

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE DAS FOLHAS DE *Peperomia pellucida* (L.) H.B.K

EVALUATION OF CYTOTOXICITY AND MUTAGENICITY OF THE SHEETS OF *Peperomia pellucida* (L.) H.B.K

WALDIENE MELO SILVA^{1*}, GEISIANY ANDRADE LUZ SILVA², RAFAELA DA SILVA OLIVEIRA², JOSÉ ARTUR NESTOR NETO², RAFAEL BINOW SCHMIDT³, ELY EDUARDO SARANZ CAMARGO⁴, JEFERSON DE OLIVEIRA SALVI⁴, FRANCISCO CARLOS DA SILVA⁵

1. Bióloga - Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná; 2. Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná; 3. Farmacêutico – Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná; 4. Doutor em Ciências Farmacêuticas Farmacotécnicas e Fitoterapia, docente do Curso de Farmácia na Faculdade Pan Americana de Ji-Paraná, Rondônia - Brasil; 5. Mestre e doutorando em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, docente do Curso de Farmácia na Faculdade Pan Americana de Ji-Paraná, Rondônia – Brasil; 6. Doutor em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, docente dos Cursos de Ciências Biológicas e Farmácia do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná, Ji-Paraná, Rondônia - Brasil.

* Avenida Ji-Paraná, 1569, Urupá, Ji-Paraná, Rondônia, Brasil. CEP: 76.900-305. walbrt@gmail.com

Recebido em 11/02/2019. Aceito para publicação em 01/03/2019

RESUMO

Peperomia pellucida, comumente conhecida como erva-de-jabutí, coraçãozinho, erva-de-vidro, é utilizada na medicina popular como antibiótico, cicatrização de feridas, dores abdominais, cólicas, acnes, furúnculos, dores de cabeça, distúrbios renais e dores nas articulações. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos tóxicos e mutagênicos do extrato aquoso (EA) de *P. pellucida*. O teste *in vivo* de *Allium cepa* foi empregado para determinar a citotoxicidade e a mutagenicidade, no qual foram utilizadas as concentrações de 100 e 50% para o EA. Para o teste *in vitro* com *Artemia salina* foram utilizadas as concentrações de 100, 50, 25, 12 e 6,25%, submetidas para análise da atividade citotóxica e determinação da DL₅₀. O teste de citotoxicidade resultou em uma DL₅₀ de 8799 µg/mL para o EA, sendo o mesmo considerado atóxico ou inativo. O teste de *A. cepa* demonstrou uma redução no crescimento radicular indicando citotoxicidade pelo EA. Todos os tratamentos resultaram na presença de micronúcleos, porém houve uma diferença estatisticamente insignificante em comparação ao grupo controle positivo. Concluiu-se que os extratos revelaram efeitos citotóxicos e não mutagênicos, e não houve dados significativos quanto ao índice mitótico quando comparados aos controles.

PALAVRAS-CHAVE: Citotoxicidade, *Peperomia pellucida*, Erva-de-jabutí, *Artemia salina*, Mutagênico.

ABSTRACT

Pellucida peperomia, commonly known as jabuti herb, little heart, glass herb, is used in popular medicine as an antibiotic, wound healing, abdominal pain, cramps, acnes, boils, headaches, kidney disorders and pains in the articulations. Thus, the objective of this study was to evaluate the possible toxic and mutagenic effects of the aqueous extract (EA) of *P. pellucida*. The *in vivo* test of *Allium cepa* was used to determine cytotoxicity and mutagenicity, in which concentrations of 100 and 50% for AE were used. For the *in vitro* test with *Artemia salina*, the concentrations of 100, 50, 25, 12 and 6.25% were used, for analysis of the

cytotoxic activity and determination of LD₅₀. The cytotoxicity test resulted in an LD₅₀ of 8799 µg / mL for EA, which was considered to be non toxic or inactive. The *A. cepa* strain strain demonstrated a reduction in root growth indicating cytotoxicity by EA. All treatments resulted in the presence of micronuclei, but there was a statistically insignificant difference in comparison to the positive control group. It was concluded that the extracts revealed cytotoxic and non-mutagenic effects, and there were no significant data regarding the mitotic index when compared to the controls.

KEYWORDS: Cytotoxicity, *Peperomia pellucida*. Erva-de-jabutí, *Artemia salina*, Mutagenic.

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais, para fins terapêuticos, é uma prática milenar¹. Onde as primeiras civilizações perceberam de forma empírica, que algumas substâncias quando administradas no organismo para o tratamento paliativo de doenças, além de amenizarem as dores, apresentavam um poder de cura. Informações estas que foram passadas verbalmente para as gerações seguintes².

As primeiras comprovações históricas acerca da utilização de plantas medicinais, são datadas há 5.000 anos, onde os registros apontam o uso de tomilho e louro, pelos povos Sumérios³. Sendo este um saber antigo compartilhado pela humanidade para a prevenção e tratamento de doenças^{4,5}, tendo como fator importante a característica da flora de cada região, possuindo, desta forma, capacidade para a geração de produtos farmacológicos provindos de plantas medicinais⁶. Acredita-se que o emprego das plantas como medicamento seja tão antigo quanto à raça humana⁷. Visto que, as plantas medicinais algumas vezes constituem o único meio terapêutico para muitas comunidades.

Na Amazônia é comum o uso de plantas medicinais com a finalidade de cura para as mais variadas

patologias. Curandeiros, raizeiros e seringueiros trazem experiências e culturas das populações onde habitam e, mantêm o uso de plantas medicinais como uma possibilidade fitoterápica, assim como suas gerações passadas⁸. Devido à grande diversidade de plantas medicinais nativas de regiões tropicais como a Amazônia, vários destes recursos são utilizados de forma rotineira pela população.

A família Piperaceae também compõe o grupo de plantas medicinais que ocorrem na Amazônia, com inúmeras espécies utilizadas pela população⁹, sendo estudadas desde o século XVIII, onde Linnaeus em 1753 descreveu 17 espécies de *Piper L.*¹⁰.

A família Piperaceae, é pertencente a ordem dos Piperales, possui aproximadamente 3.000 espécies com distribuição na América Central e América do Sul^{11,12}. No Brasil são encontrados 2 gêneros nativos: *Piper* e *Peperomia*, com incidência na floresta Amazônica e Atlântica^{11,13}. Onde, do ponto de vista comercial, o gênero *Piper* é o de maior relevância, podendo citar a espécie *Piper umbellatum* (pimenta do reino), como principal integrante desta família, consumida mundialmente como condimento, nas indústrias de carne e conservas de pimentas¹⁴.

O Gênero *Peperomia sp.*, por sua vez, foi descrito em 1974 por Ruiz e Pavon, caracterizado por sua semelhança com as pimentas, destacando-se como o segundo maior gênero da família Piperaceae^{11,15}, são ervas de hábitos terrestre ou epifítico, com preferência em locais úmidos e sombreados, ramos carnosos e suculentos, podendo ser também de caule transparente e densos, sua inflorescência é do tipo espiga, com folhas opostas¹¹.

Dentre as espécies a *P. pellucida*, tradicionalmente é a espécie mais estudada, devido a sua facilidade de adaptação a diferentes ambientes¹⁶. Conhecida popularmente como erva-de-jabutí, coraçãozinho, erva-de-vidro¹⁷. Possui característica herbácea, suculenta, folhas alternadas, inflorescências terminais em forma de espiga, com preferência em solos soltos, ambientes úmidos e sombreados¹⁶. Seu uso na medicina popular varia de região para região, utilizando desde a raiz até suas partes aéreas, na forma de infuso, emplasto, etc. Sendo relatados o seu uso de forma empírica para o tratamento de diversas enfermidades, cicatrização de feridas antibióticos, dores abdominais, cólicas, acnes, furúnculos, anti-hipertensiva, dores de cabeça, distúrbios renais e dores nas articulações¹⁸.

Contudo, apesar de utilizá-la tradicionalmente como forma de tratamento para diversas patologias, são poucos os estudos que se referem acerca do seu possível efeito tóxico e mutagênico. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar as ações citotóxica e mutagênica das folhas de *P. pellucida*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

O material de estudo foi coletado no município de Ji-Paraná, Rondônia, Brasil, no primeiro distrito sob as seguintes coordenadas geográficas 10,87°97.5" S e

61,96°05.2" W, no mês de março de 2018. O material vegetal fresco (folhas e flores) foi lavado com água corrente para retirar terra e insetos, evitando contaminantes, e posteriormente, pulverizados com álcool 70%¹⁹. Amostras férteis da espécie *P. pellucida* encontra-se tombada no herbário da Embrapa Recursos Genéticos e biotecnológicos, na cidade de Porto velho - Rondônia sob o número do registro 73705.

Processo de Preparação do Material

O material vegetal do presente estudo foi secado a 40°C em estufa de ar circulante por 24 horas e, posteriormente, trituradas em moinho elétrico com finalidade de reduzir o material vegetal a pequenos fragmentos aumentando a superfície de contato com o líquido extrator, o que torna a operação mais eficiente²⁰. Foram submetidas a infusão que é a forma de uso popular, sendo utilizadas 2 colheres de sopa para uma xícara de chá padronizada (240 mL), colocado em água destilada sob 85°C na concentração de 50 mg/mL, para o preparo do extrato aquoso (EA). Essa proporção foi determinada já que não há relatos literários que citem a proporção utilizada na medicina popular tradicional.

Teste de Citotoxicidade Aguda

A toxicidade pode ser definida como a capacidade que algumas substâncias químicas possuem, em menor grau ou em concentrações maiores, com a capacidade de influenciar ou trazer danos ao organismo, após interagir com estas²¹.

Foi utilizado o teste de citotoxicidade aguda com o método de *Artemia salina*. Em um balão de fundo chato, foi preparada uma solução de sal marinho 35 g/L com pH 8,5 e adicionados cistos de *A. salina* para a eclosão das larvas. A temperatura do local da experimentação foi mantida a 25°C (± 2), mantendo os cistos sob aeração e luz de 100 w constantes por 48 horas, tempo necessário para a completa eclosão dos cistos²². Em seguida, foram transferidos 10 náuplios de *A. salina* para cada tubo de ensaio contendo diferentes concentrações de solução obtida por infusão (chá) dos materiais vegetais com água salina.

Os distintos tratamentos resultaram da técnica de diluição seriada, obtendo-se as seguintes concentrações dos EA: 1 (50 mg/mL), 1:2 (25 mg/mL), 1:5 (12,5 mg/mL), 1:10 (6,25 mg/mL) e 1:20 (3,125 mg/mL), equivalendo respectivamente as concentrações de 100, 50, 25, 12,5 e 6,25%, identificadas como EA100, EA50, EA25, EA12,5 e EA6,25, respectivamente. Como controle negativo foi utilizado água salina na concentração de 35 g/L²² e para o controle positivo foi utilizado dicromato de potássio 0,1%²³. Os testes foram realizados em triplicata de amostras.

Após a submersão dos náuplios nas distintas concentrações (24 horas), foi realizada a contagem dos exemplares vivos e mortos, para obter o cálculo do percentual de mortalidade.

Tabela 1. Diluições seriadas do chá de *Peperomia pellucida*.

Série/ Concentração	Extrato aquoso 50 mg mL	Qsp 5mL H2O
A/ 50 mg mL	5,0 mL	-
B/ 25 mg mL	2,5 mL	2,5 mL
C/12,5 mg mL	1,0 mL	4,0 mL
D/ 6,25 mg mL	0,5 mL	4,5 mL
E/3,125mg mL	0,25 mL	4,75 mL

Legenda: (A, B, C, D, E) Tubos; (mg) Miligramas; (mL) Mililitros; (Qsp) Quantidade suficiente para.

Fonte: Elaborado pelos autores.

A dose letal mediana (DL₅₀) foi obtida pelo método da regressão linear com base na correlação do logaritmo das concentrações e os percentuais da mortalidade registrados. O experimento baseou-se na metodologia proposta por Meyer *et al.* (1982)²², seguindo adaptações. Os resultados obtidos foram interpretados de acordo com os critérios adotados pelos autores que classificam as substâncias amostrais como tóxicas ou ativas quando possuem DL₅₀ inferior a 1000 µg/mL, e atóxica ou inativa quando a DL₅₀ é superior a 1000 µg/mL.

Efeitos Citotóxico e Mutagênico

Inúmeros agentes que vivem no ambiente onde os organismos vivos frequentemente estão expostos. Podem gerar modificações químicas quanto a nível molecular e celular, estas lesões podem ser causadas por agentes químicos, físicos ou biológicos, pois afetam os processos vitais como transcrição e duplicações gênicas. Estas alterações, por sua vez, podem causar mutações e conseqüentemente morte celular e processos neoplásicos. Por todas estas características, normalmente são conhecidos como mutagênicos²⁴.

Para este ensaio, foram preparados dois tratamentos com amostras secas e moídas nas concentrações de 100 e 50%. Como controle negativo foi utilizado água destilada e como controle positivo foi utilizado Sulfato de Cobre a 0,0006% (0,0006 g/L).

Para cada tratamento foram utilizados 7 potes de plástico estéreis contendo 50 mL das suas respectivas concentrações, em cada um foram inseridos para germinar 1 bulbo de *Allium cepa* com o anel germinativo imerso. Após transcorrer 48 horas de imersão, os meristemas com tamanho intermediário foram retirados e imersos por 12 horas em uma solução (Metanol/Ácido acético 3:1). Os meristemas foram lavados com água destilada e hidrolisados com Ácido Clorídrico (HCL) em banho-maria à 60°C por 6 minutos, sendo novamente lavados com água destilada²⁵.

As lâminas foram feitas em duplicata de amostras, as quais foram coradas com o Kit Panótico Rápido LB²⁶. As mesmas foram visualizadas no microscópio óptico na objetiva de 100X, com o intuito de verificar a formação de micronúcleos e determinar o índice de interfases, prófases, metáfases, anáfases e telófases em 1000 células por lâminas para se verificar o índice mitótico para cada tratamento, que corresponde ao número total de células em mitose dividido pelo total de células, sendo o resultado multiplicado por 100^{26,27}.

Após cinco dias de experimento foi realizada a leitura do crescimento radicular, com auxílio de um paquímetro daquela que possuía o maior tamanho em cada bulbo²⁸.

Análise Estatística

Os dados estatísticos foram apresentados em valores médio (±DP) e avaliados por análise de variância unidirecional (ANOVA) através do programa Prisma (6.0), Programa OriginPro 2017, cujos resultados alcançados foram comparados às médias obtidas no teste de Tukey ao nível de significância 1 e 5%. (p<0.05)

3. RESULTADOS

Pode-se observar a média e a porcentagem de mortalidade dos náuplios de *A. salina* em função do logaritmo de concentração do EA de *P. pellucida* (Tabela 2). No controle negativo (solução do sal marinho) a taxa de mortalidade foi de 0%. Já, no controle positivo (dicromato de potássio 0,1%) a taxa de mortalidade foi de 100%.

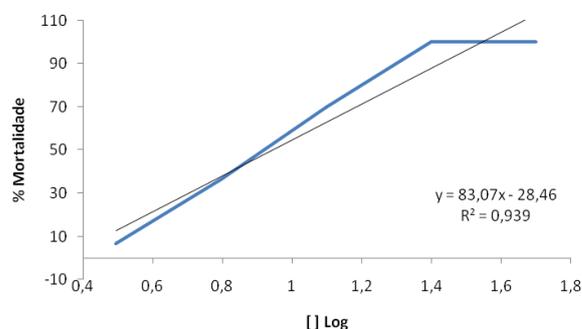
Tabela 2. Frequência do número de óbitos da espécie *Peperomia pellucida* frente a *Artemia salina*.

Série/ Concentração	Média de mortos	Mortalidade	[] Log
A/50 mg mL	10	100%	1,69897
B/25 mg mL	10	100%	1,39794
C/12,5 mg mL	7	70%	1,09691
D/6,25 mg mL	3,66	36,6%	0,79588
E/3,125 mg mL	0,66	6,66%	0,49485

Legenda: ([]) Concentração; (Log) Logaritmo; (A, B, C, D e E) Tubos.

Fonte: Elaborado pelos autores.

No extrato aquoso de *P. pellucida* as concentrações de 100 e 50% resultaram no percentual de mortalidade de 100% dos náuplios de *A. salina*. As taxas de mortalidades diminuíram a partir da terceira diluição, de forma linear, ou seja, diretamente proporcionais, fato que possibilitou a construção do gráfico de regressão linear, e após gerar a equação da reta (X e Y) obteve-se uma DL₅₀ de 8799/µg mL ou ppm (R₂ 0,939) (Figura 1).

**Figura 1.** Regressão linear da porcentagem de mortes de *Artemia salina* em função do logaritmo de concentração do extrato aquoso de *Peperomia pellucida*. * [] log. **Fonte:** Elaborado pelos autores.

O gráfico linear de mortalidade foi obtido pela porcentagem de mortes (X) dos náuplios de *A. salina* em função do logaritmo de concentração (Y) em que

estavam expostos.

Através do teste de citotoxicidade em *A. cepa*, verificou-se que os tratamentos EA100 e EA50 possuem efeito citotóxico frente ao controle negativo, visto que houve uma redução do crescimento radicular de *A. cepa* (Figura 2). Esses resultados indicam uma possível citotoxicidade. Quando comparados aos resultados do teste de letalidade frente a *A. salina*, com as mesmas concentrações, esta hipótese é comprovada.

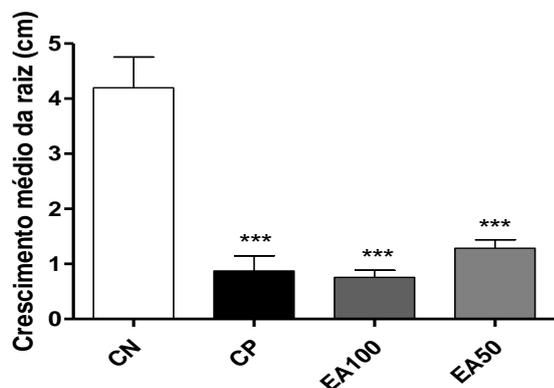


Figura 2. Média do crescimento radicular de *Allium cepa* sob distintas concentrações do extrato aquoso das folhas de *Peperomia pellucida*. **Legenda:** CP = Controle Positivo; CN = Controle Negativo; EA = extrato aquosa (100% e 50%); *** Diferença estatisticamente significativa em comparação ao grupo controle negativo $p < 0,001$. (Análise de variância ANOVA, pelo teste Tukey). **Fonte:** Elaborado pelos autores.

No resultado do teste de micronúcleo, apenas o controle positivo demonstrou uma diferença estatisticamente significativa em comparação ao grupo controle negativo (Figura 3). Os tratamentos EA100 e EA50 não demonstraram efeito mutagênico.

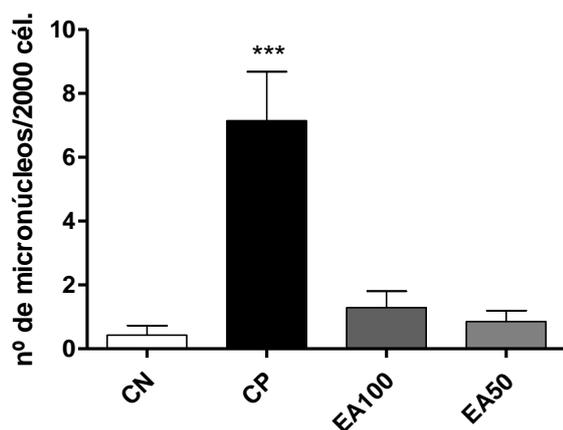


Figura 3. Média de micronúcleos por concentração do extrato aquoso das folhas de *Peperomia pelúcida*. **Legenda:** CP = Controle Positivo; CN = Controle Negativo; EA = extração aquosa (100% e 50%); ***Diferença estatisticamente significativa em comparação ao grupo controle negativo $p < 0,001$. (Análise de variância ANOVA, pelo teste Tukey). **Fonte:** Elaborado pelos autores.

Os resultados do teste de *A. cepa* apontam que os tratamentos do EA100 e EA50 não reduziram o índice mitótico em relação ao controle negativo. Não houve diferença estatisticamente significante entre nenhuma das concentrações testadas em relação aos controles.

Nos tratamentos do EA100 e EA50 foram observadas reduções das fases de anáfase e telófase, porém não significativa.

Tabela 3. Número de células analisadas em Mitose e Índice Mitótico obtidos em *Allium cepa* por tratamento.

Tratamento	Interfase	Fase Mitótica			IM
		Prófase	Metáfase	Anáfase	
CN	13847	102	18	12	1,07
CP	13696	189	21	42	2,17
EA 100	13848	119	27	4	1,11
EA 50	13691	241	41	8	2,16

Teste Anova-Tukey a 5% de significância ($p < 0,05$). Programa OriginPro 2017. IM = Número de células em mitose (soma de todas) / total de células, vezes 100. **Fonte:** Elaborado pelos autores.

4. DISCUSSÃO

De acordo com Meyer et al. (1982)²² a DL_{50} de uma substância é considerada atóxica ou inativa quando o seu valor é superior a 1000 $\mu\text{g/mL}$ e tóxica ou ativa quando inferior à 1000 $\mu\text{g/mL}$. Portanto, neste estudo de acordo com a DL_{50} foi possível classificar o EA com folhas secas de *P. pellucida* como atóxico ou inativo.

Muller et al. (2011)²⁹ ao realizar teste de citotoxicidade com *A. salina* com extratos das espécies *Piper aduncum*, *Piper cernuum* e *Piper amplum*, também pertencentes a família Piperaceae, concluiu que a toxicidade das mesmas foram de 48,2, 52,1 e 56,4 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Desse modo, pode-se dizer que a substância que caracteriza o seu potencial tóxico está presente em maior concentração no extrato de *P. aduncum*, por ter apresentado maior grau de toxicidade. Uma das substâncias isoladas para esta espécie foi a tóxi-Taboganto de metila, pouco registrada na literatura. Embora a *P. aduncum*, *P. cernuum* e *P. amplum* sejam da mesma família da *P. pellucida*, elas apresentaram resultados da DL_{50} diferentes, demonstrando a importância de investigações do efeito biológico de cada planta, para se obter resultados conclusivos.

Através do teste do micronúcleo com a espécie *A. cepa* verificou-se efeito citotóxico ao inibir o crescimento radicular. Um estudo realizado por Souza et al. (2016)³⁰ com folhas *Piper aduncum* da família Piperaceae, conhecida popularmente como Pimenta-de-macaco, avaliou sob as concentrações de 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10% o potencial germinativo ou inibitório com sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). O critério de avaliação foi o aparecimento da radícula e o cálculo do índice de velocidade de germinação conforme Maguire (1962)³¹. Através dos resultados verificou-se que os extratos de pimenta-de-macaco em concentrações acima de 1%, reduziram de forma significativa a porcentagem de plântulas³⁰. O autor associa esses resultados a possível presença de metabólitos secundários que geralmente são distribuídos ao longo dos tecidos vegetais. Onde, os efeitos alelopáticos de extratos vegetais sobre outros organismos pode tanto inibir quanto estimular o mesmo³².

Alguns metabólitos secundários, a exemplo os taninos e terpenos, atuam de forma específica ou em conjunto com outras moléculas afetando nos processos

fisiológicos durante a germinação e o desenvolvimento das espécies-alvo³³. Por sua vez, soluções com a presença de flavonoides acabam por modificar o potencial osmótico, inibindo a absorção e provocando baixo crescimento radicular³⁴. Segundo Kloss (2016)³⁵ metabólicos como cumarinas, taninos, saponinas e flavonoides, já foram identificados na família Piperaceae.

O extrato aquoso de *P. pellucida*, nas condições em que foi conduzida esta pesquisa, não apresentou efeito mutagênico através do teste do micronúcleo. Em uma pesquisa realizada por Muller et al. (2011)²⁹ com linhagens XV 185-14c de *Saccharomyces cerevisiae*, com o objetivo de avaliar a mutagenicidade dos extratos de *Piper amplum*, *Piper cernuum*, *Piper aduncum*, observou que não apresentaram potencial mutagênico na concentração máxima de 500 µg/mL, demonstrando que não houve diferença estatística entre os extratos quando comparadas com os resultados do controle negativo. Deste modo os resultados de mutagênese frente ao *S. cerevisiae*, podem ser um indicativo de que estes extratos não possuem ação carcinogênica.

Muller et al. (2011)²⁹ ao realizar uma pesquisa *in vivo* com ratos utilizando os extratos de *Piper amplum*, *Piper cernuum*, *Piper aduncum*, verificou-se através do teste de micronúcleo com tecido da medula que os mesmos não foram capazes de induzir a mutagenicidade até a dose máxima testada. Sendo assim, os dois estudos citados acima colaboram com o presente estudo.

Metabólitos como flavonoides isolados da espécie *P. pellucida* têm a capacidade de inibir radicais livres, característica esta que o faz atuar como antioxidante Heim (2002)³⁶. Possuindo capacidade de exercer propriedades de prevenção biológica como antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória, analgésica e antiúlcera, Aires (2014)³⁷. Tais metabólitos presentes na espécie *P. pellucida*, podem ter tido uma ação protetora e não influenciado no aparecimento de micronúcleos.

Conforme os resultados, não houve alteração significativa no índice mitótico que também foi utilizado para analisar o efeito citotóxico de *P. pellucida*. Conceição (2010)³⁸, explica que células meristemáticas de *A. cepa* quando estão sob influência de alguma solução pode estimular de forma mais rápida a divisão celular, fato este que explica o maior índice mitótico nas primeiras horas de exposição, entretanto, após este período pode ocorrer uma citotoxicidade pelo tempo sob as concentrações, tendo como causa o declínio da proliferação celular desencadeando o menor crescimento das radículas.

No entanto, neste experimento, não foi constatado nenhuma alteração significativa no índice mitótico comparando ao controle negativo, após o período de 48 horas de exposição de *A. cepa* ao extrato de *P. pellucida*.

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, observou-se

que o EA de folhas secas de *P. pellucida* nas concentrações analisadas manifestaram-se como atóxicos ou inativos frente ao teste de *A. salina*. Não houve citotoxicidade aguda, mas houve indícios de toxicidade ao reduzir o crescimento radicular frente ao teste de micronúcleo em *Allium cepa* e não apresentou mutagenicidade. Em relação ao índice mitótico não houve alteração significativa entre nenhum dos tratamentos com relação aos controles.

Sugere-se a realização de estudos em outros marcadores biológicos, testes antibacterianos, estudos fitoquímicos e outros solventes para extração de metabólitos, com o intuito de garantir a utilização segura e a eficácia terapêutica, uma vez que, as folhas de *P. pellucida* são tradicionalmente utilizadas pela população.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e pela ULBRA (Universidade Luterana do Brasil).

REFERÊNCIAS

- [1] Alvim NAT, Ferreira MA, Cabral IE, Almeida Filho AJ. O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade com extensão da prática de cuidar realizado pela enfermeira. Revista latino americano de enfermagem. 2006; 14:3.
- [2] Badke MR. Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais e o cuidado de enfermagem. 2008. Dissertação (Mestrado) - universidade de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- [3] Biazzi E. O maravilhoso poder das plantas. Tatui, SP: Casa publicadora Brasileira, 2004.
- [4] Petrovska B. Historical review of medicinal plants' usage. Pharmacognosy Reviews.2012; 6 (iss. 11): 1-5.
- [5] Anhesi N, Da Rosa LG, Pereira AC, De Melo A. Uso de plantas medicinais na gestação. Retec. 2016; 9(2):101-109.
- [6] Myers N, et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature. 2000; 403(6772):853-858.
- [7] Martins DTO & Gonçalves MIA. Plantas medicinais usadas pela população do município de Santo Antônio de Leverger, Mato Grosso, Brasil. Revista Brasileira de Farmácia. 1998; 79: 56-61.
- [8] Luz FJF. Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. Horticultura Brasileira. 2001; 19(1):88-96.
- [9] Scott IM. et al. A review of Piper spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. Phytochemistry Reviews. 2008; 7(1):65-75.
- [10] Medeiros E, Von SS. de. Flora do parque Estadual de Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil – Família Piperaceae. 2006 Dissertação (Mestrado) – instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ.
- [11] Ferreira DM. Flora do Parque Estadual do Atatiaia – Brasil: Peperomia Ruiz&Pav. (Piperaceae). 2007. Dissertação (Mestrado) - instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ.
- [12] Dignani DF. Peperomia blanda (Piperaceae): Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante. 2009.

- Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho" Faculdade de ciências farmacêuticas, SP.
- [13] Greig N. Introduction. (2004) in: NAVARRO, L. B. Variabilidade de fenilpropanoides, ligninas, tetraidrofurônicas e aristolactomas em *Piper solmsianum* C. DC. 2009. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, SP.
- [14] Singh YN. Kava – an overview. *Journal of Ethnopharmacology*. 1992; 37:13-45.
- [15] Wanke S, Samain MS, Vanderschaeva L, Mathieu G, Goetghebeur P, Neinhuis C. Phylogeny of the genus *Peperomia* (Piperaceae) inferred from the trnK/matK region (cpDNA). *Plant Biology*. 2006; 8:93-102.
- [16] Majumder P. Evolution of pharmacognostic, phytochemical profile along with quantitative phytochemical standards on the root of the medicinal herb *Peperomia pellucida* (L.) HBK. *Journal of pharmaceutical and biomedical Sciences*. 2011; 10:1-4.
- [17] Arrigoni-Blank MD, Dmitrieva EG, Franzotti EM., Antonioli AR, Andrade MR, Marchioro M. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Peperomia pellucida* (L.) HBK (Piperaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 91:215-218.
- [18] Egwuche RU, Odetola AA, Erukainure OL. Preliminary investigation into the chemical properties of *Peperomia pellucida* L. *Research Journal of Phytochemistry*. 2011; 5(1):48-53.
- [19] Simões CMOS. Farmacognosia: da planta ao medicamento / [organizado por]... [et al.]. 6. ed. Porto Alegre: Ed. Da Universidade/UFRGS. 2010; 1102 p., il.
- [20] Oliveira F, Akisue G, Akisue MK.; Farmacognosia. São Paulo: Editora Atheneu. 1998; 15.
- [21] Souza JP. Toxicidade Aguda e Risco Ambiental do Diflubenzuro para *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata* e *Lemna minor* na Ausência e Presença de Sedimento. 2008. 61 f. Dissertação (Mestre em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". São Paulo. 2008.
- [22] Meyer BM, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols, D.E.; McLaughlin, J. L.; Brinshrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medical Plant Research*. USA. 1982; 45(1):31-34.
- [23] Hocayen P De AS, Campos LA, Pochapski MT, Malfatti CRM. Avaliação da Toxicidade do extrato bruto metanólico de *Baccharis dracunculifolia* por meio do bioensaio com *Artemia salina*. *INSULA Revista de Botânica Florianópolis*. 2012; 41:23-31.
- [24] Costa RMA, Menk CFM. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. *Biotechnology: Ciência e Desenvolvimento*. 2000; 3(12):24-26.
- [25] Meneguetti DUO. Adaptação da técnica de micronúcleo em *Allium Cepa*, para futuras análises de mutagenicidade dos Rios da Região do Vale do Jamari, Rondônia, Amazônia Ocidental. *Revista Pesquisa & Criação*. 2011; 10(2):181-7.
- [26] Oliveira V. *et al.* Efeito do herbicida trifluralin sobre a germinação de sementes e índice mitótico em raízes de milho (*Zeamays*). *Revista Unimar*. 1996; 18(1):537-44.
- [27] Pires NM, *et al.* Efeito do extrato aquoso de leucina sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 2001; 13(1):55-65.
- [28] Guerra M, Souza M. Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto. 2002.
- [29] Muller ED, *et al.* Análise do potencial antimicrobiano, citotóxico e mutagênico de extratos e substâncias obtidas de diferentes espécies de *Piper*. 2011.
- [30] Souza ÂMS, *et al.* Bioatividade de extratos vegetais de nim, jambu e pimenta de macaco sobre sementes de alface, 2016.
- [31] Maguire JD. Speed of germination- aid in selection and evaluation for seedling and vigor. *Crop Science*. 1962; 2(1):176-177.
- [32] Souza Filho APS, Duarte MLR. Atividade alelopática do filtrado de cultura produzido por *Fusarium solani*. *Planta Daninha*. 2007; 25(1):227-230.
- [33] Einhellig FA. The physiology of allelochemical action: Clues and views. In: REIGOSA, M.; PEDROL, N. *Allelopathy from Molecules to Ecosystems*. Vigo. 2002; 1-23.
- [34] Ferreira AG, Aquila MEA. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 2000; 12:175-204.
- [35] Kloss LC, *et al.* Identificação de classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper umbellatum* L. (Piperaceae). *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*. 2016; 3(2).
- [36] Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2002; 13(10):572-584.
- [37] Aires IC, Lima RA. Potencial fungicida do extrato etanólico dos talos de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Candida albicans* in vitro. *Revista Eletrônica de Biologia (REB)*. ISSN 1983-7682. 2014; 7(3):270-280.
- [38] Conceição TS. Efeito antiproliferativo, mutagênico e antineoplásico de produtos comerciais da erva mate (*Ilex paraguariensis*). (Dissertação) Mestrado em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste – Universidade Federal de Mato Grosso. 2010.