

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Avaliação da ação clastogênica do óleo da semente de *Cnidocolus phyllacanthus*  
(Mart.) Pax. Et K. Hoffm em células de medula óssea de camundongos (*Mus musculus*).

Sheina Campos Rodrigues

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

## MONOGRAFIA

Avaliação da ação clastogênica do óleo da semente de *Cnidocolus phyllacanthus*  
(Mart.) Pax. Et K. Hoffm em células de medula óssea de camundongos (*Mus musculus*).

Sheina Campos Rodrigues  
Graduanda

Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues  
Orientador

Patos  
Setembro de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

SHEINA CAMPOS RODRIGUES  
**Graduanda**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADA EM: 09/09/2008

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues  
Professor Adjunto/ UAMV/ UFCG  
Orientador

Prof. Dr Edinaldo Queiroga de Lima  
Professor Adjunto/ UAMV/ UFCG

Profª. Drª Maria das Graças Veloso Marinho  
Professor Adjunto/ UAEF/ UFCG

## **DEDICO**

A Deus, o único que é digno de receber a honra, a glória e o poder. Ao Rei eterno, imortal, invisível e mais real.

## AGRADECIMENTOS

Meus Pais...

**Maria Campos de Santana Rodrigues e Gilmar Rodrigues Santos**, independente dos meus erros ou acertos sempre estiveram ao meu lado oferecendo apoio e acreditando na minha capacidade. Sou eternamente grata pelo espelho que vocês foram e são em minha vida.

Meu filho...

**Pedro Henrique Campos Rodrigues Noronha**, que mesmo com pouca idade, com um simples “Eu te amo” todas as vezes que eu retornava pra casa conseguia aliviar minhas ansiedades e preocupações na certeza que eu poderia seguir em frente.

Meus irmãos...

**Sharline e Shaian** pelo cuidado e amor ao meu filho quando muitas vezes não pude estar presente na vida dele, além do incentivo e confiança.

Meu cunhado...

**Clécio Nascimento** por fazer parte da família e o sincero amor ao meu filho.

Minha avó materna...

**Ilza Campos de Santana** por nunca ter me negado ajuda, principalmente nos momentos que mais precisei.

Minha avó paterna...

**Cecília Pereira Santos**, por todo carinho dedicado a minha pessoa

Meu avô materno...

**João Pedro Campos de Santana** (in memorian), pelo exemplo de homem, pai, esposo e avô, jamais esquecerei o grande amor que ele sempre concedeu a nossa família

Aos meus tios **João Alves Campos** e **Lindalva de Souza Campos** por ter sido juntamente com meus pais meu espelho.

Minha prima...

**Jane Cristina** pelo incentivo nos momentos de tristeza e por gostar tanto de mim.

Àquele que se fez presente em todos os momentos no decorrer desse projeto,

Meu orientador, **Onaldo Guedes Rodrigues**, pelo exemplo como profissional para minha vida acadêmica, por ter dividido comigo seus conhecimentos, além de ter sido guia quando eu estava perdida.

Ao professor **Ednaldo Queiroga**, pelo apoio e disponibilidade de transferir seus conhecimentos na área da farmacologia.

A professora **Graça Marinho**, pelo carinho e atenção.

Aos meus amigos **Aloísio, Andréia Vieira, Andressa, Angélica, Cecília Noronha, Bruno Rafael, Eduart Brito, Elizângela, Fábio Henrique, Felipe Noronha, Fernando Grosso, Francianne Oliveira, Gabriella Marinho, Gustavo Costa, Iomara Maria, Silvia karine, Socorro Noronha** que com certeza levarei na lembrança e no coração por toda a minha vida.

A **Carla**, aluna da biologia pela ajuda na realização desse projeto.

A minha tão amada e adorada **Turma 2004.1**, pelo exemplo de união e harmonia; sinceramente eu amo todos vocês.

Á todos os **Professores do CSTR**, Campus de Patos, sem exceção por todos esses anos de aprendizado e amizade, além da ética profissional que sempre demonstraram no decorrer do curso.

Aos funcionários de todos os setores em especial a **Damião Pirex** como é mais conhecido, jamais poderia me esquecer dessa figura ilustre e que todos admiram pela simplicidade.

À minha grande amiga que amo tanto, **Cintia Palmeira Coelho** por todos esses anos de sinceridade e companheirismo.

Ao **Estado da Paraíba**, principalmente a cidade de **Patos** (Morada do sol) por ter me acolhido com tanto amor.

MUITO OBRIGADA!!!

*“... A preguiça é inimiga da vitória, o fraco não tem espaço e o covarde morre sem tentar... Jamais se esqueça: ...Você é do tamanho do seu sonho.”*

*Racionais MC' S.*

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
<b>1</b> INTRODUÇÃO.....	1
<b>2</b> REVISÃO DE LITERATURA.....	2
<b>2.1</b> Ciclofosfamida usada como controle positivo.....	2
<b>2.2</b> Classificação científica de faveleira.....	2
<b>2.3</b> Descrição botânica de faveleira.....	3
<b>2.4</b> Estudo tecnológico e utilização da faveleira.....	6
<b>2.5</b> Monitoramento de lesões no DNA.....	9
<b>2.6</b> Testes citogenéticos para a determinação da genotoxicidade.....	11
<b>3</b> MATERIAL E MÉTODOS.....	11
<b>3.1</b> Local de execução da pesquisa.....	11
<b>3.2</b> Criação e manutenção dos animais.....	12
<b>3.3</b> Obtenção do óleo das sementes da faveleira.....	12
<b>3.4</b> Ensaio <i>in vivo</i> com células de mamíferos: padronização da técnica.....	13
<b>3.5</b> Padronização da dose de CPA (ciclofosfamida) em relação aos efeitos genotóxicos em células de mamíferos.....	13
<b>3.6</b> Administração do óleo da semente de <i>Cnidocolus phyllacanthus</i> (Mart.) Pax. et K. Hoffm.....	14

3.7	Teste de metáfase em células de medula óssea de camundongos (Hsu & Patton, 1969; Zambrano et al., 1982; Melo, 1996).....	14
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1	Determinação da atividade clastogênica da ciclofosfamida.....	17
4.2	Determinação da atividade clastogênica do óleo da semente de faveleira.....	19
5	CONCLUSÕES.....	21
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	22
7	APÊNDICE.....	27

## LISTA DE TABELAS

		Página
<b>Tabela</b>	<b>1.</b> Caracterização física e química do fruto e semente da faveleira.....	5
<b>Tabela</b>	<b>2.</b> Composição (%) do óleo de semente de faveleira com e sem espinhos.....	7
<b>Tabela</b>	<b>3.</b> Avaliação da atividade clastogênica do CPA em cromossomos metafásicos da medula óssea de camundongos machos.....	18

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Faveleira.....	3
<b>Figura 2.</b> Criação e manutenção dos camundongos.....	12
<b>Figura 3.</b> Sementes de <i>Cnidoscollus phyllacanthus</i> .....	13
<b>Figura 4.</b> [ Inoculação intraperitoneal em camundongos com óleo da semente de <i>Cnidoscollus phyllacanthus</i> .....	15
<b>Figura 5.</b> Extirpação, dissecação e cortes na altura da epífeses proximais em camundongos.....	15
<b>Figura 6.</b> Medula óssea extirpada e dissecada.....	16
<b>Figura 7.</b> Homogeneização das células.....	16
<b>Figura 8.</b> Flambagem das lâminas.....	17
<b>Figura 9.</b> Metáfase pulverizada.....	19
<b>Figura 10.</b> Metáfase com pequenas quebras.....	19
<b>Figura 11.</b> Metáfase sem quebras.....	21

**RODRIGUES, SHEINA CAMPOS. Avaliação da ação clastogênica do óleo da semente de *Cnidocolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. Et. K. Hoffm em células de medula óssea de camundongos.** Patos, UFCG. 2008. 41 p. (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária).

## **RESUMO**

As mutações no DNA têm acarretado muitas doenças, dentre as quais se inclui o câncer. Essas alterações no DNA são induzidas por vários fatores, entre elas por substâncias contidas em vegetais. O *Cnidocolus phyllacanthus* (Mart.) pax. et. K. Hoffm (faveleira) é uma planta nativa do semi-árido altamente resistente á seca podendo ser empregada tanto na alimentação humana e animal, serraria, medicina, energia, recuperação de áreas degradadas, dentre outras. Devido a enorme preocupação, pretendeu-se avaliar o efeito clastogênico do óleo da semente da faveleira (*Cnidocolus phyllacanthus*) através do teste de metáfase em medula óssea de camundongo (*Mus musculus*) *in vivo*. Determinou-se um grupo experimental ao qual foi administrado no primeiro camundongo a ciclofosfamida (controle positivo), três camundongos com o óleo da faveleira e o último não inoculado para controle negativo. Depois de 24 horas, extraiu-se a medula óssea que, após a última centrifugação, o sobrenadante foi descartado. As lâminas com preparações citológicas foram coradas após 24 horas para observações e contagem de células ao microscópio. Os dados foram analisados através do teste de metáfase e cálculo do índice mitótico. Apenas a ciclofosfamida teve efeito mutagênico.

Palavras-Chaves: Teste de metáfase, faveleira, clastogênica, *Cnidocolus phyllacanthus*.

**RODRIGUES, SHEINA CAMPOS.** Assessment of action clastogênica of oil da semente de *Cnidocolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. Et. K. Hoffm cells in bone marrow of mice. Patos UFCG. 2008. 41 p. (Work of conclusion the veterinary medicine course).

## **ABSTRACT**

Mutations in the DNA have caused many diseases, among which include the cancer. These changes in DNA are induced by several factors, among them by substances contained in vegetables. The *Cnidocolus phyllacanthus* (Mart.) people. et. K. Hoffm (faveleira) is a native plant of the semi-arid highly resistant to drought can be used both in human and animal consumption, sawmill, medicine, energy, rehabilitation of degraded areas, among others. Because of enormous concern, it aims to assess the effect of seed oil clastogênico of faveleira (*Cnidocolus phyllacanthus*) through the test of metaphase in bone marrow of mice (*Mus musculus*) in vivo. It was determined an experimental group which was administered to mice in the first cyclophosphamide (positive control), three mice with the oil and the last of faveleira not inoculated to control negative. After 24 hours, drew up the bone marrow that after the last centrifuge, the supernatant was discarded. The slides were stained with preparations cytological após 24 hours for comments and counting of cells under the microscope. The data were analyzed through the test of metaphase and calculating the mitotic index. Only cyclophosphamide mutagênico took effect.

Key words: Test metaphase, faveleira, clastogênica, *Cnidocolus phyllacanthus*.

## 1. INTRODUÇÃO

O avanço industrial tem exposto de forma constante os seres vivos a um número crescente de agentes, tais como, compostos químicos, físicos, poluição, dentre outros responsáveis por danos potenciais a saúde. No entanto com a necessidade de melhorar as condições de vida tem-se aumentado o uso de produtos naturais desde à alimentação até a prevenção e cura de moléstias. Com esse fato a pesquisa científica tem sido estimulada para comprovar o potencial medicinal desses produtos, seus compostos e como agem.

Segundo Burns e Bottino, 1991, a mutação é uma modificação súbita e herdável na estrutura do material genético tornando-se uma fonte fundamental de variabilidade genética nas populações de seres vivos. Entretanto a curto prazo e do ponto de vista de um único organismo, a alteração genética age na maioria das vezes de forma maléfica e está mais disposta a causar desordens no desenvolvimento e fisiologia extremamente complexos e, finalmente, sintonizados de um organismo (ALBERTS et al, 2002).

A genética toxicológica é uma das áreas da ciência que tem se preocupado com a vulnerabilidade do material genético e trabalham no intuito de estudar as lesões e alterações induzidas por substâncias químicas através do uso de diversos sistemas testes. Esses ensaios verificam os danos ocasionados a molécula de DNA, pelo produto testado O conhecimento dos componentes químicos, físicos e biológicos responsáveis por alterações gênicas é extremamente importante para uma melhor preservação da saúde tanto humana quanto animal.

O teste de metáfase da medula óssea oferece grandes vantagens ao estudo de agentes clastogênicos (que quebram cromossomos) visto que suas células levam em torno de 22 à 24 horas para completar o ciclo celular( Rabello-Gay, 1991 ).

Alguns vegetais são compostos por substâncias que acarretam o processo de mutação, tornando-se dessa forma necessário estudá-las através de testes que detectem as alterações, como teste de metáfase utilizando medula óssea de camundongos.

O *Cnidoscopus phyllacantus* (faveleira) é um vegetal que se sobressai na caatinga nordestina, sendo bastante utilizada na alimentação animal. É uma planta que se destaca no semi-árido nordestino devido sua grande resistência aos períodos de estiagem, característica bastante seletiva. Na atualidade esse vegetal se presta a variadas funções que vão desde a alimentação humana e animal como para produção de medicamentos, madeira para construção e ainda recuperação de áreas degradadas.

Devido a sua grande importância pretendeu-se com esse trabalho avaliar o potencial clastogênico do óleo da semente de *Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm (faveleira) em medula óssea de camundongos através do teste de metáfase.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Ciclofosfamida usada como controle positivo**

A ciclofosfamida é uma droga bastante usada no tratamento do câncer de mama, com efeito citotóxico comprovado, exercendo efeito clastogênico sobre as células do tecido somático (KRISHNA et al., 1993). Essa substância é largamente utilizada como controle positivo em diversos estudos, devido ao seu comprovado efeito tanto clastogênico como mutagênico sobre as células da medula óssea e sobre linfócitos de sangue periférico, em sistemas *in vivo* e *in vitro*.

### **2.2 Classificação científica da faveleira**

**Reino:** Plantae

**Classe:** Magnoliopsida

**Ordem:** Euphorbiales

**Família:** Euphorbiaceae

**Gênero:** *Cnidoscolus*

**Espécie:** *phyllacanthus*

**Nome binomial:** *Cnidoscolus*



**Figura1:** Faveleira

### 2.3 Descrição botânica de faveleira

Espécies do gênero *Cnidocolus* são frequentemente encontradas em ambientes semi-árido e subtropical seco como aqueles do norte do México e nordeste do Brasil (LUZ et al., 1999). *Cnidocolus chayamansa* e *Cnidocolus aconitifolius* são plantas hortícolas, nativas do México, conhecidas popularmente por "chayas". Na era pré-colombiana tem relatos de que *C. chayamansa* foi uma valiosa planta hortícola das tribos Maias no sudeste do México. Esta espécie ocorre também na Guatemala e é consumida por povos indígenas daquele país (BOOTH et al., 1992).

*Cnidocolus multilobus*, *C. urens* e *C. tehucanensis* também são plantas nativas do México e tem importância medicinal, a *C. aconitifolius*, *C. urens* e *C. tepiquensis* já foram utilizadas para extração de látex. Outra espécie de destaque, nativa do noroeste deste País é a *C. angustidens* promissora para obtenção de óleo comestível de alta qualidade. referencia

ZANONI & GARCIA (1995) descrevem a *C. acrandus* como uma nova espécie encontrada nas ilhas da República Dominicana e Haiti. No Brasil, é encontrada a *Cnidocolus pubescens*, conhecida por "urtiga-de-mamão", sugerida principalmente para programas de reflorestamento heterogêneos destinados a recuperação da vegetação de áreas degradadas e a *Cnidocolus phyllacanthus* (faveleira) (LORENZI, 1998).

Os primeiros relatos sobre a faveleira, foram realizados por Luetzelburg em 1923, que a descreveu como gênero arbustivo de galhagem entrecruzada, que floresce

antes do aparecimento das folhas; da casca incisa flui um líquido leitoso, coagulável em contato com o ar atmosférico (DUQUE,1951,1980a,ANDRADE E LIMA,1989).

A faveleira é conhecida também por favela e faveleiro (DUQUE, 1980). Espécie pertencente à família Euphorbiaceae, trata-se de uma planta oleaginosa, xerófila, decídua, heliófila e pioneira. Atinge 4 a 8 metros de altura, dotada de copa alongada ou arredondada e rala. Tronco curto e ramificado desde a base, mais ou menos cilíndrico, com casca fina, lenticelada e quase lisa, de 20 a 35 cm de diâmetro. É encontrada em todos os estados do nordeste brasileiro até o norte de Minas Gerais, principalmente nas regiões do Sertão e Caatinga (LORENZI, 1998). Duque(1951,1980a), constatou que a floração ocorre nos meses de janeiro e fevereiro e os frutos estão maduros entre maio e junho. Segundo Bezerra (1972), a maturação dos frutos ocorre no fim da estação chuvosa e Oliveira (1976) diz que o florescimento se dá nessa estação, frutificando até o seu final; eles são deiscentes e cada um contém em média três sementes.

O conhecimento das características físicas e químicas de frutos e sementes, assim como a variabilidade das mesmas dentro das populações de plantas, são importantes para o melhoramento dessas características tanto no intuito do aumento como na uniformidade. Por exemplo, a distinção das sementes por peso e tamanho pode ser uma maneira de aprimorar os lotes em relação a uniformidade de emergência e vigor de plântulas (PEDRON et al.,2004). A caracterização biométrica e química de frutos e sementes fornece subsídios para estudo sobre diferenciação de espécies (CRUZ et al., 2001), classificação de grupos ecológicos (CASTELLANI,2003), caracterização de germoplasma (ALVES et al., 2003), manejo da fauna silvestre (KUNIYOSHI,1983), entre outras diversas áreas de estudo (tabela 01).

Lorenzi (1998) também salienta a importância da planta em programas de reflorestamentos heterogêneos destinados a revegetação de áreas degradadas, por se tratar de uma planta rústica e de rápido crescimento. Sua madeira é moderadamente pesada (densidade 0,55 g/cm<sup>3</sup>), macia ao corte, de baixa resistência mecânica, muito sujeita ao apodrecimento, e pode ser empregada para caixotaria, forros, lenha e carvão. Em áreas degradadas merece destaque o trabalho desenvolvido por Drumond et al. (1997), numa área coberta por rejeitos finos da Mineração Caraíba, situada no Sertão Baiano, em Jaguarari-BA. Uma avaliação realizada quando as plantas, no campo, atingiram em média 40 cm de altura, demonstrou bons resultados para a espécie plantada em covas com adição de 15 litros de substrato (argila + areia + esterco), com sobrevivência de 100%.

**Tabela 1** - Caracterização física e química do fruto e semente da faveleira

<b>Caracteres</b>	<b>MOURA FÉ et al. (1977)</b>	<b>ARRIEL et al. (2000a)</b>	<b>ARRIEL et al. (2000b)</b>	<b>SILVA (2002)</b>
<b>1.1 FRUTO</b>				
Forma	Elipsoidal	-	-	-
Comprimento (cm)	2,65	-	-	2,70
Diâmetro (cm)	1,50	-	-	2,20
Sementes/fruto	1,32	2,50	-	-
Pericarpo (%)	71,70	-	-	-
Semente (%)	28,30	-	-	-
<b>Semente</b>				
Peso de 100 sementes (g)	56,8	29,7	-	26,2
Tegumento (%)	39,3	-	-	-
Amêndoa (%)	60,72	-	-	-
Comprimento (cm)	-	-	1,44	1,40
Largura (cm)	-	-	0,79	0,80
Espessura (cm)	-	-	0,52	0,50
Umidade (%)	8,20	-	-	-
Proteína (% N x 6,25)	20,50	-	-	-
Extrato etéreo (%)	29,30	-	-	-
Amido (%)	6,20	-	-	-
Cinzas (%)	3,60	-	-	-
<b>Amêndoa</b>				
Umidade (%)	4,60	-	-	-
Proteína (% N x 6,25)	32,30	-	-	-
Extrato etéreo (%)	45,20	-	-	-
Cinzas (%)	4,40	-	-	-
Carboidratos totais (%)	13,50	-	-	-
<b>Tegumento</b>				
Umidade (%)	7,40	-	-	-
Proteína (% N x 6,25)	8,90	-	-	-
Extrato etéreo (%)	10,50	-	-	-

---

Cinzas (%)	2,80	-	-	-
------------	------	---	---	---

---

Fonte: Arriel, E.F. (2004).

O sistema reprodutivo da faveleira foi estudado por Arriel et al. (1999) e Silva (2002). Ambas as pesquisas constataram que a espécie é alógama. Embora possa ocorrer auto fecundação, a ocorrência de monoicia e, principalmente, protoginia são responsáveis pela predominância da fecundação cruzada.

A faveleira possui raiz tuberosa e xilopódios, com reservas alimentares produzidas no período chuvoso, através da fotossíntese e absorção de minerais pelas raízes. Essas reservas acumulam-se nestes órgãos subterrâneos para a manutenção do vegetal na seca e permite o aparecimento de novas folhas, flores e frutos. As raízes tuberosas são revestidas externamente por camadas suberosas fortes, impregnadas de suberina gordurosa, impermeável. Internamente, contém um líquido viscoso composto de amido, água, ácidos orgânicos, mucilagem, cristais de oxalato de cálcio, carbonatos, fosfatos e açúcares diversos. Desta forma, a espécie é resistente à seca, armazena água e reservas para as épocas de escassez (DUQUE, 1980).

Uma característica marcante da espécie é a presença abundante de espinhos cáusticos, que dificulta o manejo e exploração da planta. Sua picada causa sensação desagradável às pessoas que, inadvertidamente, tocam as suas extremidades pontiagudas (BRAGA, 1976). Vianna e Carneiro em 1991 relataram a existência de uma “mutante, que é a faveleira sem espinhos e a sua ocorrência foi registrada pela primeira vez no município de Independência, no Ceará.

## **2.4 Estudo tecnológico e utilização da faveleira**

Por se tratar de uma espécie resistente à seca e de fácil manejo, estudaram seu potencial forrageiro. Silva et al, (1998) avaliaram a aceitabilidade de espécies lenhosas do semi-árido Paraibano, na alimentação de ovinos, e dentre elas estava a faveleira sem espinhos. De modo particular como forrageira, o uso de plantas sem espinhos é recomendável por diversas razões, como por exemplo, ao permitir uma melhor circulação de animais e de seus tratadores e diminuir os riscos de ferimentos (DRUMOND et al., 1999).

Os primeiros estudos de importância tecnológica sobre o aproveitamento industrial da faveleira foram executados por Santa Rosa (1943), no material estudado

foram feitas análises de lipídeo nas sementes e ainda, uma avaliação das tortas provenientes da extração do óleo no intuito de investigar a possibilidade de ser usada na alimentação animal e avaliar o óleo de faveleira podendo este ser consumido como óleo de salada. Para Santa Rosa (1943); Silva (1998); e Duque (1951), o óleo é semisecativo, fino, podendo ser usado na alimentação, corroborando com Gomes (1977) onde este afirma que quase todas as partes da faveleira são aproveitadas para a alimentação animal. Ovelhas e cabras comem-lhes as folhas maduras à proporção que, em fins do período chuvoso, vão caindo. Nas grandes estiadas, o gado rói a sua casca. Suas sementes alimentam bovinos, suínos, caprinos, ovinos, asininos e eqüinos. As aves domésticas muito as apreciam. A torta extraída de suas sementes é também muito rica em proteína e sais minerais. Trata-se, portanto, de excelente forragem concentrada, um substituto da torta de algodão (VIANNA & CARNEIRO, 1991).

A semente da faveleira é capaz de produzir um óleo com o mesmo índice de gordura dos óleos de milho, girassol e oliva (Matos, 2002), tabela 2. Devido a grande diversidade de óleos vegetais e sua alta produtividade o Brasil mostrou uma grande abertura para uma nova alternativa energética no que se refere a substituição do diesel a partir de biocombustível, ou seja, o diesel obtido através de óleos vegetais (LUCENA, 2004).

**Tabela 2** - Composição (%) do óleo de sementes de faveleira com e sem espinhos.

Ácido Graxo	Moura e Fé (1997)		Pires (comunicação pessoal)	
	Espinhos		Espinhos	
	Com	Com	Sem	
Mirístico (+)	Traços	0 - 11,9	0	
Palmítico (+)	18,50	6,1 - 36,2	0	
Esteárico (+)	10,00	0 - 31,1	0	
Oléico (++)	16,50	0 - 48,0	0	
Linoléico (++)	54,80	42 - 92,5	100	
Araquídico	Traços	0	0	

+ Saturado ++ Insaturado

A faveleira (*Cinidoscolus phyllacanthus*) pode ocasionar intoxicação devido a presença de compostos contendo ácido cianídrico, mas a planta em condições naturais somente promove esse fato quando os animais ingerem folhas de galhos ou árvores que

foram cortados e ficaram ao alcance dos animais, Apesar de ser uma planta palatável não há relatos de intoxicação pelo consumo da planta diretamente das árvores. Isto provavelmente por que nessas condições os animais não têm chances de ingerir grandes quantidades em um curto espaço de tempo; condição inevitável para que ocorram intoxicações por plantas que contem glicosídeos cianogênicos. Frequentemente, no campo, as folhas da planta são ingeridas espontaneamente em pouca quantidade quando ainda estão nas árvores ou após caírem das árvores, quando estão já secas e misturadas com outras folhas que formam o restolho, condições nas quais não ocorre intoxicação OLIVEIRA et al., 2008.

Trabalhos mais minuciosos sobre seu aproveitamento forrageiro foram iniciados na década de 1980, com avaliações do valor nutritivo de seu feno (SOUZA et al., 1980), produtividade da faveleira nativa (VIANNA et al., 1980), potencial forrageiro da faveleira sem espinho (VIANNA & CARNEIRO, 1991), e avaliação bromatológica e valor nutritivo (PASSOS, 1993). De um modo geral, considerando o bom teor de proteína bruta (17,32%) e uma excelente palatabilidade de suas sementes e ramas, e a sua alta disseminação e completa adaptação às condições adversas, a faveleira pode ser classificada como uma das forrageiras de maior potencial do semi-árido do Nordeste do Brasil.

Bezerra (1972) relatou a utilização da faveleira como planta medicinal, pelos habitantes do semi-árido. Segundo ele, a entrecasca da faveleira possui propriedades desinfetantes e cicatrizantes. A cataplasma da entrecasca da faveleira é o medicamento utilizado para cicatrização de ferimentos. AGRA (1996) menciona que a casca e a entrecasca do caule podem ser usadas, maceradas, em infusões ou decocções, contra inflamações ovarianas e gerais, sendo o látex usado contra dermatoses e na cauterização de verrugas. A raspa da casca é cicatrizante e tida como desinfetante (GALVÃO,1960), sendo muito utilizada na cura de verrugas e bicheiras. Segundo o uso popular, o chá feito da entrecasca, em doses mínimas, é indicado na cura de herniados e do apêndice em fases iniciais. DAUN et al.(1987) citam que o látex da planta tem sido utilizado como cicatrizante e cogulante do sangue.

## 2.5 O monitoramento de lesões no DNA

A mutação do conteúdo informacional e estrutura dos genomas nos seres vivos vão depender da presença de mecanismos precisos de replicação que garantam a reprodução exata do ADN nas células. Entretanto, sem alterações no conteúdo do ADN não teríamos evolução. Mutações representam a única fonte de variabilidade onde, através da ação da seleção natural, novas informações são acrescentadas ao conteúdo genético de uma população e, eventualmente, levando ao surgimento de novas variantes e espécies. Mutação, portanto, pode ser definida como qualquer mudança hereditária, na seqüência ou no número de nucleotídeos do ADN de uma célula. Em geral estas mudanças levam à expressão de proteínas estruturais ou enzimas com funções alteradas, sendo detrimenais para o indivíduo (BICUDO, 1987).

As mutações podem ser classificadas de diferentes maneiras dependendo do aspecto a ser focado. Nos organismos diplóides como os eucariontes, ou os merodiplóides nos procariontes, as mutações podem ser classificadas como dominantes ou recessivas em função da expressão ou não do fenótipo alterado, respectivamente. Mutações podem Ter natureza estrutural (incidem sobre um gene estrutural) ou reguladora, onde a sua expressão é detectada pela inabilidade em controlar outro gene. Mutações podem também ser classificadas como letais, quando os portadores não sobrevivem, ou ainda somática ou germinativa, estas últimas sendo transmitidas para gerações futuras. Quanto ao tipo de alteração no ADN as mutações podem ser classificadas em três grupos gerais: (i) gênicas ou pontuais, (ii) cromossômicas, e (iii) genômicas (GARDNER & SNUSTAD, 1986; BURNS & BOTINHO, 1991).

As mutações pontuais são aquelas que envolvem alterações na seqüência de nucleotídeos em um ou mais de um códon e podem ocorrer pela substituição de bases, deleção ou adição de uma ou mais bases. As mutações tipo troca de base que levam à modificação de um códon pela substituição de um aminoácido distinto daquele presente na proteína original são chamadas de mutações de troca de sentido, enquanto que geram um dos três códons de terminação, interrompendo precocemente a tradução, são denominadas mutações sem sentido. As mutações de troca de base podem ainda ser divididas em transições (troca de uma purina por outra purina ou troca de uma pirimidina por outra pirimidina) ou transversões (troca de uma purina por pirimidina ou vice-versa). As mutações por adição ou deleção de bases acarretam em mudanças do referencial de leitura na tradução, alterando a composição de aminoácidos de toda a

proteína a partir do ponto onde ocorreu a mutação, sendo chamadas de mutação de troca de referencial ou “frameshift” (BICUDO, 1987; HENRIQUE & QUEROL, 1987).

Mutações pontuais, como a troca de bases e mudanças de referencial, causam alterações relativamente pequenas no ADN e são detectáveis apenas pelos efeitos na expressão do gene alterado, levando as mudanças no fenótipo correspondente. Quando a mudança altera a atividade bioquímica da proteína, pode ocorrer uma mutação fenotípica, como no caso da hemoglobina na anemia falciforme e, da insulina no diabetes (VILLA & BRENTANI, 1987; HENRIQUES & QUEROL, 1987; BURNS & BOTINHO, 1991).

Mutações cromossômicas são conhecidas pelas alterações grosseiras na estrutura dos cromossomos sendo usualmente detectadas pelo exame microscópico de células em metáfase e envolvem quebras, e eventualmente reunião de material cromossômico durante o ciclo celular e incluem as inversões e translocações. As alterações encontradas são de dois tipos: cromossômicas e cromatídicas, dependendo da fase do ciclo celular no qual ocorre a mutação. Se a mutação ocorre nas fases G<sub>0</sub>, G<sub>1</sub> e no começo da fase S, a aberração será do tipo cromossômica (EVANS, 1984). Há diferentes esquemas para classificar os diferentes tipos de aberrações (SAVAGE, 1975; Word Heath Organization, 1985). O importante é que os diferentes tipos de aberrações (gap, isocromatídica, fragmento acêntrico simples, fragmento acêntrico duplo, quebra cromossômica, quebra cromatídica, anel e rearranjo cromossômico, células pulverizadas) sejam analisados e apresentados separadamente calculando-se a frequência de aberrações por células e para cada tipo de aberração (PRESTON, 1987; ADLER, 1984; BURNS & BOTINHO, 1991).

Mutações de origem exógenas estão relacionadas com danos no ADN causados pelos chamados agentes mutagênicos, definidos como elementos físicos (por exemplo, irradiação eletromagnética com luz ultravioleta, raios X, gama e alfa, choque térmico e campos magnéticos), químicos (agentes alquilantes, análogos de base, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, e outros) ou biológicos (certos vírus) capazes de causar danos ao ADN levando ao surgimento de mutações (SINGER & GRUBER, 1983. DRAKE, 1989; BRUSICK, 1987, 1994). Os agentes mutagênicos, em geral, causam um aumento na taxa de mutação de todos os genes de uma célula (BURNS & BOTTINO, 1991). Os agentes mutagênicos ambientais são de particular interesse, pois, a eles estamos constantemente expostos, como os poluentes que estão no ar, água e alimentos,

aumentando consideravelmente os riscos de indução de mutações e câncer no homem e nos animais (VIJG, 1993; GUTTERIDGE, 1992; HARMAN, 1992; KING *et al.*, 1994).

## **2.6 Testes citogenéticos para a determinação da genotoxicidade**

Os testes citogenéticos em roedores são os mais utilizados por se aproximarem mais de um resultado ideal no que se refere à avaliação da mutagenicidade de agentes genotóxicos e sua extrapolação para outras espécies animais inclusive para o homem. A proximidade filogenética, a natureza das células, a presença de processos fisiológicos (metabolismo) atuando na absorção, distribuição, ativação e excreção da droga fazem destes testes os paradigmas dos ensaios toxicológicos e genotóxicos (MATTER & TSUCJIMOTO, 1980; CARANO & NATARAJAN, 1988).

O exame microscópico dos cromossomos para a detecção de aberrações estruturais, alterações numéricas e troca de cromátides irmãs são os procedimentos melhor estabelecidos para a avaliação dos efeitos genotóxicos de drogas sobre as células de mamíferos (PRESTON *et al.*, 1987., CARANO & NATARAJAN, 1988).

Nos ensaios citogenéticos *in vivo*, os camundongos são inoculados com a droga a ser testada e, depois de completado o ciclo celular, as células da medula óssea, baço, rins, fígado, gônadas, ou órgãos fetais são removidos e analisados quanto à sua incidência de lesões cromossômica em microscopia ótica. Análises citogenéticas são realizadas através do monitoramento de aberrações cromossômicas de células em metáfase, oriundas de quebra nos cromossomos ou cromátides, rearranjos ou perda de fragmentos ou cromossomos inteiros, ou pela frequência de micronúcleos (PRESTON *et al.*, 1987).

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Local de execução da pesquisa**

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de ciências químicas e biológicas - LCQB no centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR)- Campus de Patos, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). As lâminas foram analisadas no Herbário da Caatinga da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos e a obtenção

do óleo das sementes foi realizada no laboratório de química da universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

### 3.2 Criação e manutenção dos animais

Os ensaios foram realizados com camundongos albinos Balb/c (*Mus musculus*) *in brad*, machos, com 30 dias de vida, oriundos do biotério do Laboratório de Imunopatologia Keiso Asami – LIKA. Antes da realização dos experimentos os animais foram acompanhados diariamente, por um período de 10 dias no sistema *ad libitum*



**Figura 2:** Criação e manutenção dos camundongos(*Mus musculus*)

### 3.3 Obtenção do óleo das sementes da faveleira

Sementes de plantas de faveleira com e sem espinhos foram coletadas nas localidades de Souza, Patos, Santa Luzia, São Mamede e São João do Sabugi no estado da Paraíba e Caicó, Santana do Seridó, Parelhas e Acari no Rio grande do Norte foi submetido à extração do óleo.

O óleo foi extraído das sementes por processo mecânico e caseiro, no processo mecânico ocorreu a prensagem, e no processo caseiro, as sementes foram moídas, colocadas em pasta com água fervente e coletada a porção do óleo na forma de espuma que flutua sobre a água, transferindo para uma panela, submetida a aquecimento até a evaporação total da água, resultando como produto o óleo.

### 3.4 Ensaios *in vivo* com células de mamíferos: padronização da técnica

Os ensaios *in vivo* com células de medula óssea foram realizados em camundongos *Balb/C (Mus musculus)*, machos, oriundos do Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keiso Asami – LIKA. A padronização da técnica de metáfase, como, coleta do material (células da medula), fixação e coloração (foi determinado o melhor padrão de marcação), ocorreu no primeiro quadrimestre, ocasião em que foram determinadas rotinas com a metodologia vivisseccionista com os animais de laboratório, assim como, execução e padronização do manejo nutricional, reprodutivo, higiênico e parasitário dos animais que foram usados durante o período experimental, com a preparação de soluções, organização do material químico e revisão de literatura.



**Figura3:** Sementes de *Cnidoscollus phylacanthus*

### 3.5 Padronização da dose de CPA (ciclofosfamida) em relação aos efeitos genotóxicos em células de mamíferos (Chagas et al. 2000)

Nos ensaios preliminares, que ocorreu no primeiro quadrimestre, para a padronização da dose do Genuxal® (Ciclofosfamida-CPA), fármaco de ação antineoplásica empregado como controle positivo nos experimentos *in vivo*, foram utilizados um grupo com 05 animais. O camundongo foi inoculado com a dose mínima capaz de causar aberrações (10mg/kg) CPA/kg de peso corporal via i.p., com volume máximo de 0,1 ml/10g de peso. A diluição da droga foi feita em água destilada estéril.

Foram analisadas 250 células por lâmina, e 04 lâminas para dose utilizada, totalizando 1.000 células analisadas, mais 250 células para o grupo controle sem a droga.

O grau de toxidez deve ser analisado através dos valores dos índices mitóticos empregando-se a fórmula  $IM (\%) = \text{Número de células metafásicas} \times 100 / \text{Total de células}$  (Siegel, 1979).

### **3.6 Administração do óleo da semente de *Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm**

Nos experimentos *in vivo* com o óleo de *Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm, a administração foi realizada por via i.p. As doses utilizadas foram de 0,1 ml, onde foram realizadas as diluições na proporção 4:1. tomando por base a dosagem recomendada pela OMS para camundongos .

### **3.7 Teste de Metáfase em células de medula óssea de camundongos** (Hsu & Patton, 1969; Zambrano et al., 1982; Melo, 1996).

A aplicação do óleo da semente de *Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm foi feita em um grupo de 03 animais, incluindo 01 camundongo como controle positivo, inoculado com CPA, na dose estabelecida com os resultados dos estudos de padronização da dose e 01 camundongo não inoculado mantido como controle negativo.

Os animais foram inoculados com uma solução de colchicina (1%), via i.p. na dose de 0,1 ml/10g de peso corporal, 22 horas após terem recebido o óleo da semente de *Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm ou a CPA. Após 24 horas os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical.



**Figura 4:** Inoculação intraperitoneal em camundongos com o óleo da semente de *Cnidoscolus phyllacanthus*

Em seguida, os fêmures foram extirpados, dissecados e cortados a altura das epífises proximais. Com uma seringa e agulha, tipo tuberculina, foi injetada no canal medular dos fêmures dos camundongos 0,3 ml de uma solução isotônica de NaCl (0,9 %) deixando-se escorrer as células da medula óssea dentro de um tubo de centrífuga contendo 3,0 mL da solução de NaCl.



**Figura 5:** Extirpação, dissecação, e corte na altura das epífises proximais, em camundongos.



**Figura 6:** Medula óssea extirpada e dissecada

A suspensão de células foi homogeneizada várias vezes com uma pipeta de Pasteur fina e, em seguida, centrifugada a 1.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento homogeneizado em 4 ml de solução hipotônica de KCl (0,075M). A suspensão foi deixada em repouso à temperatura ambiente durante 25 minutos para hipotenização e lise das células. A suspensão foi, em seguida, centrifugada a 1000 rpm durante 5 minutos e o sobrenadante descartado. Ao sedimento, adicionou-se o fixador (metanol: ácido acético 3:1), recém preparado, sendo as células ressuspensas até obter-se uma solução homogênea sem grumos.



**Figura 7:** Homogeneização das células

O processo de fixação das células foi repetido duas vezes sendo diminuído os volumes dos fixadores para 3 ml nas duas últimas centrifugações. Após a última centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células, novamente ressuspensas. Em lâminas previamente limpas e totalmente desengorduradas, mantidas submersas em água destilada gelada, foram pingados 2 a 3 gotas do material sobre uma película de água que se forma sobre as lâminas. Em seguida as lâminas foram secas em papel de filtro e, ligeiramente, flambadas em lamparina a álcool onde foram coradas pelo método de Giemsa e analisadas ao microscópio óptico convencional.



**Figura8:** Flambagem das lâminas

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **4.1 Determinação da atividade clastogênica da ciclofosfamida**

Os resultados apresentados na tabela 3 mostram que a CPA, na dose de 10mg/kg de peso corporal, induziu aberrações cromossômicas tipo fragmentos acêntrico simples, não sendo encontrados outros tipos de aberrações nesta dose (Figura 9). De acordo com os resultados obtidos por Chagas et al., 2000, observaram que a dose de 10 mg/kg foi a que proporcionou um melhor resultado positivo com menor indução de efeitos colaterais. Na dose de 100mg/kg de peso corporal 68,8% das células em metáfase apresentavam aberrações cromossômicas com danos celulares excessivo. Ocorreu a predominância de metáfases com cromossomos pulverizados (32%) e metáfases com

quebras múltiplas (8%). Na dose de 50mg/kg de peso corporal foi observado que 36% dos cromossomos em metáfase apresentavam aberrações sendo a mais freqüente os fragmentos acêntricos simples (10%) e cromossomos com múltiplas quebras (12%), além de outras lesões com menor freqüência. Com a dose de 25mg/kg de peso corporal foi induzido lesões cromossômicas do tipo fragmentos acêntricos simples (8,8%) e os cromossomos apresentando falhas simples ou “Gaps”(4,8%). Em estudos realizado por Moreira et al. 2004 no teste de linfócitos humanos no reconhecimento do efeito clastogênico e citotóxico da 5-fluorouracil , foi utilizada a ciclofosfamida como controle positivo e a mesma interferia no crescimento celular confirmando assim o seu efeito mutagênico.

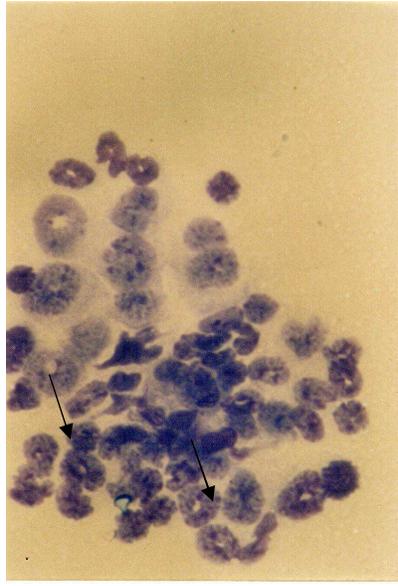
Segundo Neto et al 2005 na avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do teste de micronúcleo em medula óssea de ratos(*Rattus novergicus*, linhagem wistar in vivo) foi utilizado 4 grupos experimentais e um deles incluía a ciclofosfamida no controle positivo que teve ação no material genético do animal, fazendo com que ocorresse dano ao cromossomo e ele quebrasse ou fosse desviado completamente do seu caminho normal, que seria ir para o núcleo durante a divisão celular, comprovando dessa maneira seu efeito mutagênico.

**Tabela – 3:** Avaliação da atividade clastogênica do CPA em cromossomos metafísicos da medula óssea de camundongos machos.

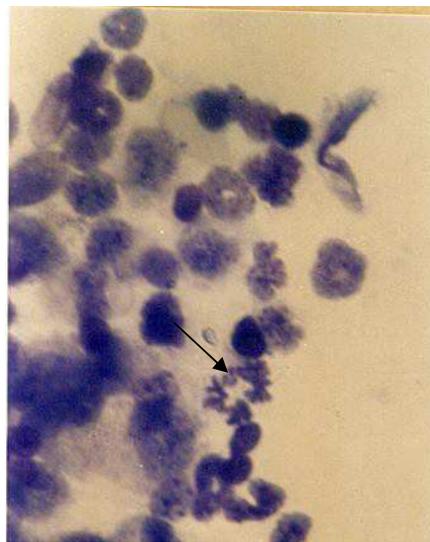
TIPOS DE ABERRAÇÕES CROMOSSOMICAS (AC) <sup>a</sup>								
Dose usada (mg/kg)	Animais por dose	CP	MD	GAPs	Q.CTD	FAS	RCR	TOTAL/A C (%)
10	5	0	0	0	0	3(1,2)	0	3 (1,2)
25	5	0	52	12 (4,8)	10 (4)	22 (8,8)	1 (0,4)	50 (20)
50	5	10 (4)	30 (12)	15 (6)	5 (2)	25 (10)	5 (2)	90 (36)
100	5	80 (32)	20 (8)	20 (8)	10 (4)	30 (12)	10 (4)	170 (68)
-	5		0	0	0	0	0	0

AC: cromossomos pulverizados (CP); cromossomos muito danificados (MD); cromossomos com falhas pequenas (GAPs); cromossomos com quebras cromatídicas (Q.CTD.); fragmentos acêntricos simples (FAS); rearranjo cromossômico (RCR).

Fonte: Chagas et al., 2000.



**Figura 9:** Metáfase pulverizada



**Figura 10:** Metáfase com pequenas quebras

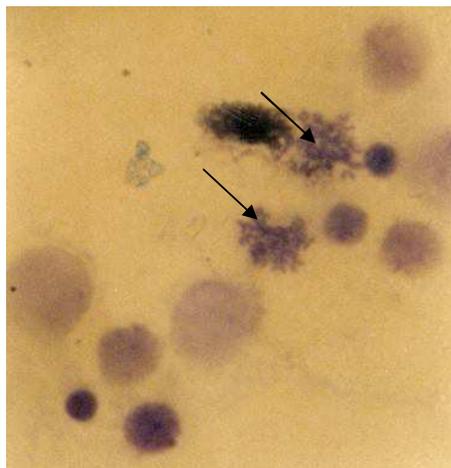
#### **4.2- Determinação da atividade clastogênica do óleo da semente de faveleira**

Na avaliação da atividade clastogênica do óleo da semente de *Cnidocolus phylacanthus* através do teste de metáfase foi testada uma única dose de 0,1ml /kg de peso corporal em um grupo com três animais. Foram observadas em pelo menos 250 metáfases por dose totalizando 1.500 metáfases observadas. Os resultados mostrados na figura 11 mostram que o óleo da faveleira não foi capaz de revelar a indução de

aberrações cromossômicas. Este fato foi produzido pela má qualidade na resolução das lâminas obtidas, que não permitiram uma análise mais detalhada dos cromossomos. Muitos estudos tem sido realizados para avaliar o efeito mutagênico dos vegetais corroborando com o trabalho realizado por Neto et al 2005 na avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira( *Opuntia ficus-indica* Mill) através do teste de micronúcleo em medula óssea de ratos(*Rattus norvegicus*, linhagem wistar in vivo) observou que a mesma não apresentava e mutagenicidade.

Santos, 2006 testou dez plantas encontradas no cerrado brasileiro utilizadas pela população como fitoterápico no controle de úlceras gástricas, com o intuito de observar se as mesmas apresentavam efeito mutagênico. Os extratos metanólicos de, *Alchornea castaneifolia*, *Alchornea glandulosa*, *Alchornea triplinervia*, *Mouriri pusa*, *Qualea grandiflora*, *Qualea multiflora*, *Estrychnos pseudoquina* foram mutagênicos *in vitro*, ocasionando mutações pontuais no DNA de *Salmonella typhimurium*; os extratos clorofórmicos de *Q. grandiflora* e *Q. multiflora* foram mutagênicos *in vitro*; nos estudos *in vivo* apresentaram aumento na frequência de micronúcleos. Os animais tratados com os extratos metanólicos de *A. castaneifolia*, *A. glandulosa*, *A. triplinervia*, *Q. multiflora* e *S. pseudoquina*; não apresentaram mutagenicidade *in vitro* os extratos polares e apolares obtidos de *A. humile*, *B. basiloba* e *Q. parviflor*, resultado este obtidos por Santos, 2006.

Trabalhos realizados por Viana et al avaliou o efeito mutagênico da manipueira e da água da poça através do teste utilizando a medula óssea de ratos Wistar onde os resíduos analisados foram mutagênicos confirmando dessa maneira a importância de estudar os vegetais no intuito de fornecer segurança a todos que fazem o seu uso.



**Figura 11:** Metáfase sem quebras

## **5 CONCLUSÃO**

O trabalho executado mostrou que o óleo da semente da faveleira além de não induzir genotoxicidade em células metafásicas da medula óssea de camundongos, não teve ação clastogênica no DNA celular provocando mutação estrutural a nível cromossômico; não interferindo na dinâmica do ciclo celular.

A determinação do efeito não clastogênico do óleo da semente da faveleira, pode contribuir para o uso seguro do mesmo pela população alvo.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

ADLER, I.D. **Cytogenetics tests in mammals**. In: VENITT, S., PARRY, J.M. Mutagenicity testing; a practical approach. Oxford: IRL Press, 1984, p.275-305

AGRA, Maria de Fátima. **Plantas da medicina dos cariris velhos**. Paraíba- PB, Brasil /João Pessoa: Editora União, 1996. 125p.

ALBERTS, B. et al. Fundamentos da biologia celular, Editora Artimed. Edição Universitária, 2º reimpressão. Porto Alegre (RS): 2002

ALVES, R. M.; GARCIA, A. A. G. F.; CRUZ, E. D.; FILGUEIRA, A. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 807-818, 2003.

ANDRADE-LIMA, Dárdamo de. **Plantas das caatingas**. Academia Brasileira de ciências. Rio de Janeiro-RJ, Gráfica A Tribuna de Santos Ltda., 1989.

ARRIEL, E. F.; SILVA, M. L. F.; PAULO, M. C. S.; ARAÚJO, L. V. C.; NÓBREGA, A. M. F.; MARINHO, M. G. V.; SOUTO, J. Sistema reprodutivo da faveleira. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 3, p. 733, 1999. Resumo, 17-183.

ARRIEL, E. F.; PAULO, M. C. S.; BAKKE, O. A.; ARAUJO, L. V. C.; ARRIEL, N. H. C. Variação das características biométricas da sementes de 20 progênies de faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (Muell. Arg.) Pax et K. Hoffm] In: FOREST 2000a, Porto Seguro. **Resumos expandidos...** Rio de Janeiro: Biosfera, 2000b. p. 209-211.

ARRIEL, E. F. **Divergência genética em *Cnidocolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm**. Tese de doutorado. Universidade Federal Paulista. Jaboticabal, 2004.

BEZERRA; Gilson Eduardo. **Favela- seu aproveitamento como forrageira**. Boletim técnico, Fortaleza- CE, V.30, n°-1,p71-87, jan/jun 1972.

BICUDO, H.E.M.C. Base molecular da mutação. In: COSTA, S.O.P. Genética molecular de microorganismos - **Fundamentos a engenharia genética**. São Paulo, Editora Manole, 1987, Cap. 30, p.484-492.

BOOTH, S.; BRESSANI, R.; JOHNS, T. Nutrient contend of selected indigenous leafy vegetables consumed by the Kekchi people of Alta Verapaz, Guatemala. **Journal of Food Composition and Analysis**, Orlando, v. 5, n. 1, p. 25-34, 1992.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3. ed. Mossoró (RN): ESAM, 1976. p. 247-248. (Coleção Mossoroense, 42).

BRUSICK, D.J. **Principle of genetics toxicology**. New York: Plenum Press, 1987, p.13-51.

BRUSICK, D.J. **Structure-activity relationships in mutation and cancer**. Mutation Research, Amsterdam, v.305, p.101-115, 1994.

BURNS, G.W., BOTTINO, P.J. **Aberrações cromossômicas: alterações estruturais**. In: Genética. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. Cap.15, p.243-256.

CARANO, A.V., NATARAJAN, A.T. **Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques**. Mutation Research, Amsterdam, v.204, p.379-406, 1988.

CASTELLANI, E. D. **Caracterização e ecofisiologia de sementes de três espécies arbóreas do gênero *Solanum* L.** 2003. 200 f. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

CHAGAS, L.M. **Investigação do potencial genotóxico do fármaco Stibogluconato de sódio (antimonial pentavalente), empregado no tratamento das Leishimanioses**. Monografia. Universidade Federal Rural de Pernambuco – Recife/PE, 2000.

CRUZ, C. D. **Programa GENES: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: Imprensa Universitária, 2001. 648p.

DAUN, J. K.; BURCH, L.D.; TKACHUK, R.; MUNDEL, H.H. composition of the kernels of the faveira nut (*Cnidocolus phylacanthus*). **J.Am.oil.chem.soc.**, champaign-IL., . 64(6), 880-881.1987.

DRAKE, J.W. **Mechanisms of mutagenesis**. Environmental and Molecular Mutagenesis. Washington, v.14, p.11-15, 1989.

DRUMOND, M. A.; OL DRUMOND, M. A.; LIMA, A. Q.; LIMA, P. C. F. Comportamento silvicultural de algumas espécies arbóreas na bacia de rejeitos da mineração Carafba. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 3; 1997, Ouro Preto. **Resumos...** Viçosa: UFV, 1997. p. 403-406.

DRUMOND, M. A.; OLIVEIRA, V. R.; LIMA, M. F. ***Mimosa caesalpiniiifolia*: estudos de melhoramento genético realizados pela EMBRAPA Semi-Árido, Nov/1999**. Disponível em: <<http://www.cpsa.embrapa.br>>. Acesso em: 25 fev. 2000.

DUQUE, J. G. **Solo e água no polígono das secas**. 2º Ed. Fortaleza-CE: DNOCS, V. I. 220P. 1951.

DUQUE, J. G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 3º. ed. Mossoró: ESAM, 1980. p. 295-301. (Coleção Mossoroense, 143).

DUQUE, J. G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 3º. ed. Mossoró: ESAM-Fundação Guimarães Duque, vol. CXLIII, 337p. 1980a.

- EVANS, H.J. **Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen test.** In: KILBEY, B.J., LEGATOR, W.M. Handbook of mutagenicity test procedures. Amsterdam: Elsevier, 1984, p. 405-428.
- GARDNER, E.J., SNUSTAD, D.P. **Genética.** 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986, 497p.
- GALVÃO, I. B Forrageiras nativas do seridó. Seleções Agrícolas ,15. Caicó- RN,(174): 13-7, 1960.
- GOMES, R.P. **Forragens fartas na seca.** 3. ed. São Paulo: Livraria Nobel S.A., 1977. 233p.
- GUTERIDGE, J.M.C. **Ageing and free radicals.** Medical Laboratory Sciences, London, v.49, p.313-318, 1992.
- HARMAN, D. **Free radical theory of ageing.** Mutations Research, Amsterdam, v. 275-266, 1992.
- HENRIQUES, J. A P., QUEROL, C.B. **Base molecular da mutação.** In: Costa, S.O.P. Genética molecular e de microorganismos – Fundamentos engenharia genética. São Paulo, Editora Manole, 1987, Cap. 8, p. 117-136.
- HSU, T. C.;PATTON,J.L. Bone marrow preparations for chromosome studies. In: BERNISCHKE,K.(Ed.) **Comparative mammalian cytogenetics,** New York: Springer-Verlag, 1969. P. 454-460
- KING, C.M., GILLESPIE, E.S., McKenna, P.G. **An investigation of mutations as a function of age in humans.** Mutation Research, Amsterdam, v. 316, p. 79-90, 1994.
- KRISHNA, G. et al. Use of cyclophosphamide as a positive control in dominant lethal and micronucleus assays. Mitat. Res.; Amesterdan, v. 335, p.331-337. 1993.
- KUNIYOSHI, Y. S. **Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com araucária.** 1983. 233 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1983.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** 2. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1998. p. 92.
- LUCENA, Thomas Krisp, **O Biodiesel na Matriz Energética Brasileira,** TESE (Mestrado) UFRJ, Rio de Janeiro, 2004
- LUZ, J. L. L.; DIÉGUEZ, E. T.; NIEBLAS, M. M. O.; GUTIÉRREZ, F. L. "Caribe" (*Cnidocolus angustidens* Torr.), a promising oilseed geophyte from north-west Mexico. **Journal of Arid Enviroments,** London, v. 41, p. 299-308, 1999.
- TSUCHIMOTO, T., MATTER, B.E. **Mutagenicity test system for the detection of chromosome aberration *in vivo*.** Archives of toxicogy, Berlin, v. 46, p.89-98, 1980.

MATOS, Prof. Francisco José de Abreu. Nomes Vulgar: **Faveleira**. *Cnidoscopus phyllacanthus* Pax et Hoff. Última atualização: 25/6/2002 17:00:00.

MELO, M.E.B., FERREIRA, L.C.S. Screening the mutagenic activities of commonly used antiparasite drugs by the Simultest, a simplified Salmonella/michrossome plate incorporation assay. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo-SP*, v.32, p.260-274, 1990.

MOURA FÉ, J. A; HOLANDA, L. F. F; MARTINS, C. B.; MAIA, G. A. Estudos tecnológicos da faveleira [*Cnidoscopus phyllacanthus* (Muell. Arg.) Pax et K. Hoffm] **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 7, n. 1/2, p. 33-37, 1977.

MOREIRA, L.M. ARAÚJO., A, M.P.L., CORDEIRO, B.P.B.,GUSMÃO, F.A.F. **Teste de linfócitos humanos no reconhecimento do efeito clastogênico e citotóxico da 5-fluorouracil** . *R. Ci. méd. biol.*, Salvador, v. 3, n. 1, p. 5-12, jan./jun. 2004

NETO, J. X.A., MEDEIROS, F.P.M., MELO, A. M.J, SILVA, C.J., DANTAS, P. J. **Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (Opuntia fícus-indica Mill) através do Teste de Micronúcleos em medula óssea de ratos (Rattus novergicus, linhagem Wistar) In vivo.**

OLIVEIRA, Odaci Fernandes. Algumas árvores do município de Mossoró. *CaatingaMossoró*, v.1 n.1, 1976,p.7-17

OLIVEIRA, D.M.; PIMENTEL, L.A.; ARAÚJO, J.A.S.; MEDEIROS, R.M.T.; DANTAS, A.F.M.; CORREA, F.R. **Intoxicação por *Cnidoscollus phylacanthus* (Euphorbiaceae) em caprinos.** *Pesq.Vet. Bras.* v.28 n.1 Rio de Janeiro, jan, 2008.

PASSOS, R. A. M. Favela. Determinações químicas e valor nutritivo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 22, n. 3, p. 451-453, 1993.

PEDRON, F. A.; MENEZES, J. P.; MENEZES, N. L. Parâmetros biométricos de fruto, endocarpo e semente de butiazeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 585-586, 2004.

PRESTON, R.J., DEAN, B.J., GALLOWAY, S. **Mammalian in vivo cytogenetics assays; Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells.** *Mutation Research*, Amsterdam v.189, p.157-165, 1987.

Rabello-Gay, M.N et al. **Mutagênese, teratogênese e carcinogênese: Métodos e critérios de avaliação.** Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética *Revista Brasileira de genética*, 1991, 246p.

SANTA ROSA, J. **Instituto Nacional de Tecnologia.** Rio de Janeiro. Publicação n. 43. 1943.

SAVAGE, J.R.K **A comments on the quantitative relationship between micronuclei and and chromosomal aberrations.** *Mutation Research*. Amsterdam, v.207, p.33-36, 1988.

SILVA, L. M. M. **Morfologia e ecofisiologia de sementes de *Cnidocolus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm.** 2002. 134 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal 2002 SINGER, B., GRUBER, D. **Molecular biology of mutagens and carcinogens.** New York: Plenum Press, 1983, 316p.

SILVA, M. R. **Caracterização morfológica, fisiológica e nutricional de mudas de *Eucalyptus grandis* submetidas a diferentes níveis de estresse hídrico durante a fase de rustificação.** 1998. 129 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

SINGER, B., GRUBER, D. **Molecular biology of mutagens and carcinogens.** New York: Plenum Press, 1983, 316p.

SOUZA, A. A.; MARTINS, C. B.; LIMA, F. P. Valor nutritivo do feno da faveleira. In: Reunião da sociedade brasileira de zootecnia, 17., 1980, Fortaleza. **Anais...Fortaleza: SBZ, 1980. p. 74.**

VIANA, L.A.; STELATO, L. M. N.; MARIUCCI, R. G.; VICENTINI, V. E.P. **Estudo da atividade mutagênica da manipueira e da água da poça, resíduos gerados durante a industrialização da mandioca da variedade “olho-junto”, em relação ao hipossulfito de sódio , em células de medula óssea de ratos Wistar.** Universidade Estadual de Maringá(UEM)

VIANA, O. J.; MARTINS, C. B.; LIMA, F. P. Estudo do valor forrageiro da faveleira. In: Reunião da sociedade brasileira de zootecnia, 17., 1980, Fortaleza. **Anais... Fortaleza: SBZ, 1980, p. 604.**

VIANA, O. J.; CARNEIRO, M. S. S. Plantas forrageiras xerófilas - I Faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (Muell. Arg.) Pax et K. Hoffm] inerme no semi-árido cearense. **Ciência Agrônômica, Fortaleza, v. 22, n. 1-2, p. 17-21, 1991.**

VIJG, J., GOSSSEN, J.A. **Somatic mutations and cellular aging.** Comparative Biochemistry and Physiology, New York, v. 104B(3), p.429-437, 1993.

VILLA, L.L., BRENTANE, R.R. **Base molecular da mutação.** In: COSTA, S.O. P. Genética molecular e de microorganismos – Fundamentos da engenharia genética. São Paulo, editora Manole, 1987, Cap. 29, p.417-480.

ZAMBRANO, M. A., TARGA, H.J., RABELLO-GAY, M.N. Physiological saline solutions as a useful tool in micronucleus and metaphase slide preparations. **Stain Technology, Baltimore, v.57, p.48-49, 1982.**

ZANONI, T. A.; GARCIA, G. R. G. Notes on the flora of Hispaniola. **Annals of Carnegie Museum, Pittsburgh, v. 64, n. 4, p. 255-265. 1995.**

WORD HEARTH ORGANIZATION. **Guidelines for the study of genetic effects in human populations.** Geneva: WHO, 1985

## APENDICE

# TESTE DE METÁFASES

