



El extracto acuoso de *Retama sphaerocarpa* induce daño citotóxico y genotóxico en células meristemáticas de *Allium sativum*

Aqueous extract of *Retama sphaerocarpa* induces cytotoxic and genotoxic damage in meristematic cells of *Allium sativum*

Katia Alejo-Martínez¹; Héctor Javier Espíritu-Sánchez¹; Patricia Álvarez-Fitz¹;
Ma. Elena Moreno-Godínez¹; Marco Antonio Ramírez-Vargas^{1,*}

¹ Facultad de Ciencias Químico Biológicas; Universidad Autónoma de Guerrero, Laboratorio de Toxicología y Salud Ambiental, Av. Lázaro Cárdenas s/n. C.P. 39090 Ciudad Universitaria, Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México.

* Autor correspondiente: marvar@uagro.mx; marvariant@gmail.com (M. A. Ramírez-Vargas).

ORCID de los autores:

Ma. E. Moreno-Godínez: <https://orcid.org/0000-0001-7080-6323>

M.A. Ramírez-Vargas: <https://orcid.org/0000-0002-2066-2066>

RESUMEN

En México la ingesta de extractos acuosos obtenidos a partir de plantas medicinales es un elemento frecuentemente utilizado para tratar diversas enfermedades. Existe poca o nula información sobre la evaluación del potencial tóxico de las plantas medicinales. *Retama sphaerocarpa* (*R. sphaerocarpa*) es una planta utilizada como una planta medicinal, sin embargo, existe poca información sobre su potencial tóxico. Por tal motivo, en el presente estudio se ha evaluado los efectos citotóxicos, genotóxicos y citostáticos del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa* utilizando las células meristemáticas de *Allium sativum* (*A. sativum*). Los primordios radiculares de los bulbillos de *A. sativum* se expusieron por 72 h a 5 g/L o 10 g/L del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa*, la longitud de raíz, la presencia de aberraciones cromosómicas y el índice de división mitótica fueron determinados. Los resultados indican que el extracto acuoso de *R. sphaerocarpa* (5 g/L o 10 g/L) induce daño citotóxico, genotóxico y citostático indicando su posible toxicidad y evidencia el posible riesgo a la salud asociado a su consumo.

Palabras clave: *Retama sphaerocarpa*; genotoxicidad; citotoxicidad; aberraciones cromosómicas.

ABSTRACT

The ingestion of aqueous extracts from medicinal plants is frequently used in Mexico to treat various diseases. *Retama sphaerocarpa* (*R. sphaerocarpa*) is a medicinal plant. However, there needs to be more information about its toxic potential. For this reason, the present study evaluated the cytotoxic, genotoxic, and cytostatic effects of the aqueous extract of *R. sphaerocarpa* using meristematic cells of *Allium sativum* (*A. Sativum*). Root primordia from *A. sativum* bulblets were exposed for 72 h to 5 g/L or 10 g/L of *R. sphaerocarpa* aqueous extract. Root length, presence of chromosomal aberrations and mitotic division rate were determined. The results indicate that the aqueous extract of *R. sphaerocarpa* (5 g/L or 10 g/L) induces cytotoxic, genotoxic, and cytostatic damage predicting its possible toxicity and evidence of possible health risks associated with its consumption.

Keywords: *Retama sphaerocarpa*; genotoxicity; cytotoxicity; chromosomal aberrations.

Recibido: 20-04-2024.

Aceptado: 25-08-2024.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCCIÓN

En los países en vías de desarrollo, alrededor del 80% de la población utiliza la medicina tradicional para tratar diversas enfermedades, por lo que el uso de plantas medicinales autóctonas e introducidas (asiáticas y africanas) es frecuente (Nava et al., 2020; Touati et al., 2015).

R. sphaerocarpa conocida popularmente como retama amarilla y Retam es un arbusto perteneciente a la familia de las Fabáceas. Esta planta es originaria de la zona mediterránea de noreste de África y de la península ibérica y se ha utilizado en la medicina tradicional como: purgante, antihelmíntico, cicatrizante, antiséptico, sedante local y como diurético para tratar patologías de tipo renal (Morales Valverde, 1995; Pardo de Santayana et al., 2018). Hay pocos estudios sobre la composición fitoquímica de los extractos obtenidos de *R. sphaerocarpa*, pero se ha reportado la presencia de alcaloides (como compuestos predominantes) y compuestos fenólicos en las partes aéreas (hojas y tallos) de la planta (Touati et al., 2015). De los compuestos fenólicos caracterizados en los extractos de *R. sphaerocarpa* se encuentran principalmente la vitexina y el ácido piscídico (El Baakili et al., 2023). Además, los extractos metanólicos de *R. sphaerocarpa* poseen actividad citotóxica y microbicida (López-Lázaro et al., 2002; Louaar et al., 2007). Recientemente, se han reportado los efectos de la exposición aguda y subcrónica de la ingesta oral del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa* en ratas Wistar, los resultados indican la inducción de efectos hematotóxicos y de alteración de transaminasas en tejido cardíaco y renal (Moujane

et al., 2024). Por lo anterior, es necesario evaluar el potencial tóxico de *R. sphaerocarpa*, ya que esta planta es ingerida en forma de té (decocciones) y el extracto acuoso obtenido se caracteriza por su alta heterogeneidad en su composición química (Bucciarelli et al., 2014).

Un bioensayo que es utilizado para determinar con precisión la citotoxicidad y genotoxicidad de diferentes sustancias lo constituye el ensayo de "Allium-test". El ensayo se fundamenta en la rápida división celular de las células meristemáticas del tejido radicular (raíz). Generalmente el ensayo sirve para probar sustancias que son miscibles en agua o sustancias capaces de generar sedimentos. Al hidratar los primordios radiculares de un bulbo de *Allium cepa* L. (cebolla) o *A. sativa* (ajo) se induce el nacimiento y crecimiento de raíces atribuido a la rápida división de las células meristemáticas del tejido radicular. Sin embargo, si la sustancia utilizada para la hidratación tiene un potencial tóxico se puede inducir la muerte celular o la inhibición la división celular de las células meristemáticas resultando en la alteración del crecimiento normal de la raíz. Además, este bioensayo permite realizar una evaluación microscópica de las células meristemáticas para evaluar alteraciones en la división celular o la presencia de daño genotóxico (Kumar et al., 2022; Olaru et al., 2020; Rodrigues et al., 2010; Velázquez et al., 2022). Por lo que en el presente trabajo de investigación se determinó en efecto citotóxico y genotóxico de *R. sphaerocarpa* sobre poblaciones celulares de tejido meristemático radicular de *Allium sativum*.

METODOLOGÍA

Materia prima e insumos

R. sphaerocarpa (Retamón ®; triturado de flores y tallos) se adquirió en una herbolaria con distribución nacional. Se realizó una decocción siguiendo las indicaciones del fabricante. Para ello se pesaron 5 g y 10 g del triturado por separado y se colocaron en un litro de agua potable libre de sodio (Gerber ®) a 98 °C. El extracto acuoso obtenido se llevó a temperatura ambiente, se filtró y se colocó en tubos cónicos, las concentraciones finales de los extractos fueron de 5 g/L o 10 g/L.

Ensayo de *Allium sativum*

El sistema biológico consistió en bulbos de *A. sativum* sin crecimiento previo de raíces o tallos los cuales fueron adquiridos a comerciantes locales, cada bulbo fue inspeccionado para descartar infecciones por hongos fitopatógenos.

Posteriormente, los bulbos fueron disgregados y cada bulbillo se limpió con una solución al 0,01% (v/v) de hipoclorito de sodio. En los bulbillos asépticos, se promovió el desarrollo de raíces, para tal fin los primordios radiculares de cada bulbillo entraron en contacto con los extractos acuosos de *R. sphaerocarpa* (5 g/L o 10 g/L) o agua potable (como control negativo); los grupos experimentales se almacenaron en oscuridad y a temperatura

ambiente. Cada 24 h, el agua potable o los extractos acuosos fueron cambiados. Para cada una de las condiciones experimentales se utilizaron 5 bulbillos en tres momentos independientes.

Evaluación del efecto citotóxico

Para la evaluación del efecto citotóxico, los bulbillos fueron expuestos a 5 g/L o 10 g/L del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa*. Como control negativo se utilizó agua potable libre de sodio. Posteriormente el tamaño de las raíces fue monitoreado a las 24 h, 48 h y 72 h. Se utilizaron 5 bulbillos por cada condición experimental y por cada bulbillo se midieron 20 raíces con la ayuda de un vernier digital, en dos momentos independientes (n = 200 raíces por condición ensayada).

Evaluación del efecto citostático

Para la evaluación del efecto citostático y genotóxico, se realizó un análisis microscópico de las células meristemáticas de la raíz. Posterior a 72 h de exposición con los tratamientos (5 y 10 g/L) o control negativo, las raíces fueron cortadas (considerando 1 cm a partir de la zona apical) y fijadas por 24 h en solución de Clarke (75 mL etanol absoluto + 25 mL de ácido acético glacial) a -20 °C. Después de la fijación, fueron sometidas a digestión

con 1 mL de hidróxido de sodio (NaOH, 5 M) por 10 min a 37 °C, posteriormente se lavaron con agua destilada a 4 °C y se almacenaron en solución de Clarke a -20 °C hasta su tinción. La tinción del núcleo celular se realizó utilizando 2 mm de la raíz considerando desde la cofia, para ello se retiró la cofia de la raíz y al segmento elegido se le agregó 50 µL de orceína (Sigma-Aldrich) al 2% (p/v en ácido acético glacial) y se realizó la técnica de squash. Se estimó el índice mitótico (IM):

$$IM = [(células\ en\ interfase + células\ en\ telofase + células\ en\ anafase + células\ en\ metafase + células\ en\ profase) / total\ de\ células] * 100\%$$

Evaluación del daño genotóxico

El daño genotóxico se evaluó identificando aberraciones cromosómicas o nucleares siguiendo las

recomendaciones de (Bonciu et al., 2018). Para ellos se evaluaron células en cualquier fase de la mitosis. Para cada condición ensayada el IM y el daño genotóxico se evaluó por triplicado y en dos momentos independientes considerando 300 células en total (n = 1800 células por condición ensayada).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) con prueba Dunnett post hoc. La frecuencia de aberraciones cromosómica o nucleares se evaluó mediante la prueba exacta de Fisher. Se consideró un valor de p < 0,05 como estadísticamente significativo. El análisis se realizó en el software Stata v.16, y las gráficas se elaboraron en el software Graphpad v.8.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El consumo de plantas medicinales como un elemento terapéutico en México es frecuente. Varias plantas son indicadas para el tratamiento de diversas patologías, la prescripción de estas se realiza en función de conocimientos empíricos o tradicionales. Generalmente el uso de decocciones "Tes" es la forma más empleada para consumir plantas medicinales. Sin embargo, existe un alto riesgo a la salud relacionado con el consumo de plantas medicinales, principalmente asociado a la nula estandarización de las dosis utilizadas y por falta de ensayos clínicos que permitan evaluar la seguridad y eficacia de las plantas medicinales utilizadas. Además, existe escasa información sobre la composición química de los extractos acuosos obtenidos a partir de las decocciones, los cuales se caracterizan por una heterogénea composición química. En el presente estudio, se ha evaluado el potencial citotóxico, citostático y genotóxico del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa* en células meristemáticas de *A. sativum*, los resultados obtenidos demuestran la inducción de efectos citotóxicos, citostáticos y genotóxicos indicando el potencial riesgo a la salud relacionado con el consumo de extractos acuosos de *R. sphaerocarpa*.

La evaluación del potencial tóxico de las sustancias a las cuales se expone el ser humano es primordial para poder evaluar el riesgo a la salud. La evaluación del potencial tóxico se realiza utilizando sistemas que proporcionen resultados fiables y con significado biológico. En este sentido, el uso de plantas superiores en la evaluación toxicológica permite obtener resultados robustos con diferentes repercusiones biológicas (Kristen 1997). El ensayo utilizando plantas del género *Allium* como *A. cepa* o *A. sativum* permite identificar alteraciones del crecimiento de raíz, daño genotóxico y efecto citostático (Leme & Marin-Morales, 2009). La evaluación comienza cuando los primordios radiculares de *A. sativum* entran en contacto con la sustancia a analizar y se induce la división de las células meristemáticas que promueven la elongación del tejido radicular. El ciclo celular de las células meristemática de *A. sativum* se completa cada 22,1 h a 22-24 °C, por lo que periodos de exposición a 48 h o 72 h

corresponden a la segunda y tercera división celulares, respectivamente (Taylor & Clowes, 1978). Por lo que, la evaluación de la longitud de las raíces de los bulbillos se considera como un marcador macroscópico del potencial citotóxico de las sustancias analizadas (FISKESJO, 1993).

Potencial citotóxico del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa*

La exposición por 24 h al extracto acuoso de *R. sphaerocarpa* (5 g/L o 10 g/L) no indujo cambios en el tamaño (longitud) de las raíces de los bulbillos (Figura 1). Sin embargo, a 48 y 72 h de exposición se observó una disminución abrupta del crecimiento de las raíces en comparación con el control negativo. La concentración de 5 g/L produjo la disminución de 7,2 mm y 17,8 mm en el tamaño de las raíces a 48 y 72 h de exposición respectivamente. Una disminución de 7,5 mm y 18,6 mm en el tamaño de raíces se observó al exponer a los lobulillos a 10 g/L por periodos de 48 h y 72 h. Solo los tratamientos con exposición de 48 h y 72 h mostraron cambios estadísticamente significativos (p < 0,001).

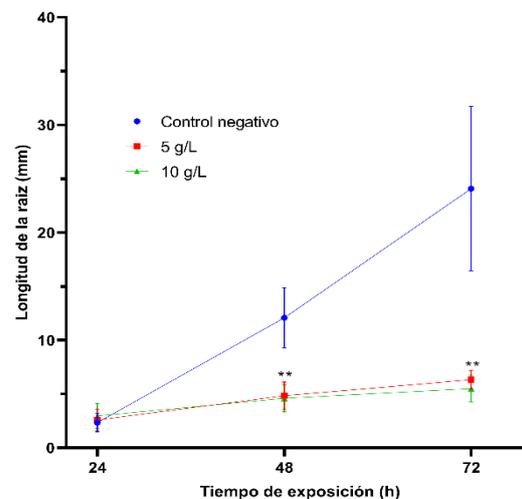


Figura 1. Efecto citotóxico del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa*. Los datos representan la media y desviación estándar. ** valor de p < 0,001 estimado a partir de la prueba de Dunnett.

La reducción de la longitud de la raíz de los bulbillos tratados en comparación con el control negativo sugiere que la sustancia química probada induce un estrés en las células meristemáticas, el estrés puede resultar en alteraciones del ciclo celular, daño genotóxico o inducción de muerte celular por necrosis o apoptosis (Velázquez et al., 2022).

Se ha observado que los extractos acuosos de *R. sphaerocarpa* obtenidos por infusión (agua a una temperatura de 65°C) se caracterizan por altas concentraciones de alcaloides (Hammouche-Mokrane et al. 2017), los alcaloides son compuestos orgánicos nitrogenados a los cuales se les ha atribuido potencial citotóxico (Shi et al., 2014). La mayoría de los alcaloides poseen potencial prooxidante al promover el incremento desmesurado de las especies reactivas del oxígeno que resulta en el daño oxidativo de macromoléculas como proteínas, lípidos y ADN. El daño oxidativo genera la muerte celular por apoptosis o necrosis (Habli et al., 2017).

Potencial citostático del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa*

La exposición por 72 h al del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa* indujo una reducción en el IM de las células meristemáticas de *A. sativum*. En comparación con el control negativo, la concentración de 5 g/L redujo 30,1% del IM, mientras que la concentración de 10 g/L redujo 32,3% del IM (Figura 2).

El IM indica la capacidad de división celular de las células meristemáticas, el incremento en el IM respecto al control, indica que la sustancia química probada promueve la división celular, mientras que la reducción en el IM se relaciona con el arresto del ciclo celular (Khanna & Sharma 2013), en el presente estudio el extracto acuoso de *R. sphaerocarpa* disminuyó el IM. Como se indicó anteriormente los alcaloides son compuestos predominantes en los extractos obtenidos de *R. sphaerocarpa*. En este sentido, alcaloides como la clausenidina promueve el arresto del ciclo celular incrementando el número de células en fase G0 y

G1 (Waziri et al., 2016), esto podría explicar la alta frecuencia de células en interfase y subsecuente reducción del IM observado en el presente estudio.

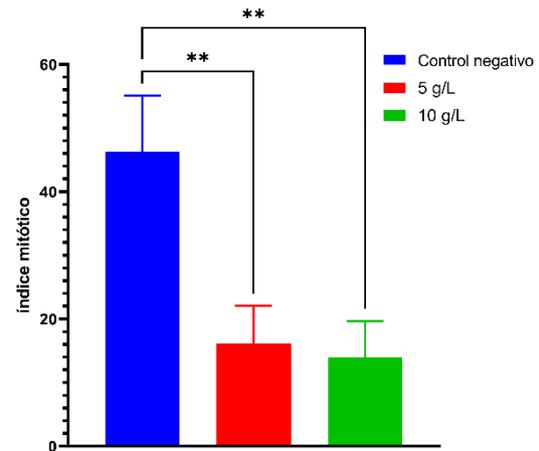


Figura 2. Efecto citostático del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa*. Se evaluó el IM, los datos representan la media y desviación estándar. ** p < 0,01 estimado a partir de la prueba Dunnet.

Potencial genotóxico del extracto acuoso de *R. sphaerocarpa*

Las aberraciones cromosómicas y nucleares que con mayor frecuencia se observaron en las células meristemáticas de *A. sativum* se muestran en la Figura 3. El conteo de los marcadores de daño genotóxico muestra que la fragmentación cromosómica (Figura 3a) y la telofase con cromosoma aberrante (Figura 3e) fueron marcadores que se presentaron con mayor frecuencia en las raíces expuestas al extracto acuoso (5 g/L o 10 g/L). La anafase con fragmentación cromosómica (Figura 3b), metafase tipo c (Figura 3c), y la anafase multipolar (Figura 3d) fueron marcadores que solo se observaron en los grupos tratados con el extracto acuoso. El incremento en frecuencia de estos se relacionó con la concentración del tratamiento (10 g/L > 5 g/L). Finalmente, la erosión nuclear en células gigantes (Figura 3f) solamente observó en las raíces expuestas a 10 g/L.

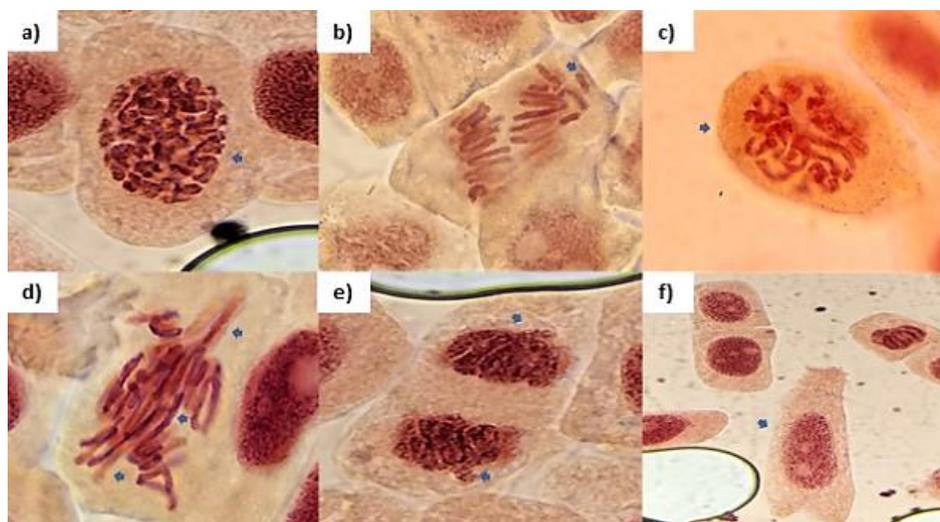


Figura 3. Aberraciones cromosómicas inducidas por el extracto acuoso de *Retama sphaerocarpa* en células meristemáticas de *Allium sativum*. a) Célula con fragmentación cromosómica, b) Anafase con fragmentación cromosómica, c) metafase tipo C, d) Anafase multipolar con puentes cromosómicos, e) Telifase con cromosoma errante, f) Erosión nuclear en célula gigante.

Tabla 1Frecuencia de marcadores de daño genotóxico en células meristemáticas de *A. sativum*

| Marcador | Control | 5 g/L | 10 g/L | p |
|---------------------------------------|---------|-------|--------|------|
| Fragmento cromosómico | 6 | 30 | 30 | 0,03 |
| Anafase con fragmentación cromosómica | 0 | 4 | 5 | |
| Metafase tipo C | 0 | 1 | 0 | |
| Anafase multipolar | 0 | 4 | 7 | |
| Telofase con cromosoma errante | 1 | 2 | 6 | |
| Erosión nuclear en célula gigante | 0 | 0 | 9 | |

Los valores representan la frecuencia absoluta de marcadores observada en 300 células en 3 réplicas en dos momentos independientes (n = 1800 células por cada condición ensayada). *Valor de p estimado por la prueba exacta de Fisher.

Las aberraciones cromosómicas pueden ser inducidas espontáneamente o por la exposición a agentes genotóxicos. La capacidad de los compuestos para inducir la fragmentación de los cromosomas (efecto clastogénico) se evidencia por la presencia de puentes y la fragmentación cromosómica; mientras que la multipolaridad, cromosomas errantes y la metafase c indican el efecto aneugénico que se caracteriza por el incremento en el número de cromosomas “perdida o ganancia” y se atribuye a una mala segregación cromosomal relacionada con una deficiencia funcional/estructural del cinetocoro (Leme & Marin-Morales, 2009). En el presente estudio se observaron aberraciones cromosómicas y nucleares que indican el potencial aneugénico y clastogénico de los extractos acuosos de *R. sphaerocarpa*. Los extractos de *R. sphaerocarpa* obtenidos a partir de solventes orgánicos como

butanol, cloroformo o acetato de etilo indujo el 50% de muerte celular en líneas celulares de adenocarcinoma renal, cáncer de mama y melanoma (en concentraciones > 0,25 g/L por 24 h) (López-Lázaro et al., 2000). Este potencial citotóxico de los extractos de *R. sphaerocarpa* fueron atribuidos al efecto de inhibición sobre ADN topoisomerasas que puede promover daño genotóxico (López-Lázaro et al., 2002). Se ha reportado que la administración por 28 días de extractos metanólicos de *Retama raetam* a dosis de 250 mg/kg, 500 mg/kg o 750 mg/kg de peso corporal en ratas indujo nefrotoxicidad y daño genotóxico, los autores sugieren que el potencial tóxico del género *Retama* podría atribuirse a la presencia de altas concentraciones de alcaloides en su composición (Algandaby, 2015).

CONCLUSIONES

El presente estudio demuestra el potencial genotóxico del extracto acuoso de *Retama sphaerocarpa* y evidencia la importancia de realizar un tamizaje toxicológico de las plantas medicinales utilizadas por la población evidenciado el posible riesgo a la salud. Además, demuestra el potencial uso de *Allium sativum* como un bioensayo robusto que permite valorar el potencial tóxico de diversas

sustancias que pueden ser consideradas como inocuas como son las decocciones de plantas medicinales. Más estudios son necesarios para dilucidar los mecanismos moleculares relacionados a la inducción del daño genotóxico inducido por *Retama sphaerocarpa*, entre ellos la determinación del daño oxidativo al ADN y de la evaluación de la capacidad de reparación del daño genotóxico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al proyecto 322334 de Infraestructura 2022 del CONACyT. “Fortalecimiento de la infraestructura de los laboratorios de Toxicología y Microbiología de la UAGro para

promover el trabajo interdisciplinar de grupos de investigación con impacto en la atención de retos en salud y soberanía alimentaria en Guerrero”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Algandaby, M. M. (2015). Assessment of acute and subacute toxic effects of the Saudi folk herb *Retama raetam* in rats. *Journal of the Chinese Medical Association*, 78(12), 691-701. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2015.06.011>
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D. S., Popescu, A., Romanovsky, A. V., Schiff, S., Ślusarczyk, J., de Souza, C. P., Srivastava, A., Sutan, A., & Papini, A. (2018). An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*, 71(3), 191-209. <https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496>
- Bucciarelli, A., Moreno, M., & Skliar, M. (2014). Efectos adversos de plantas medicinales y sus implicancias en salud. *Revista de la Asociación Médica de Bahía Blanca*, 24(1), 30.
- El Baakili, A., Fadi, M., & Es-Safi, N. E. (2023). Ultrasonic-assisted extraction for phenolic compounds and antioxidant activity of Moroccan *Retama sphaerocarpa* L. leaves: Simultaneous optimization by response surface methodology and characterization by HPLC/ESI-MS analysis. *Heliyon*, 9(6), e17168. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17168>
- FISKESJO, G. (1993). The allium test in waste-water monitoring. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 8(3), 291-298. <https://doi.org/10.1002/tox.2530080306>
- Habli, Z., Toumeh, G., Fatfat, M., Rahal, O. N., & Gali-Muhtasib, H. (2017). Emerging Cytotoxic Alkaloids in the Battle against Cancer: Overview of Molecular Mechanisms. *Molecules*, 22(2), Art. 2. <https://doi.org/10.3390/molecules22020250>
- Hammouche-Mokrane, N., León-González, A. J., Navarro, I., Boulila, F., Benallaoua, S., & Martín-Cordero, C. (2017). Phytochemical Profile and Antibacterial Activity of *Retama raetam* and *R. sphaerocarpa* claddodes from Algeria. *Natural Product Communications*, 12(12), 1934578X1701201211. <https://doi.org/10.1177/1934578X1701201211>

- Khanna, N., & Sharma, S. (2013). Allium cepa root chromosomal aberration assay: A review. *Indian journal of pharmaceutical and biological research*, 1(3), 105-119.
- Kristen, U. (1997). Use of higher plants as screens for toxicity assessment. *Toxicology in Vitro*, 11(1), 181-191. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(97\)00005-2](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(97)00005-2)
- Kumar, V., Ameen, F., Islam, M., Agrawal, S., Motghare, A., Dey, A., Shah, M., Americo-Pinheiro, J., Singh, S., & Ramamurthy, P. (2022). Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity effects of refractory pollutants of untreated and biomethanated distillery effluent using Allium cepa. *Environmental Pollution*, 300. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118975>
- Leme, D., & Marin-Morales, M. (2009). Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*, 682(1), 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>
- López-Lázaro, M., Martín-Cordero, C., Cortés, F., Piñero, J., & Ayuso, M. J. (2000). Cytotoxic activity of flavonoids and extracts from Retama sphaerocarpa Boissier. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(1-2), 40-43.
- López-Lázaro, M., Martín-Cordero, C., Toro, M. V., & Ayuso, M. J. (2002). Flavonoids as DNA topoisomerase I poisons. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 17(1), 25-29.
- Louaar, S., Akkal, S., Laouer, H., & Guilet, D. (2007). Flavonoids of Retama sphaerocarpa leaves and their antimicrobial activities. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(5), 616-617.
- Morales Valverde, R. (1995). Plantas y cultura popular: La etnobotánica en España. Retamas y retamares.
- Moujane, S., Bouadid, I., Bouymajane, A., Younes, F. Z., Benlyas, M., Mohammed, B., Cacciola, F., Vinci, R. L., Tropea, A., Mondello, L., Altemimi, A. B., Eddouks, M., & Moulaj, B. (2024). Biochemical and toxicity evaluation of Retama sphaerocarpa extracts and in-silico investigation of phenolic compounds as potential inhibitors against HPV16 E6 oncoprotein. *Fitoterapia*, 175, 105923.
- Nava, R. F., Sanchez, M. de la L. A., Solis, I. V., & García, D. L. Q. (2020). Plantas medicinales que se comercializan en el mercado 8 de Julio y uno tradicional, ambos localizados en el centro de Actopan, Hidalgo, México. *Polibotánica*, 50, 209-243.
- Olaru, A. L., Rosculete, E., Bonciu, E., Rosculete, C. A., & Sarac, I. (2020). Evaluation of the cytogenetic effects of Quantis biostimulant in Allium sativum cells. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(2), 681-691. <https://doi.org/10.15835/nbha48211788>
- Pardo de Santayana, M., Morales, R., Tardío, J., & Molina, M. (2018). Inventario español de los conocimientos tradicionales relativos a la biodiversidad. Fase II (1). Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid.
- Rodrigues, F., Angeli, J., Mantovani, M., Guedes, C., & Jordao, B. (2010). Genotoxic evaluation of an industrial effluent from an oil refinery using plant and animal bioassays. *Genetics and Molecular Biology*, 33(1), 169-175. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572010005000006>
- Shi, Q. I. U., Hui, S. U. N., Zhang, A.-H., Hong-Ying, X. U., Guang-Li, Y. A. N., Ying, H. A. N., & Xi-Jun, W. (2014). Natural alkaloids: Basic aspects, biological roles, and future perspectives. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(6), 401-406. [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(14\)60063-7](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(14)60063-7)
- Taylor, A. T., & Clowes, F. a. L. (1978). Temperature and the Coordination of Cell Cycles Within the Root Meristem of Allium Sativum L. *New Phytologist*, 81(3), 671-680. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1978.tb01642.x>
- Touati, R., Santos, S. A., Rocha, S. M., Belhamel, K., & Silvestre, A. J. (2015). Retama sphaerocarpa: An unexploited and rich source of alkaloids, unsaturated fatty acids and other valuable phytochemicals. *Industrial Crops and Products*, 69, 238-243. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.016>
- Velázquez, G., Pérez, B., Rodríguez, V., & Handal, A. (2022). Genotoxicity and cytotoxicity of Sambucus canadensis ethanol extract in meristem cells of Allium sativum. *Caryologia*, 75(1), 99-107. <https://doi.org/10.36253/caryologia-1307>
- Waziri, P. M., Abdullah, R., Yeap, S. K., Omar, A. R., Kassim, N. K., Malami, I., How, C. W., Etti, I. C., & Abu, M. L. (2016). Clausenidin induces caspase-dependent apoptosis in colon cancer. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, 256. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1247-1>