.htm>>. Acesso em: 16 Setembro 2011.

JINHUA, Li. et al. Fermented Noni Exudate (fNE): A mediator between immune system and anti-tumor activity. **Oncology Reports**, Greenville v. 20, n. 6, p. 1505-1509, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19020734>>. Acesso em: 14 Setembro 2011.

KAMIYA, Kohei. et al. Chemical Constituents of *Morinda citrifolia* Roots Exhibit Hypoglycemic Effects in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Japan, v. 31, n. 5, p. 935-938, may. 2008. Disponível em: <http://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/31/5/935/_pdf>. Acesso em: 11 Setembro 2011.

KRÜGER, Rosangela Angelisa. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bionsaios com *Allium cepa***. 2009. 43 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) – Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009. Disponível em: <<https://aplicweb.feevale.br/site/files/documentos/pdf/29080.pdf>>. Acesso em: 09 Novembro 2011.

LAVAUT, Nirda E. G.; LAVAUT. José A. G. *Morinda citrifolia* Linn: potencialidades para su utilización en la salud humana. *Revista Cubana Farmácia*, Ciudad de la Habana, v. 37, n. 3, set./dez. 2003. Disponível em <<http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci&pid=S003475152003000300006&lng=es&nrm=iso>>. Acesso em: 15 Agosto 2011.

LEME, Daniela Moraes; MARIN-MORALES, Maria Aparecida. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, Rio Claro, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404>>. Acesso em: 23 Outubro 2011.

LOPEZ-CEPERO Andrada, J. M. et al. Hepatotoxicidade grave associada ao consumo de noni (*Morinda citrifolia*). **Rev. esp. enferm. dig.**, Madrid, v. 99, n. 3, mar. 2007. Disponível em: <http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113001082007000300017&lang=pt>. Acesso em: 11 Setembro 2011.

MACÊDO, Márcia F. S. et al. Determining the genotoxicity of an aqueous infusion of *Bauhinia monandra* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 4, oct./dec. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2008000400002>. Acesso em: 10 Setembro 2011.

MANDUKHAIL, S.R.; AZIZ, Nauman; GILANI, Anwarul-hassan. Studies on antidyslipidemic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit, leaves and root extracts. **Lipids in Health and Disease**, Paquistão, v. 9, n. 88, p. 1-6, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2939587/pdf/1476-511X-9-88.pdf>>. Acesso em: 12 Setembro 2011.

MANZANO, Barbara Cassu. **Avaliação dos Potencias Citotóxico, Genotóxico e Mutagênico das Águas do Ribeirão Tatu, Região de Limeira/SP, após o recebimento de efluentes urbanos**. 2010. 115 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas Biologia Celular e Molecular. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. São Paulo, 2010. Biblioteca da UNESP. 2010. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/brc/33004137046P4/2010/manzано_bc_me_rcla.pdf>. Acesso em: 22 Outubro 2011.

MATHIVANAN, N. et al. Review on the current scenario of Noni research: Taxonomy, distribution, chemistry, medicinal and therapeutic values of *Morinda citrifolia*. **International Journal of Noni Research**, India, v. 1, n. 1, p. 1-43, aug. 2005. Disponível em: <http://www.nonifamily.net/journal/in_vol_1.pdf#page=4>. Acesso em: 11 Setembro 2011.

MENEGUETTI, D. U. O. et al. Adaptation of the technical micronucleus in **Allium cepa**, to future analysis of mutagenicity og the rivers of the vale do Jamari-Rondônia, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MUTAGÊNESE CARCINOGENESE E TERATOGENESE AMBIENTAL, São Pedro Anais V-Sub-área: Genotoxicidade de contaminantes ambientais e relação gene-ambiente e saúde, 2011. p.6.

MIGID, Hala M. Abdel; AZAB, Yahia A.; IBRAHIM, Walel M. Use of plant genotoxicity biossay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Mansoura, v. 66, p. 57-64, 2007. Disponível em: <<http://www.mendeley.com/research/plant-genotoxicity-bioassay-evaluation-efficiency-algal-biofilters-bioremediation-toxic-industrial-effluent/#page-1>>. Acesso em: 10 Novembro 2011.

MILLER, Robert C. The Micronucleus Test as an *in Vivo* Cytogenetic Method. **Environmental Health Perspectives**, New Jersey, 1973. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1475553/pdf/envhper00503-0168.pdf>>. Acesso em 15 Setembro 2011.

MOREIRA, R. R. D. et al. Avaliação da Atividade mutagênica do extrato etanólico bruto de *Paepalanthus latipes* (Eriocaulaceae) e dos compostos flavonoídicos 7-metoxilados relacionados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Araraquara, v. 12, n. 1, p. 11-19, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v12n1/a02v12n1.pdf>>. Acesso em: 08 Agosto 2011.

MORTON, Julia F. The ocean-going noni, or Indian Mulberry (*Morinda citrifolia* Rubiaceae) and some of its "colorful" relatives. **Economic Botany**, New York, v. 46, n. 3, p. 241-256, 1992. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/qrn1520272071616/>>. Acesso em: 17 Agosto 2011.

Mc CLATCHEY, W. From Polynesian healers to health food stores: changing perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). **Integrative Cancer Therapies**, Hawaii, v. 1, n. 2, p. 110-120, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14664736>>. Acesso em: 17 Agosto 2011.

NELSON, Scot C. Noni Cultivation and Production in Hawai'i. **Proceedings of the 2002 Hawai'i Noni Conference**, University of Hawaii at Manoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources, 2003. p. 33-50. Disponível em: <http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/downloads/noni33_50.pdf>. Acesso em: 11 Setembro 2011.

OGA, Seizi; CAMARGO, Márcia M. A.; BATISTUZZO, José A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo, 3. ed. Editora Atheneu, 2008.

OKUZADA, Kanaco. et al. The Antinociceptive and Anti-inflammatory Action of the CHCl₃-Soluble Phase and Its Main Active Component, Damnacanthal, Isolated from the Root of *Morinda citrifolia*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n. 1, p. 103-107, 2011. Disponível em: <http://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/34/1/103/_pdf>. Acesso em: 11 Setembro 2011.

PALIOTO, G. F.; JABOR, S.; ROCHA, C. L. M. S. **Avaliação do potencial antimutagênico do suco de *Morinda citrifolia* L. (Noni) em *Aspergillus nidulans***. In: 55º CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA., 2009, Águas de Lindóia, p. 1-118. Disponível em: <<http://web2.sbg.org.br/congress/sbg2008/pdfs2009/MU05228600.pdf>>. Acesso em: 24 Outubro 2011.

PERON, A. P. et al. Avaliação do Potencial Citotóxico dos Chás de *Camellia sinensis* L. E *Cassia angustifolia* Vahl Em Sistema Vegetal. **Arquivo Ciências Saúde Unipar**, Umuarama, v. 12, n. 1, p. 51-54, jan./abr. 2008. Disponível em: <<http://revistas.unipar.br/saude/article/view/2228/1840>>. Acesso em: 03 Setembro 2011.

POTTERAT, Olivier; HAMBURGER, Matthias. *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit - Phytochemistry, Pharmacology, Safety. **Planta Medica**, Stuttgart Nova York, v. 73, n. 3, p. 191-199, fev. 2007. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.com/ejournals/pdf/plantamedica/doi/10.1055/s-2007-967115.pdf>>. Acesso em: 15 Abril 2011.

RODRIGUEZ, Francisco J. M.; PINEDO, Déborah M. Mito y realidad de *Morinda citrifolia* L. (noni). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, Ciudad de la Habana, v. 9, n. 3, sept./dic, 2004. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962004000300002&lang=pt>. Acesso em: 01 Setembro 2011.

SAMUEL, Olusegun B.; OSUALA, Fidelia L.; ODEIGAH, Peter G. C. Cytogenotoxicity evaluation of two industrial effluents using *Allium cepa* assay. **African Journal of Environmental Science and Technology**, Lagos, v. 4, n. 1, p. 021-027, jan. 2010. Disponível em: <<http://www.ajol.info/index.php/ajest/article/viewFile/56305/44747>>. Acesso em: 22 Outubro 2011.

SANTOS, F. V. et al. Assessment of DNA damage by extracts and fractions of *Strychnos pseudoquina*, a Brazilian medicinal plant with antiulcerogenic activity. **Food and Chemical Toxicology**, Araraquara, v. 44, n. 9, p. 1585-1589, sept. 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691506000834>>. Acesso em: 18 Agosto 2011.

SANTOS, F. V. et al. Mutagenicity of Mouriri pusa Gardner and Mouriri elliptica Martius. **Food and Chemical Toxicology**, Araraquara, v. 46, n. 8, p. 2721-2727, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18558459>>. Acesso em: 18 Agosto 2011.

SANTOS, F. V.; POZETTI, G. L.; VARANDA, E. A. Avaliação de mutagenicidade do extrato alcoólico de *Orbignya phalerata* Mart. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 165-168, 2006. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v8_n4_2006/artigo32_v8_n4_p165-168.pdf>. Acesso em: 15 Setembro 2011.

SILVA, Juliana; ERDTMANN, Bernardo; HENRIQUES, João Antonio Pêgas. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.

SOUZA, L. S. et al. **Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores de soja convencional e transgênica**. In: 55º CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA., 2009, Águas de Lindóia, p. 1-118. Disponível em: <<http://web2.sbg.org.br/congress/sbg2008/pdfs2009/MU.pdf>>. Acesso em: 24 Outubro 2011.

SOUZA-MOREIRA, Tatiana M.; SALGADO, Hérica R. N.; PIETRO, Rosimeire C. L. R. O Brasil no contexto de controle de Qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 3, jun./jul. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102695X2010000300023&lang=pt>. Acesso em: 02 Setembro 2011.

SPEIT, G.; SCHMID, O. Local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated epithelial cells. **Mutation Research**, Alemanha, v. 613, n. 1, p. 1-9, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16638643>>. Acesso em: 09 Novembro 2011.

STADLBAUER, Vanessa. et al. Hepatotoxicity of NONI juice: Report of two cases. **World Journal of Gastroenterology**, Áustria, v. 11, n. 30, p. 4758-4760, 2005. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/1007-9327/11/4758.pdf>>. Acesso em: 12 Setembro 2011.

STURBELLE, Régis T. et al. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Pelotas, v. 20, n. 3, p. 409-415, jun/jul. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n3/a19v20n3.pdf>>. Acesso em 09 Novembro 2011.

TOLBERT, P.E.; SHY, C.M.; ALLEN, J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. **Mutation Research**, v. 271, n. 1, p. 69-77, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1371831>>. Acesso em 09 Novembro 2011.

TUROLLA, Monica Silva dos Reis; NASCIMENTO, Elizabeth de Souza. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 2, p. 289-306, abri./jun. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v42n2/a15v42n2.pdf>>. Acesso em: 02 Agosto 2011.

THOMAS, Philip. et al. Buccal micronucleus cytome assay. **Nature Protocol**, Adelaide, v. 4, n. 6, p. 825-837, 2009. Disponível em: <<http://ehs.sph.berkeley.edu/holland/publication/thomas%202009.pdf>>. Acesso em: 04 Novembro 2011.

VARANDA, Eliana A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 1-7, ago. 2006. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/355/340>. Acesso em: 16 Maio 2011.

VEIGA, Renato F. A. et al. Noni: Frutífera medicinal em introdução e aclimação no Brasil. **O Agrônomo**, Campinas, v. 53, n. 1, 2005. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/OAgronomico/57_1/Noni.pdf>. Acesso em: 10 Setembro 2011.

VEIGA, Valdir F. J.; PINTO, Ângelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas Mediciniais: cura segura?. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, mai./jun 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422005000300026&script=sci_arttext>. Acesso em: 15 Agosto 2011.

WANG, Mian Ying. et al. *Morinda citrifolia* (noni): A literature review and recent advances in noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 23, n. 12, p.1127-1141, dez. 2002. Disponível em: <[http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/morinda_citrifolia_\(noni\)_a_literature_review_and_recent_advances_in_noni_research.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/morinda_citrifolia_(noni)_a_literature_review_and_recent_advances_in_noni_research.pdf)>. Acesso em: 22 Junho 2011.

WANG, Mian Ying. et al. Liver Protective Effects of *Morinda citrifolia* (Noni). **Plant. Foods. Hum. Nutr.**, Illinois, v. 63, n. 2, p. 59-63, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2413119/pdf/11130_2008_Article_70.pdf>. Acesso em: 22 Outubro 2011.

WANG, M. Y.; SU, C. Cancer Preventive Effect of *Morinda citrifolia* (Noni). **Annals New York Academy of Sciences**, Illinois, v. 952, p. 161-168, dec. 2001. Disponível em: <<http://www.nonijuicecentral.com/antioxidant.pdf>>. Acesso em: 11 Setembro 2011.

WESTENDORF, Johannes. et al. Toxicological and analytical investigations of noni (*Morinda citrifolia*) fruit juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Germany, v. 55, n. 2, p. 529-537, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17227089>>. Acesso em: 14 Setembro 2011.

WEST, B. J. et al. A Safety Review of Noni Fruit Juice. **Journal of food Science**, Hamburg, v, 71, n. 8, 2006. Disponível em: < <http://www.bkkmedia.com/pdf/A%20safety%20review%20of%20noni%20fruit%20juice%20West%20et%20al%20Oct%202006.pdf>>. Acesso em: 23 Outubro 2011.

WEST, Brett J.; JENSEN, Jarakae C.; WESTENDORF, Johannes. Noni juice is not hepatotoxic. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v. 12, n. 22, p. 3616-3619, 2006. Disponível em: < <http://www.wjgnet.com/1007-9327/12/3616.pdf>>. Acesso em: 23 Outubro 2011.

WEST, Brett J.; SU, Chen X.; JENSEN, Jarakae C. Prenatal toxicity test of Morinda citrifolia (noni) fruit. **The Journal of Toxicological Sciences**, American Fork, v. 33, n, 5, p. 647-659, 2008. Disponível em: < http://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/33/5/647/_pdf>. Acesso em: 22 Outubro 2011.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION GENEVA. **General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine**. n. 1, 2000. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO_EDM_TRM_2000.1.pdf>. Acesso em: 30 Agosto 2011.