

AValiação DO POTENCIAL CARCINOgênICO DO NONI, POR MEIO DO TESTE PARA DETECÇÃO DE TUMOR EPITELIAL EM *Drosophila melanogaster*

ASSESSMENT OF THE CARCINOGENIC POTENTIAL OF NONI, USING THE DETECTING EPITHELIAL TUMOR TEST IN *Drosophila melanogaster*

Amanda Clara de Oliveira¹
Cássio Resende de Morais¹

RESUMO: *Morinda citrifolia* Linn conhecida popularmente como Noni é um arbusto de aproximadamente 3 metros, nativo do sudeste da Ásia. O uso crônico do noni já foi relacionado a diferentes desordens, como também já foi relacionado com propriedades benéficas ao organismo. O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade carcinogênica de diferentes concentrações do extrato vegetal, por meio do Teste para Detecção de Tumor epitelial em *D. melanogaster*. Para avaliar o efeito carcinogênico do noni, Larvas de 3º estágio descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, sb¹* e machos *mwh/mwh* foram tratadas com diferentes concentrações do extrato aquoso do noni (50; 25; 12,5 e 6,25%). A toxicidade do noni foi mensurada por meio da taxa de moscas que sobreviveram a etapa de metamorfose após exposição. Foi observado efeito tóxico de noni na concentração de 100%. Não foi evidenciado efeito carcinogênico em nenhuma das concentrações testadas.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*; Câncer; *wts*.

ABSTRACT: *Morinda citrifolia* Linn conhecida popularmente como Noni é um arbusto de aproximadamente 3 metros nativo do sudeste da Ásia. O uso crônico do noni já foi relacionado a diferentes desordens, como também já foi relacionado com propriedades benéficas ao organismo. O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade carcinogênica de diferentes concentrações do extrato vegetal, por meio do Teste para Detecção de Tumor epitelial em *D. melanogaster*. Para avaliar o efeito carcinogênico do noni, Larvas de 3º estágio descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, sb¹* e machos *mwh/mwh* foram tratadas com diferentes concentrações do extrato aquoso do noni (50; 25; 12,5 e 6,25%). A toxicidade do noni foi mensurada por meio da taxa de moscas que sobreviveram a etapa de metamorfose após exposição. Foi observado efeito tóxico de noni na concentração de 100%. Não foi evidenciado efeito carcinogênico em nenhuma das concentrações testadas.

-
1. Licenciada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério – UNIFUCAMP.
 2. Licenciado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério – UNIFUCAMP. Especialista em Biotecnologia Ambiental pelo Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. Especialista em Toxicologia e Bioquímica pela Faculdade Metropolitana do Estado de São Paulo – FAMEESP. Especialista em Biologia Celular e Molecular pelo Centro Universitário FAVENI - UNIFAVENI. Mestre e Doutor em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia – UFU. Docente e Pesquisador pelo UNIFUCAMP. (cassio.1015@hotmail.com)

Keywords: *Morinda citrifolia*; Câncer; wts

1. INTRODUÇÃO

Desde que o homem aprendeu a usar a natureza em prol de suas necessidades, a utilização de vegetais com propriedade fitoterapêutica têm sido marcantes e o seu crescimento se deve, sobretudo as propriedades farmacológicas, bem como o fácil acesso por parte da população de diferentes classes sociais, a disponibilidade na natureza e o baixo custo (Varanda, 2006; Lima et al., 2013).

Nos extratos vegetais, é possível encontrar vários compostos bioativos, os quais destacam as substâncias fenólicas ligadas a carboidratos, proteínas, ou mesmo de maneira livre. Tais compostos estão associados ao crescimento meristemático dos vegetais, propriedades sensoriais, desenvolvimento germinativos das sementes, defesa contra pragas e danos de natureza oxidativa (Lima et al., 2013).

No amplo acervo de plantas medicinais, destaca-se a espécie *Morinda citrifolia* Linn conhecida popularmente como Noni, um arbusto de aproximadamente 3 metros nativo do sudeste da Ásia (Oliveira et al., 2013).

A fruta do noni é rica em vitamina B1 (Tiamina), vitamina B2 (Riboflavina), vitamina B3 (Niacina), vitamina B5 (ácido pantotênico), Vitamina B6, Vitamina B12, Vitamina C (ácido ascórbico), Ácido Fólico, Vitamina E (alfa-tocoferol) e beta-caroteno. Incluindo também diversos sais minerais, como cálcio, potássio, magnésio, ferro e fósforo (Maroso et al., 2013). A ampla variedade de vitaminas e sais minerais sugere que o fruto possui grandes propriedades nutricionais.

Relatos baseados em experimentação científica, sugerem que o Noni apresenta grande valor medicinal. De acordo com alguns autores o noni é utilizado em ação antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, antihelmíntica, analgésica, anti-inflamatória, hipotensora e imune estimulante (Wang et al., 2008; Wang et al., 2008; Pauchauri et al., 2012).

Mesmo apresentando grande valor nutricional e terapêutico, plantas medicinais podem apresentar princípios ativos de natureza maléfica, que por serem às vezes negligenciados podem causar desequilíbrios na homeostase do organismo, podendo resultar em processos de intoxicação ou mesmo no desenvolvimento de doenças.

O Noni por exemplo já foi associado que seu uso em grandes quantidades e em grandes períodos, causam lesões no Fígado, diarreia, edema, tosse, dores de cabeça, erupções cutâneas, náuseas, reduz a pressão arterial por sua alta concentração de potássio (Muller et al.,

2009; Marques et al., 2010; Shalan; Mustapha; Mohamed, 2016).

Devido a este e outros trabalhos, bem como a falta de informações concretizadas no âmbito científico, o fruto noni não foi liberado para livre comércio no território brasileiro pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

De acordo com o informe técnico emitido pela ANVISA, o noni não é comercializado legalmente no Brasil, sendo o seu consumo entre os populares de maneira clandestina. O informe declara ainda que o uso de qualquer parte do vegetal, somente será permitido caso haja comprovação de segurança quanto ao uso agudo ou crônico, conforme estabelece a Lei nº. 16/1999 na Resolução RDC nº. 278/2005 (ANVISA, 2007).

Mesmo não sendo liberado o seu comércio em território brasileiro, Polinésia, Índia, Austrália, Havaí e recentemente os Estados Unidos asseguram a sua utilização, sendo, portanto, permitido o uso do suco ou em forma de suplemento alimentar (Su et al.,2005).

Ensaios baseados na genética toxicológica são valiosas ferramentas para mensurar possíveis danos de natureza gênica. Neste sentido o uso da *Drosophila melanogaster* têm sido comuns nos últimos anos, principalmente por meio do teste para detecção de mutação e recombinação somática (SMART) e o teste para detecção de clones de tumor epitelial (teste wts).

O uso de *D. melanogaster* em pesquisas de mutagênese e carcinogênese, se deve sobretudo a sensibilidade do organismo, curto ciclo de vida, prole numerosa e linhagens selvagens e mutantes bem caracterizadas, somado a homologia observado com mamíferos superiores, como humanos (Franchi, 2008).

O teste wts altera uma proteína Serina/Treonina quinase, fundamental na continuação do ciclo celular. O marcador *wts* é uma mutação recessiva letal em homozigose o alelo *warts* possui um balanceador marcador cromossômico TM3,*Sb¹* que quando expresso na condição selvagem atua como um gene supressor de tumor. As mutações geradas neste gene levam a formação de tumor epitelial nas *D. melanogaster*, duas linhagens foram usadas nesse teste *warts* e *multiple wing hairs* (Neponuceno; Furtado,2012).

Na perspectiva de verificar se o noni pode ser consumido pela população de maneira mais segura, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial carcinogênico do extrato aquoso (suco) do noni, por meio do teste *wts* em células somáticas de *D. melanogaster*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Agentes químicos e preparação do extrato aquoso

Foi utilizado nesse trabalho o extrato do suco Noni (*Morinda citrifolia* Linn). O extrato aquoso foi feito por meio da maceração completa do fruto (epicarpo, mesocarpo, endocarpo e sementes) e o suco foi extraído com auxílio de peneira de malha fina.

Neste trabalho, as concentrações foram baseadas em ensaio prévio de sobrevivência, sendo as concentrações testadas, 100; 50; 25; 12,5 e 6,25% de noni.

Mitomicina C (CAS 50-07-7) na formulação em pó liofilizado é fabricado por Kyowa Hakko Kirin Co.Ltda. Shizuoka (Japão), embalado por Bristol-Myers Squibb S.r.l Sermoneta-Latina-Itália e importado por Bristol Myers Squibb Farmaceutica S.A.

2.2 Teste para Detecção de Tumor em *Drosophila melanogaster* (Teste wts)

2.3.1 Linhagens de *Drosophila*, cruzamento e tratamentos

Duas linhagens mutantes de *D. melanogaster* foram usadas neste trabalho: Linhagem *multiple wing hairs* (*mwh,3-0,3*) e linhagem *warts* (*wts.3-100*). A linhagem *multiple wing hairs* é mantida em homozigose recessiva para o marcador *mwh*, localizado no cromossomo 3 em posição distal em relação ao centrômero. Quando expresso em homozigose recessiva o gene *mwh*, produz fenótipo de pelos nas asas da mosca em formato múltiplo, diferente do fenótipo selvagem (um único pelo por célula).

A linhagem *warts* possui o marcador *wts* no cromossomo 3, que é mantido em hemizigose na presença do balanceador cromossômico *TM3, sb¹*. O marcador *wts*, quando expresso na condição selvagem, atua como um gene supressor de tumor, inibindo a formação de fenótipo neoplásico. A deleção desse gene, e a expressão do alelo recessivo, leva a formação de clones de células que são consideradas invasivas, acarretando a manifestação de tumor epitelial no corpo (tórax e abdômen) e apêndices (perna, asas, halteres) nas moscas.

Essas linhagens foram mantidas em estoque, em frascos contendo 1/4 meio de cultura a base de banana (1230mL de água; 16,5 g de ágar; 234 g de banana; 37,5 g de fermento biológico de 1,5 g de nipagin em pó) em estufa B.O.D, (CE-300/350-FA) em ciclos luz/escuro (12:12h) na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de umidade relativa.

O teste *wts* foi feito de acordo com os procedimentos experimentais de Moraes *et al* (2016; 2017). Em resumo foi realizado o cruzamento entre machos *mwh/mwh* e fêmeas virgens da linhagem *wts*, [1] in [1] *kni* [ri-1] p [p] *wts* [3-17]/*TM3, SB* [1]. O cruzamento possibilitou a geração de duas progênes distintas: MH – Trans- heterozigoto marcado (*mwh+/+wts*) e BH - Heterozigoto balanceado (*mwh +/+TM3, Sb¹*).

Após o cruzamento foi realizada a coleta dos ovos dentro do período de 8 horas em frascos contendo meio de cultura a base de ágar (4%) e fermento biológico suplemento com sacarose. Larvas de 3º estágio foram lavadas com água obtida por sistema de osmose reverse, sendo coletadas com a ajuda de uma peneira de malha fina. Em seguida as larvas foram submetidas a tratamento crônico (48horas).

As larvas foram postas em *vials* (2,5 centímetros de diâmetro por 8 centímetro de comprimento) contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki® Alimentos S.A), hidratado com 5 mL de solução do noni nas concentrações de 50%, 25%, 12,5% e 6,25%. Estas concentrações foram baseadas em ensaio prévio de sobrevivência, onde apenas foram analisadas moscas submetidas a concentrações subletais do extrato.

Os tratamentos foram acompanhados de controle negativo e controle positivo. Água obtida por sistema de Osmose reverse foi usado como controle negativo e mitomicina C (MMC) na concentração de 0,1 mM (exposição durante 6 horas) foi usado como controle positivo. A concentração usada neste trabalho foi baseada em estudos de recombinação mitótica em *Drosóphila melanogaster* (Tsuda; Takeda,1987) e em ensaios de carcinogênese (Orsolin; Nepomuceno,2009; Orsolin; Silva-Oliveira; Neponuceno, 2012; Morais et al..2016; Morais et al., 2017).

3.3.2 Fixação de moscas e análises de tumor epitelial

A análise de tumor epitelial foi feita em moscas da progênie MH, visto que a ausência do marcador *wts* e a presença do balanceador *TM3, Sb¹*, na progênie BH, inviabiliza a instalação de células com perfil cancerígeno na mosca, via mecanismo de supressão via *wts*.

As identificações das progênies foram feitas via identificação do fenótipo resultante da expressão do balanceador cromossômico *TM3, Sb¹*, que por sinal resulta em fenótipo de pelos curtos e espessos no corpo da mosca, que difere da progênie MH, com fenótipo de pelos longos e finos.

Para a análise de tumor epitelial, adultos eclodidos do cruzamento *mwh +/+mwh x wts+/TM3,sb¹* foram fixados em etanol 70% (v/v) e analisados em lupa estereoscópica (Bel® Photonics) em placa de petri com glicerina. A análise foi baseada em contagem de tumores de acordo com a descrição de Justice (1995). Os resultados foram registrados em um diagrama padrão demonstrando os números de tumores em cada parte do corpo das moscas: olhos, cabeças, corpo, asas, pernas e halteres.

2.3.3 Análise estatística

As frequências de tumores epiteliais observados nos indivíduos tratados com as diferentes concentrações do extrato aquoso do noni e MMC foram comparadas estatisticamente com as frequências de tumores epiteliais observadas nos controles negativo, usando o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney, com nível de significância $p \leq 0,005$.

Comparações estatísticas referentes às taxas de sobrevivência foram realizadas por meio do teste do Chi-quadrado, para razões de amostras independentes.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, foi avaliado a toxicidade e o potencial carcinogênico do extrato aquoso de *Morinda citrifolia* em células somáticas de *D. melanogaster*. Como apresentado na **Figura 1**, 100% do extrato aquoso foi capaz de reduzir 60% a taxa de sobrevivência das moscas tratadas, diferindo estatisticamente do controle negativo ($P < 0,05$), evidenciando por tanto, efeito tóxico.

Os resultados obtidos sugerem que compostos presentes no extrato do noni podem apresentar ação citotóxica. Tal hipótese é sustentada pelo trabalho de Yassin et al (2015), o qual afirma que o noni possui compostos que conferem toxicidade a *Drosophila* sp. Além disso, outros trabalhos com o noni demonstram hepatotoxicidade na concentração de 2 mg/mL incrementando morte em 40% dos ratos expostos oralmente por 3 meses (Shalan; Mustapha; Mohamed, 2016).

Outros efeitos adversos já foram descritos por outros autores sobre o noni. Toxicidade reprodutiva, ossificação retardada, lesões hepatológicas e redução do comprimento do fígado, bem como efeitos comportamentais já foram relatados em ratos em dieta enriquecida com noni (Muller et al., 2009; Marques et al., 2010; Shalan; Mustapha; Mohamed, 2016).

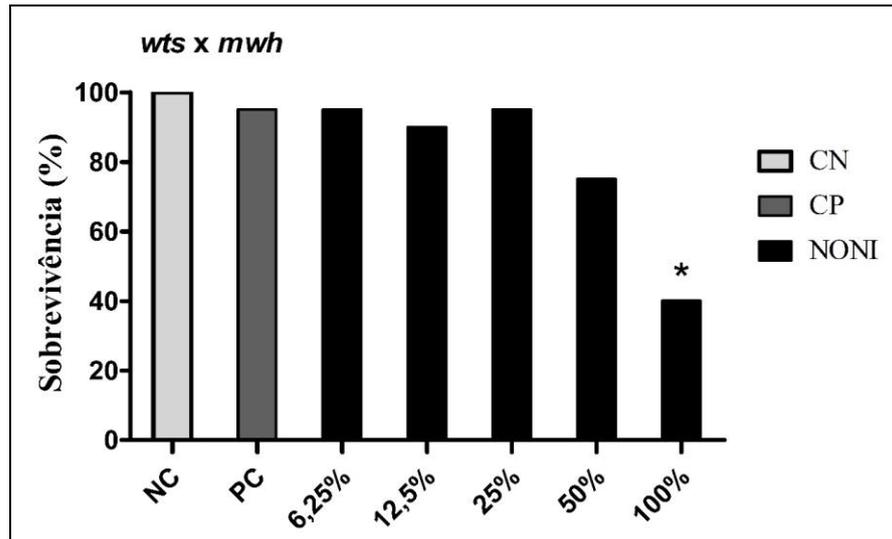


Figura 1. Taxas de sobrevivência dos descendentes de *Drosophila melanogaster* resultantes dos cruzamentos *mwh/mwh* e *wts/TM3, sb¹*, tratadas cronicamente como diferentes concentrações de Noni. NC = Controle negativo (Água); PC = Controle positivo (Mitomicina C, 0,1 mM).

*Diferença estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$) de acordo com o teste do Chi- quadrado para razões de amostras independentes.

Baseado no ensaio de sobrevivência, foi selecionado quatro concentrações subletais (50; 25; 12,5 e 6,25%) do extrato aquoso.

Os resultados referentes ao potencial carcinogênico do extrato aquoso de *M. citrifolia* está apresentado na **Tabela 1**. Os dados quanto as frequências de tumor epitelial foram agrupadas de acordo com o apêndice da mosca (olhos, cabeção, corpo, asas, pernas e halteres) e o diagnóstico total foi feito ao comparar a frequência total de tumor epitelial dos grupos tratados com o extrato aquoso *M. citrifolia*.

Como apresentado na **Tabela 1** nenhuma das concentrações testadas foram capazes de causar alta frequência de tumor epitelial. Neste sentido a ausência de diferenças significativas entre os grupos tratados com noni e o grupo controle sugerem a ausência de efeito carcinogênico em *D. melanogaster*.

Tabela 1. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor *wts* de *D. melanogaster* tratados com diferentes concentrações de Noni e Mitomicina-C (MMC)

Tratamento	Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)						
		olhos	cabeça	asas	corpo	pernas	halteres	Total
Controle negativo	200	0,005 (01)	0,000 (00)	0,015 (03)	0,095 (19)	0,000 (00)	0,000 (00)	0,115 (23)
Controle positivo	130	0,138 (18)*	0,115 (15)*	2,138 (278)*	0,823 (107)*	0,300 (39)*	0,046 (06)*	3,561 (463)*
Noni 50%	181	0,005 (01)	0,003 (00)	0,010 (02)	0,077 (14)	0,005 (01)	0,000 (00)	0,099 (18)
Noni 25%	193	0,000 (00)	0,010 (02)	0,015 (03)	0,067 (13)	0,005 (01)	0,005 (01)	0,103 (20)
Noni 12,5%	193	0,005 (01)	0,005 (01)	0,020 (04)	0,067 (13)	0,010 (02)	0,005 (01)	0,113 (22)
Noni 6,25%	197	0,000 (00)	0,005 (01)	0,015 (03)	0,106 (21)	0,005 (01)	0,000 (00)	0,131 (26)

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de Mann-Whitney. Nível de significância ($P \leq 0,05$).

* Valores considerados diferentes do controle negativo ($P \leq 0,05$). Controle negativo: Água ultrapura; Controle positivo: Mitomicina C.

Na literatura existe um grande acervo de trabalhos que buscam sobretudo avaliar os efeitos benéficos e maléficos de *M. citrifolia*. Até o momento existe uma discordância ao que diz respeito as propriedades do noni.

O presente trabalho entra em concordância com Franchi et al (2008), no qual avaliaram o suco do noni em *D. melanogaster*. Os resultados revelaram ausência de efeito mutagênico. A ausência de efeito mutagênico também foi confirmado por Westendrof et al (2007), por meio do teste Ames e o teste de aberração cromossômica.

Além disso em *D. melanogaster*, noni demonstrou atividade antimutagênica e antirecombinogênica contra os danos induzidos por doxorrubicina e mitomicina C (Franchi, 2008; Franchi et al., 2013).

Evidências de efeitos anticarcinogênicos também foram reportados por Lim et al (2016). Estes autores verificaram a atuação de caspases na indução de apoptose de carcinoma de pulmão, sendo verificado também a expressão de genes fortemente associados a atividade anticancerígena e anti-inflamatória.

Além disso, o extrato do noni já foi mencionado na literatura, como sendo um composto de natureza anti-inflamatória, ativador do sistema imunológico, hepato e neuro protetor (experimentos conduzidos em ratos) (Wang et al., 2008; Wang et al., 2008; Pauchauri et al., 2012).

No Brasil, o órgão responsável pela liberação de medicamentos, dentre outras atribuições é a ANVISA. Segundo este órgão, devido sobretudo a carência de dados toxicológicos, o fruto noni é proibido de ser comercializado para fins fitoterápicos. O trabalho aqui apresentado afirma a incapacidade do extrato aquoso do noni causar danos no material genético de *D. melanogaster* nas concentrações de 50 a 6,25%. No entanto, mais pesquisas devem ser conduzidas no intuito de identificar os ingredientes ativos para tratamento de diferentes desordens humanas.

5. CONCLUSÃO

Concluimos que o extrato de *M. citrifolia* na concentração de 100% apresenta efeito tóxico. Em nenhuma das concentrações testadas foi observado efeito carcinogênico. Mais estudos devem ser conduzidos usando outras concentrações, outros organismos modelos e outros ensaios, visando sobretudo contribuir na segurança toxicológica de utilização do extrato em âmbito popular.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Informe Técnico nº. 25, de 29 de maio de 2007.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507.htm>. Acesso em 04 Março de 2017.

ALENCAR, M.V.O. B.; SILVA, M. B. S.; PAZ, M. F. C. J.; MORAES, G. P.; NUNES, A. T.; CAVALCANTE, A. A. C. M.. Genotoxicidade e nefrotoxicidade da *Morinda citrifolia* em estudos pré-clínicos: riscos à saúde pública. **Revista Interdisciplinar**, Teresina v.6, n.1, p.1-8, jan/fev/mar. 2013.

CÂNDIDA, T.; FRANÇA, J. P.; CHAVES, A. L. F.; LOPES, A. R.; GAIBA, S.; SACRAMENTO, C. K.; FERREIRA, L. M.; FRANÇA, L. P.. Evaluation of antitumoral and antimicrobial activity of *Morinda citrifolia* L. grown in Southeast Brazil. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v. 29, n.2, p. 4-10. 2014.

CENTRO DE COMBATE AO CÂNCER. O que é o câncer. Disponível em: <<http://cccancer.net/o-cancer/o-que-e-o-cancer/>>. Acesso em 04 Março de 2017.

DANTAS, E. L. R.; SÁ, F. H. L.; CARVALHO, S. M. F.; ARRUDA, A. P.; RIBEIRO, E. M.; RIBEIRO, E. M.. Genética do Câncer Hereditário. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, 55(3): 263-269, maio. 2009.

Dr. LUIZ ALBERTO SILVEIRA; Dr. LUCAS VAN de SANDE SILVEIRA.. **Oncologia Clínica Florianópolis: O que é, como se forma.** Disponível em: <http://www.oncologiaclinicafloropolis.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=47:entenda-o-cancer&catid=14:sobre-o-cancer>. Acesso em 27 de Abril de 2017.

FRANCHI, L.P.; GUIMARÃES, N.N.; LEHMANN, M.; ANDRADE, H.R.; CUNHA, K.S. Ausência de efeito tóxico-genético de *Morinda citrifolia* (Noni) em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. **Revista eletrônica de farmácia**, Universidade Federal de Goiás, v. 3, n.1, p. 46-53, 2008.

FRANCHI, L. P.; GUIMARÃES, N. N.; ANDRADE, L. R.; ANDRADE, H. R. H.; LEHMAN, M.; DIHL, R. R.; CUNHA, K.. Antimutagenic and antirecombinogenic activities of noni fruit juice in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Anais da Academia Acadêmica de Ciências**, V. 85, n. 2, p. 585-594, 2013.

GERARD MANNING. Uma introdução rápida e simples a *Drosophila melanogaster*. Disponível em: <<http://ceolas.org/VL/fly/intro.html>>. Acesso em: 01 de Maio de 2017.

GRAF, U.; WURGLER, F. E.; FREI, H.; JUON, H.; HALL, C. B.; KALE, P. G.. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Environmental Mutagenesis**, 6, p. 153-188, 1984.

GRAF, U.; SCHAİK, N. V.. Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research**. 271: 59-67, 1992.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER (INCA). Câncer, o que é. Disponível em: < <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/oquee>>. Acesso em 04 Março de 2017.

INSTITUTO ONCOGUIA. Alterações nos Genes. Disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/alteracoes-nos-genes/8160/73/>>. Acesso em 20 de Março de 2017.

JÉSSICA CARVALHO. ***Drosophila Melanogaster* e a Genética do Desenvolvimento.** Disponível em: <<http://www.universoracionalista.org/drosophila-melanosgaster-e-genetica-do-desenvolvimento/>>. Acesso em 25 Março de 2017.

KALLUF, L, J, H. **Fitoterapia funcional: dos princípios ativos à prescrição de fitoterápicos.** São Paulo: VP Editora, 2008. 304p.

LIM, S, L.; MUSTAPHA, N, M.; GOH, Y, M.; BAKAR, N, A,A.; MOHAMED, S.. Metastased lung cancer suppression by *Morinda citrifolia* (Noni) leaf compared to Erlotinib via anti-inflammatory, endogenous antioxidant responses and apoptotic gene activation. **Mol Cell Biochem**, 2016 May;416(1-2):85-97.

MATOSO, L. M. L.; MELO, C. C. R.; MENEZES, L. M. C.; OLIVEIRA, L. E.; OLIVEIRA, K. K. D.. Características e a utilização do noni (*Morinda citrifolia*). **C&D-Revista Eletrônica da Fainor**, Vitória da Conquista, v.6, n.1, p.42-50, jan/jun, 2013.

MARQUESA, N, F, Q.; MARQUESA, A,P, B, M.; IWANO, A, L.; GOLINA, M.; CARVALHO, R, R.; PAUMGARTTENB, F, J, R.; DALSENTERA, P, R.. Delayed ossification in Wistar rats induced by *Morinda citrifolia* L. exposure during pregnancy. **Journal of Ethnopharmacology**. v.128, p. 85–91, 2010.

MORAIS, C. R.; BONETTI, A. M.; CARVALHO, S. M.; REZENDE, A. A. A.; ARAUJO, G. R.; SPANÓ, M. A.. Assessment of mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of Fipronil insecticide in somatic cells of *Drosophila melanogaster*, **Chemosphere**, v. 165, p.342-351, 2016.

MULLER, J, C.; BOTELHO, G, G, K.; BUFALO, A, C.;BOARETO, A, C.; RATTMANN, Y, D.; MARTINS, E, S, M.; CABRINI, D, A.; OTUKI, M, F.; DALSENTER, P, R.. *Morinda citrifolia* Linn (Noni): *In vivo* and *in vitro* reproductive toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 121, p. 229–233, 2010.

OTONI, W. C.; RIBEIRO, A. P. O.. **Teste de Mutação e Recombinação Somáticas (SMART): o que é e em que se aplica ?.** Disponível em: <<http://arquivo.ufv.br/dbg/seminar/resu0010.htm>>. Acesso em 26 de Abril de 2017.

PACHAURI, S, D.; VERMA, P, R, P.; DWIVEDIA, A, K.; TOTA, S.; KHANDELWAL, K.; SAXENAC,J, K.; NATHD, C.. Ameliorative effect of Noni fruit extract on streptozotocin-induced memory impairment in mice. **Behavioural Pharmacology**. V. 24, n. 4, 2013.

PIMENTEL, D. D.; MEIRA, A. M. B.; ARAUJO, C. R. F.; PEIXOTO, M. I. Uso de Noni por pacientes oncológicos. **Revista Saúde e Ciência online**, Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, 5(1): 37-44, 2016.

RUI ARTUR P.L. GOMES.. **PROTOCOLO - Utilização de Drosophila em Genética: 1ª Parte**. Departamento de Biologia Vegetal - Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. P. 6. jan. 2001.

SHALAN, M.N.A.A., MUSTAPHA, N.M., MOHAMED, S. Chronic toxicity evaluation of *Morinda citrifolia* fruit and leaf in mice, **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 2016.

SECRETTI, L. C.; OSHIRO, A. M.; OLIVEIRA, V. S.. Características físicas e químicas da polpa *in natura* da fruta noni (*Morinda citrifolia* L.), **A Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e da Terra Produção/construção e tecnologia**, Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN, v. 4, n. 7, 2015.

SILVA, L. R.; MEDEIROS, P. V. Q.; LEITE, G. A.; SILVA, K. J. P.; MENDONÇA, V.; SILVA, G. G.. Caracterização do fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni), **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**, vol.17 n.1 Ciudad de la Habana ene.mar.2012.

SOLOMON, N.. **O fruto tropical de 101 aplicações medicinais: Suco de Noni**. 1ª ed. Vineyard: Utah; 1999. 31p.

SOUSA, J. S. B.. **O uso de *Morinda citrifolia* L. (noni) como terapia alternativa na saúde humana: uma revisão de literatura**. Disponível em: <http://www.cstr.ufcg.edu.br/grad_cienc_bio/tcc_15_1/05_jakelyne_suelen_bezerra_de_souza_2015_1.pdf>. Acesso em 24 Fevereiro de 2017.

TOMBOLATO, A. F. C.; BARBOSA, W.; HIROCE, R.. Noni: frutífera medicinal em introdução e aclimação no Brasil. Informações técnicas: **O agrônomo**, Campinas. V. 57, n. 1, 2001.

VALE, C. R.; OLIVEIRA, C. M. A.; CHEN-CHEN, L.. **Avaliação da atividade citotóxica, genotóxica e antigenotóxica da seiva *Hymenaea courbaril* L. em células somáticas de *Drosophila melanogaster***. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/mestrado/trabalhos-mestrado/mestrado-camila-regina.pdf>>. Acesso em 20 Março de 2017 .

WANG, M, Y.; ANDERSON, G.; NOWICKI, D.; JENSEN, J.. Hepatic Protection by Noni Fruit Juice Against CCl4-Induced Chronic Liver Damage in Female SD Rats. **Plant Foods Hum Nutr**, v. 63, p.141–145, 2008.

WANG, M, Y.; NOWISKI, D.; ANDERSON, G.; JENSEN, J.; WEST, B.. Liver Protective Effects of *Morinda citrifolia* (Noni). **Plant Foods Hum Nutr**. V.63, p.59–63, 2008.

WEST, B.J., SU, C.X., JENSEN, J. Hepatotoxic and subchronic toxicity tests of *Morinda citrifolia* (noni) fruit, **The Journal of Toxicological Sciences (J.Toxicol. Sci)** vol.34, n.5, p.581-585, 2009.

OLIVEIRA, A.C; MORAIS, C.R

WEST, B, J.; SU, C, X.; JENSEN, J.. Prenatal toxicity test of *Morinda citrifolia* (noni) fruit. **The Journal of Toxicological Sciences** (J. Toxicol. Sci.). vol 33, n5, p. 647-649, 2008.

WESTENDORF, J.; EFFENBERGER, K.; IZNAGUEN, H.; BASAR, S.. Toxicological and Analytical Investigations of Noni (*Morinda citrifolia*) Fruit Juice. **Journal Agricultural and Food Chemistry.**, V. 55, n. 2, 2007.

YASSINA, A.; DEBATO, V.; BASTIDEA, H.; GIDASZEWSKI, N.; DAVID, J, R.; POOLA, J, E.. Recurrent specialization on a toxic fruit in an island *Drosophila* population. **PNAS Early Edition.** April 26, 2016 | vol. 113 | no. 17 | 4771–4776. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/113/17/4771.full.pdf>>. Acesso 15 setembro 2017.

YUCE,B.; GULBERG, V.; DIEBOLD, J.; GERBES, A, L.. Hepatitis Induced by Noni Juice from *Morinda citrifolia* : A Rare Cause of Hepatotoxicity or the Tip of the Iceberg?. **Digestion** v.168, p.167–170, 2006