



FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE

PAULO SÉRGIO SANTOS DA CRUZ

**ANÁLISE MUTAGENICA DO EXTRATO DO CUNAMBI
AMAZÔNICO (*Clibadium surinamense*: JOHN
PRUSKI: ASTERACEAE), ATRAVÉS DO TESTE DE
MICRONÚCLEO EM *Allium cepa***

PAULO SÉRGIO SANTOS DA CRUZ

**ANÁLISE MUTAGENICA DO EXTRATO DO CUNAMBI
AMAZÔNICO (*Clibadium surinamense*: JOHN
PRUSKI: ASTERACEAE), ATRAVÉS DO TESTE DE
MICRONÚCLEO EM *Allium cepa***

Monografia apresentada ao curso de
graduação de Licenciatura em Química da
Faculdade de Educação e Meio Ambiente –
FAEMA, como requisito parcial à obtenção
do grau de licenciado em Química.
Prof. Orientador: Ms. Renato André Zan

PAULO SÉRGIO SANTOS DA CRUZ

**ANÁLISE MUTAGENICA DO EXTRATO DO CUNAMBI
AMAZÔNICO (*Clibadium surinamense*: JOHN
PRUSKI: ASTERACEAE), ATRAVÉS DO TESTE DE
MICRONÚCLEO EM *Allium cepa***

Monografia apresentada ao curso de
Graduação de Licenciatura em Química da
Faculdade de Educação e Meio Ambiente –
FAEMA, como requisito parcial à obtenção
do grau de licenciado em Química.
Prof. Orientador: Ms. Renato André Zan

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Orientador Ms. Renato André Zan
Faculdade de Educação e Meio Ambiente- FAEMA

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

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

Ariquemes, 28 de Junho de 2012

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado força nessa caminhada e por me dado auxílio ter chegado até aqui.

A família, aos meus pais e amigos por terem acreditado em mim e depositado suas expectativas a mim, e pela paciência, carinho, alegria que demonstraram ao longo desse trabalho.

Em especial meu amigo Luciano Santos Souza da Cruz que auxiliou na coleta das amostras que foram analisadas.

A minha esposa pelas horas de ausência e por estar ao meu lado me apoiando.

Aos colaboradores que me auxiliaram na orientação desse trabalho.

Aos meus professores que sempre estiveram me auxiliando durante a minha formação acadêmica, pela motivação dada a mim.

Em especial meu orientador Renato André Zan pela paciência, auxílio e pelas horas que me ofereceu na orientação do trabalho.

RESUMO

A espécie *Clibadium surinamense* conhecida popularmente como Cunambí tem um efeito que causa asfixia nos peixes. O presente estudo objetivou realizar uma análise mutagênica do extrato do Cunambí Amazônico (*C. surinamense*: John Pruski: Asteraceae), através do teste micronúcleo em *Allium cepa*. O experimento foi realizado com extratos obtidos das folhas de *C. surinamense* onde foi dividido em cinco tratamentos com alíquotas diferentes de extrato (0,05mL; 0,10mL; 0,25mL; 0,50mL e 1mL) em 50mL de H₂O destilada, sendo 10 repetições para cada alíquota. As lâminas foram analisadas em microscopia óptica, com objetiva de 40x e ocular de 10x tendo um aumento de 400x. Os micronúcleos foram observados a cada 1000 células por lâmina. Constatou-se que todos os tratamentos do extrato da folha de *C. surinamense*, não apresentaram significância estatística ($P > 0,05$) em relação ao controle negativo (CN), já o controle positivo (CP) com FeSO₄ apresentou significância estatística em relação ao CN.

Palavras-chaves: Mutagenicidade, *Clibadium surinamense*, Micronúcleo e *Allium cepa*.

ABSTRACT

The species *Clibadium surinamense* known as Cunambi has an effect that causes asphyxia in fish. The present study aimed to perform an analysis of the mutagenicity of pure extract of the Amazonian Cunambi (*C. surinamense* John Pruski; Asteraceae) through the micronucleus test in *Allium cepa*. The experiment was performed with extracts obtained from leaves of *C. surinamense* which was divided into five treatments with different percentages of extract (0, 5 ml; 0, 10 ml; 0, 25 ml; 0, 50 ml and 1 ml) in 50 ml of distilled H₂O, with 10 repetitions for each percentage. The slides were examined in optical microscopy with a 40x objective and 10x ocular with an increase of 400x. The micronuclei were observed at 1000 cells for slides. It was confirmed that both treatments with small and high doses of leaf extract of *C. surinamense* showed no statistical significance ($P > 0,05$), in relation to the negative control (CN), with FeSO₄ showed significance in relation to the CN.

Key words: Mutagenicity, *Clibadium surinamense*, Micronucleus, *Allium cepa*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Formação de micronúcleos em células.....	13
Figura 2- A) exsicata de <i>C. surinamense</i> (Herbarium, 2012); B) visão inferior da folha de <i>C. surinamense</i> ; C) visão superior da folha de <i>C. surinamense</i>	16
Figura 3- A) germinação de <i>A. cepa</i> em extrato da folha de <i>C. surinsmense</i> ; B) detalhe da germinação do <i>A. cepa</i>	18
Figura 4- A) Células de <i>A. cepa</i> (ocular:10x, objetiva 10x), B) Micronúcleo em célula de <i>A. cepa</i> (ocular:10x, objetiva 40x)	19
Figura 5-Média de números de micronúcleos encontrados em 1000 células de <i>A.</i> <i>cepa</i> , por dosagem em amostra de extrato da folhas de <i>C. surinamense</i> . Significativo para *** (P>0, 05)	21

LISTA DE ABREVIATURAS

FAEMA	Faculdade de educação e meio ambiente
C P	Controle positivo
C N	Controle negativo
N°	Números
A. CEPA	<i>Allium cepa</i>
C.SURINAMENSE	<i>Clibadium surinamense</i>
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 CUNAMBÍ.....	12
2.2 MUTAGENICIDADE	12
2.3 TESTE DE MICRONÚCLEO EM <i>A. cepa</i>	14
3 OBJETIVOS	15
3.1 OBJETIVO GERAL	15
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
4 METODOLOGIA	16
4.1 CLASSIFICAÇÃO CIENTÍFICA.....	16
4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO	17
4.3 ANÁLISE MUTAGÊNICA	17
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1 EXTRATO	20
5.2 MUTAGENICIDADE	20
CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
REFERÊNCIAS	23

INTRODUÇÃO

As plantas brasileiras, na sua grande maioria não têm suas composições químicas conhecidas pela ciência (SANTOS, 2009). Segundo Carneiro (2004) no descobrimento da América a botânica era um ramo da medicina e as investigações no mundo vegetal obedeciam aos interesses utilitários das aplicações fitoterápicas, as plantas eram estudadas para a busca de suas propriedades como alimentos e como drogas.

Quase todas as espécies do gênero *Clibadium* são encontradas na região amazônica, as quais são utilizadas pela população ribeirinha como forma de facilitar a pesca. Peixes que tiveram contato com a isca da folha de Cunambi apresentam quadro de agitação e hiperatividade seguida de paralisação e morte (FILGUEIRAS, 2010).

Algumas substâncias tóxicas encontradas nas plantas podem provocar efeitos indesejáveis ao material genético, como mutações celulares, evidenciadas pela presença de micronúcleos nas células. Os micronúcleos são pequenos corpos contendo Ácido Desoxirribonucléico (DNA) e se formam a partir da perda de partes de cromossomos, ou cromossomos inteiros que não se prendem ao fuso mitótico durante a anáfase, este é envolvido por uma membrana nuclear formando um pequeno núcleo (DIETZ et al., 2000).

Alguns testes são realizados para identificar e quantificar a presença de micronúcleos, o teste de micronúcleo em *Allium cepa* é bem aceito devido sua reprodução celular assemelhar-se com a reprodução celular em humanos (FISKESJO, 1993; POLETTO 2011).

Segundo Bagatini (2007) para a avaliação dos efeitos ou danos que os agentes mutagênicos podem causar, faz-se necessário que a amostra esteja em constante divisão mitótica, objetivando identificar os efeitos tóxicos e alterações ocorridas ao longo de um ciclo celular.

Para o teste de micronúcleo em *A. cepa* não há exigência de equipamentos elaborados e de aprovação de comitê de Ética e Pesquisa (CEP), é de baixo custo tem um curto período de tempo necessário para elaboração, sendo bem visto pela comunidade científica mundial e além do curto período de tempo necessário para a elaboração do teste (POLETTO, 2011).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CUNAMBÍ

Clibadium surinamense L é uma espécie pertencente à família Asterácea encontrada na região Norte do Brasil (Bacia do Baixo Amazonas). Conhecida popularmente como Cunambí, é usada pela população ribeirinha na pesca predatória (COSTA 2006). Após a ingestão das iscas preparadas com esta planta, os peixes apresentam um quadro de intoxicação que se caracteriza normalmente por uma grande movimentação na água seguida por um período quiescente no qual permanecem boiando, este quadro pode evoluir para a morte ou retorno do animal à normalidade, na dependência da quantidade de iscas ingeridas (COSTA 2006).

No Brasil a espécie *Clibadium surinamense* conhecida popularmente pelos nomes de cunabí, cunambí (Maranhão e região dos Rios Negro e Branco) e também conhecido em outras regiões por conabi, conambim, counambi, timbó, tinguí (CORRÊA 1984)

Em outros países como na Colômbia é conhecida como conami, levaplatos, manrubio, pitandilla, salvia e salvia amarga, já na Venezuela têm os nomes de barbasco, barbasco amarillo, juque, matagusanos e waca (CORRÊA 1984).

América do Norte e parte da América do Sul, encontram-se cerca de 20 a 25 espécies *Clibadium*, sendo que todas as suas espécies podem levar o indivíduo a morte com a ingestão de suas folhas por serem venenosas ou possuir ação ictiotóxica (PEREZ 2006).

2.2 MUTAGENICIDADE

Segundo Poletto (2011) as substâncias mutagênicas podem causar danos celulares aos organismos vivos que estão frequentemente expostos a estas substâncias, danos que geralmente são induzidos por agentes físicos, químicos ou biológicos que acabam afetando processos como a transcrição e duplicação genética e alterações cromossômicas, o que leva a processos cancerosos e morte

celular. As substâncias que causam lesões nos materiais genéticos são conhecidas como genotóxicas.

A presença de substâncias mutagênicas nas espécies vegetais que causam alterações cromossômicas pode ser detectadas durante o ciclo celular de uma espécie (BAGATINI 2007).

Segundo Fão (2012) os efeitos mutagênicos podem ser observados por meio da formação de micronúcleos, que são pequenos corpos contendo DNA, localizados no citoplasma, resultantes de quebras cromossômicas, formando fragmentos acêntricos ou com sequências de cromossomos inteiros que não se prendem ao fuso mitótico e dessa forma, não chegam aos pólos das células durante a mitose ou a meiose.

Uma das alterações mutagênicas visíveis em microscopia óptica é pequenos corpos contendo DNA e localizados no citoplasma, que são definidos como micronúcleos (DIETZ et al., 2000), como pode ser visto na (Figura 01) onde um Cromossomo inteiro ou fragmento cromossômico acêntrico não se integra ao novo núcleo (por não estar unido), constituindo assim pequeno núcleo individual, chamado de micronúcleo (POLETTTO, 2011).

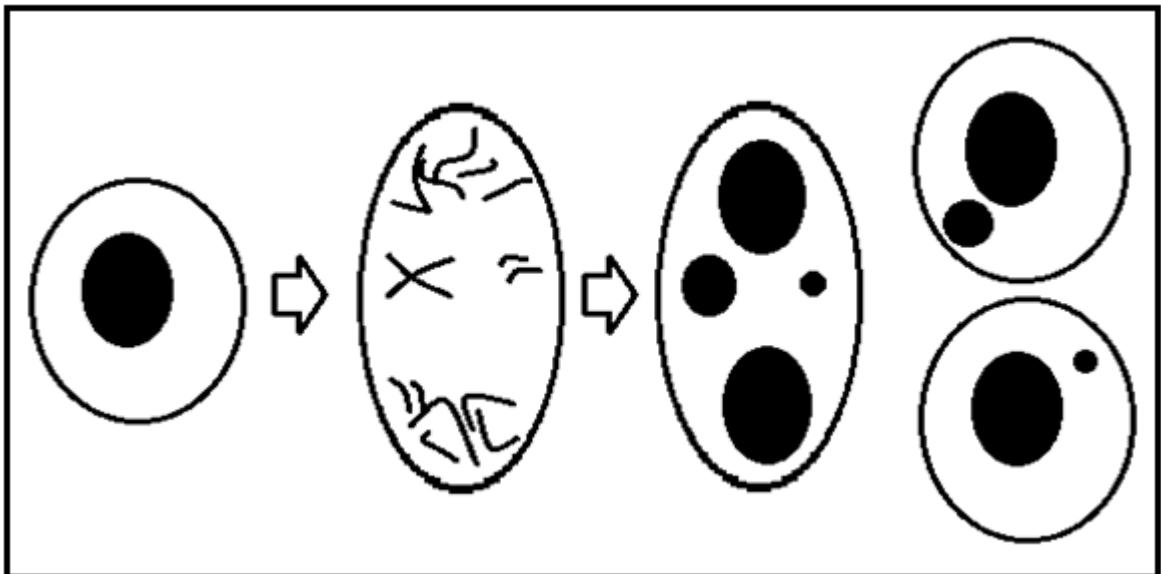


Figura 1. Formação de micronúcleos em células

Fonte: (Poletto, 2011)

2.3 TESTE DE MICRONÚCLEO EM *Allium cepa*

O teste de micronúcleo detecta danos ao fuso mitótico. Micronúcleos são identificados em qualquer tipo de célula, esses podem ser avaliados para o diagnóstico de doenças malignas hematológicas em células epiteliais orais, trato urinário e também monitorar ambientes por meio de testes em animais e plantas (FÃO, 2012).

O sistema de teste de micronúcleo em raízes da espécie *A. cepa*, é definido como sendo um dos melhores para estudos de monitoramento ambiental e mutagenicidade de plantas medicinais, por sua sensibilidade e exatidão, e, porque as raízes da *A. cepa* possuem processo de divisão celular similar aos do homem. Na região do vale do Jamarí, que abrange o município de Ariquemes - RO, o método utilizando raízes de *A. cepa*, foi adaptado para aplicabilidade em estudos ambientais e farmacológicos, sendo o mesmo descrito por Meneguetti et al (2011).

Apesar das diferenças entre metabolismo de animais e plantas, existem similaridades, e que a ativação de pró-mutagênicos em plantas possui alta relevância, visto que seres humanos consomem plantas tratadas com agentes químicos, ressaltando a importância e a utilidade de sistemas de testes de vegetais na avaliação de genotoxicidade (FISKESJO, 1994).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a mutagenicidade do extrato das folhas do Cunambi amazônico *Clibadium surinamense* (John Pruski: ASTERACEAE), através do teste micronúcleo em *A. cepa*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o extrato puro da folha de *Clibadium surinamense*;
- Determinar a mutagenicidade do extrato obtido a partir das folhas de *C. Surinamense*;

4 METODOLOGIA

4.1 CLASSIFICAÇÃO CIENTÍFICA

A identificação da espécie em estudo foi realizada com base no Herbarium, que é um sistema online que reúne fotos em alta qualidade de exsicatas das coleções William and Lynda Steere Herbarium, desenvolvido por The New York Botanical Garden (HERBARIUM, 2012).

Dentro do sistema foi selecionada a (Família: Asteraceae; Gênero: *Clibadium*), onde foi possível encontrar 12 espécies, as mesmas que foram comparadas com o espécime coletado, confirmando a espécie *C. surinamense* (John Pruski).

A exsicata analisada tem as seguintes especificações (no: 12080; Family: Asteraceae; Collector: T. C. Plowman; NY Specimen ID: 01138463; location: BRASIL: Amazonas - Tefé; (HERBARIUM, 2012) (Figura 2).

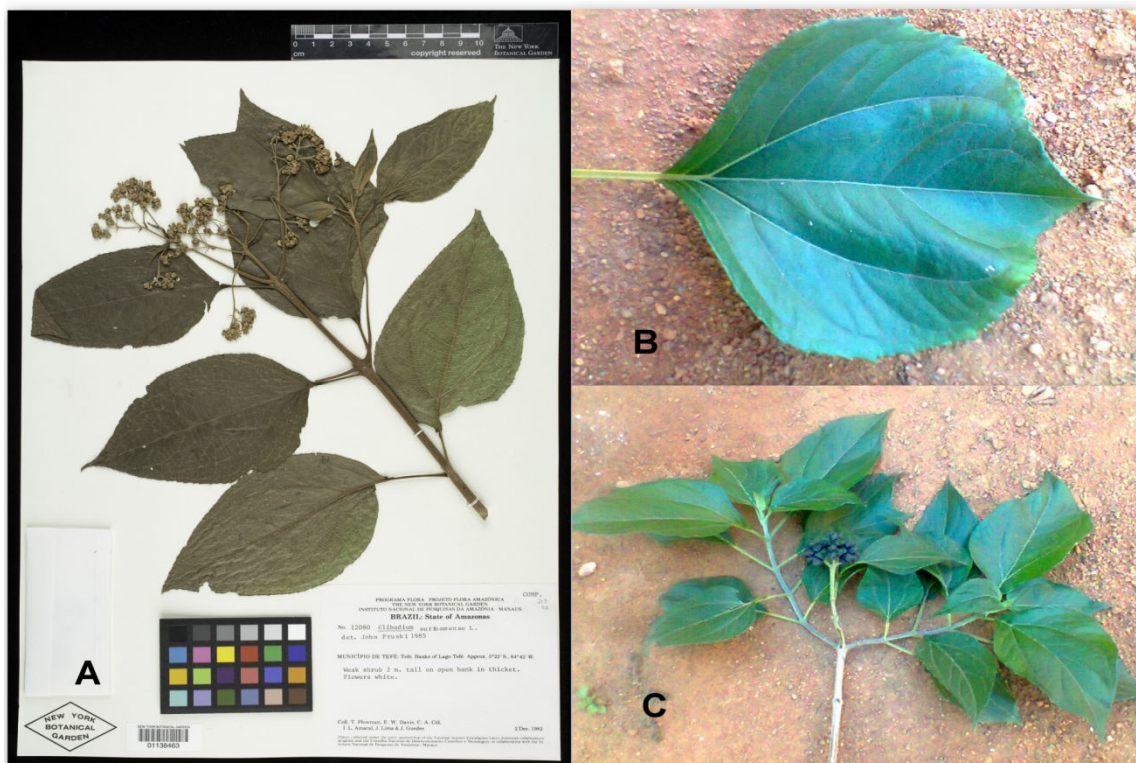


Figura 2. A) exsicata de *C. surinamense* (HERBARIUM, 2012); B) visão superior da folha de *C. surinamense*; C) visão superior da folha de *C. surinamense*.

4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO

As folhas da *C. surinamense* foram coletadas no dia 06 de Abril de 2012 no sítio 2 Irmãos, Lote 12, Gleba 02, Linha c-74, KM 09, município Vale do Anari Rondônia - RO, sendo encaminhadas para o laboratório de Química da Faculdade de Educação e Meio Ambiente (FAEMA).

As folhas foram postas para secar em estufa por 120 horas a 40°C até total perda de umidade, sendo posteriormente trituradas para uma maior superfície de contato.

Foi utilizado Metanol como solvente extrator devido as suas características de polaridade, o que permite a extração de um maior número de compostos. As amostras foram deixadas em contato com o solvente por 48 horas em recipiente fechado até ensaios posteriores.

O extrato puro foi obtido a partir da evaporação do solvente, sendo utilizado Evaporador Rotativo (Q344B-QUIMIS).

4.3 ANÁLISE MUTAGÊNICA

Adotou-se o teste em *A. cepa*, devido ao baixo custo, disponibilidade de *allium cepa*, boa visibilidade pela comunidade científica mundial, não exigência de equipamentos elaborados e de aprovação em Comitê de Ética e Pesquisa, curto período de tempo necessário para a elaboração dos testes, além de boa correlação com resultados de outros testes (POLETTO, 2011).

As análises tiveram início no dia 26 de Abril e término no dia 16 de Maio de 2012. Os exemplares de *A. cepa* utilizados foram adquiridos no mercado popular do município de Ariquemes - RO, sendo estes exemplares de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinados e saudáveis.

Os bulbos foram postos para germinar com a parte inferior mergulhada em solução contendo 50 mL de água destilada e o extrato vegetal em teste, por um período de quatro dias em temperatura de 24°C.

O experimento foi realizado com extratos obtidos das folhas de *C. surinamense*, tendo como controle negativo H₂O destilada e controle positivo de Sulfato de Ferro (FeSO₄). O extrato obtido das folhas foi dividido em 05 tratamentos

com de 0,05mL; 0,10mL; 0,25mL; 0,50mL e 1mL diluídos em 50mL de H₂O destilada, sendo executadas 10 repetições para cada concentração (Figura 3).

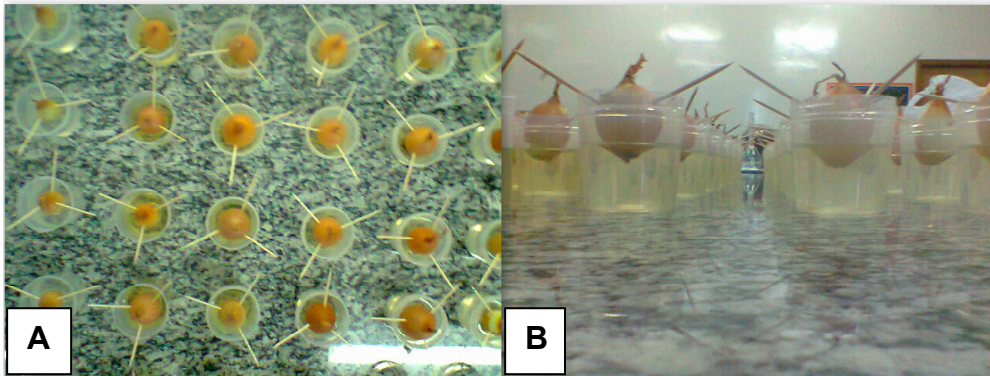


Figura 3. A) germinação de *A. cepa* em extrato da folha de *C. surinamense*; B) detalhe da germinação do *A. cepa*
Imagem: Paulo Sergio Santos da Cruz

Os meristemas foram coletados quando atingiram comprimento de 0,5 a 3,0 cm, sendo realizada hidrólise dos mesmos em uma solução de HCl 1N por 10 minutos em banho-maria a uma temperatura de 60 °C, e posterior lavagem em água destilada. Em seguida realizaram-se os esfregaços em duas lâminas para cada repetição, aguardando secagem em temperatura ambiente.

Após secas, as lâminas foram coradas, segundo Meneguetti et al., (2011), com o Kit Panótico Rápido LB que é composto de três recipientes: um contendo triarilmetano 0,1 %, o segundo com xatenos a 0,1 % e o terceiro com tiazinas a 0,1 %, as lâminas foram mergulhadas 10 vezes em cada recipiente com submersões de um segundo, sendo lavadas em seguida com água destilada e postas a secar em temperatura ambiente.

As lâminas foram analisadas em microscopia óptica, com objetiva de 40x e ocular de 10x tendo um aumento de 400x. Os micronúcleos foram observados a cada 1000 células por lâmina (Figura 4).

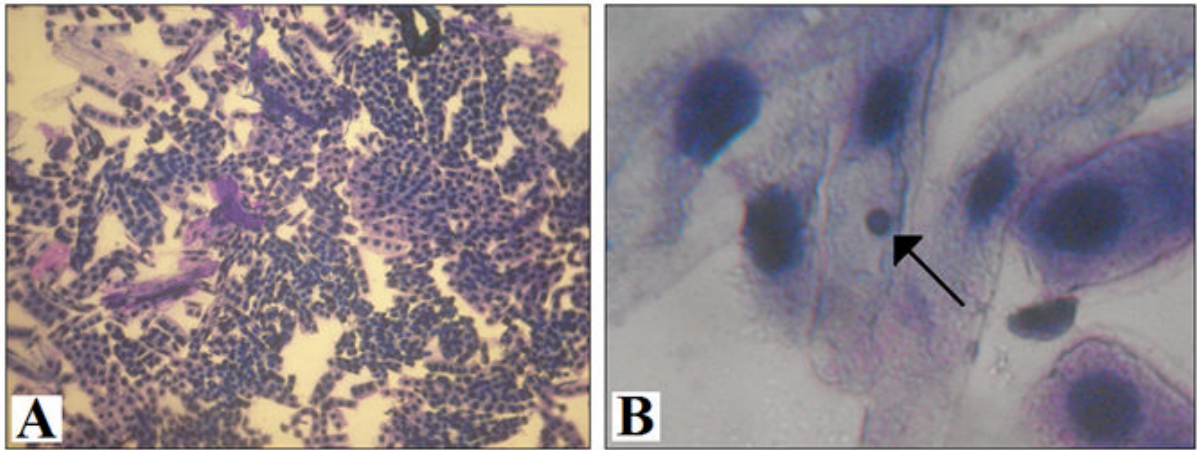


Figura 4. A) Células de *A. cepa* (ocular:10x, objetiva 10x), B) Micronúcleo em célula de *A. cepa* (ocular:10x, objetiva 40x)

Fonte: (Poletto et al, 2011)

Durante as análises, não se tinha o conhecimento dos tratamentos aplicados nas lâminas que se analisava, para não haver influência sobre os resultados, uma vez que para tratamentos com concentrações elevadas pode-se ocorrer a alto – influência para mais micronúcleos.

Para a análise estatística, utilizou-se o teste de variância, (ANOVA) e o TUKEY, feito pelo Software Graphad PRISM 5.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXTRATO

Após a retirada do solvente (metanol), com o uso de evaporador rotativo a uma temperatura constante de 55°C, obteve-se uma quantidade de 62,22 g de extrato a partir de uma quantidade de 400,60g de folhas secas obtidas do montante de 1,6 Kg de folhas verdes da planta estudada, tendo um rendimento de 15,53% de extrato puro em relação a matéria seca.

5.2 MUTAGENICIDADE

Os resultados obtidos através da análise mutagênica do extrato da folha estão apresentados na (Tabela 1).

Tabela 1. Número e média de micronúcleo, em *A. cepa* a cada 1000 células por lâminas e tratamentos realizados com extrato da folha do *Clibadium surinamense*.

	H ₂ O (CN)	FeSO ₄ (CP)	0,05 ml	0,10 ml	0,25 ml	0,50 ml	1 ml
Frasco 01	5	25	8	7	13	11	16
	2	15	4	11	12	3	7
Frasco 02	4	19	5	8	3	5	14
	4	17	5	13	9	9	7
Frasco 03	6	23	6	5	5	8	13
	6	11	8	3	8	4	7
Frasco 04	5	16	5	6	5	6	8
	5	15	3	4	6	2	4
Frasco 05	8	18	8	4	6	4	8
	7	15	5	16	7	13	5
Frasco 06	3	18	9	8	5	4	8
	8	16	2	4	5	11	5
Frasco 07	4	14	4	9	9	9	9
	2	24	3	8	5	10	4
Frasco 08	6	9	8	8	3	4	4
	3	21	5	6	8	7	3
Frasco 09	7	16	3	8	12	8	6
	4	20	1	9	3	8	2
Frasco 10	4	16	3	8	12	8	6
	3	21	8	3	4	3	9
Total	96	356	102	149	139	140	142
Média	4,8	17,8	5,1	7,4	6,9	7	7,1

Analisando a (Tabela 1), nota-se a presença de 4,8 micronúcleos em média por lâmina no CN, mostrando que o CN está normal, já CP apresentou média 17,8 micronúcleos por lamina, apresentam significância estatística em relação ao CN ($P < 0,001$). Para os tratamentos contendo 0,05 mL, 0,10 mL, 0,25 mL, 0,50 mL e 1 mL de extrato, obteve-se respectivamente 5,1; 7,4; 6,9; 7; 7,1 micronúcleos por 1000 células ($P > 0,05$), levando em consideração o desvio padrão, não houve significância estatística dos mesmos em relação ao CN, observados na (Figura 5).

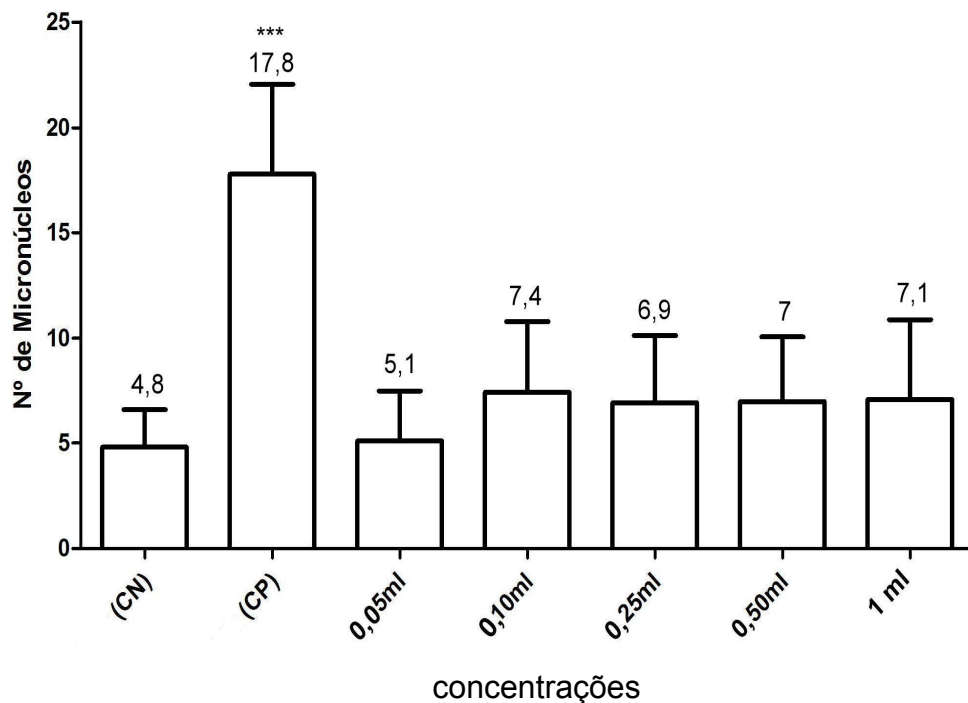


Figura 5. Média de números de micronúcleos encontrados em 1000 células de *A. cepa*, por dosagem em amostra de extrato da folha de *C. surinamense*.

Apesar da família Asteraceae compreender uma das mais antigas e mais valorizadas plantas medicinais (Paulsen, 2002), diferentes gêneros desta família apresentam compostos tóxicos como ácidos tanínicos, hidrocianínicos, fórmicos e málicos, rutina e furfural (Duke, 2000) como é o caso da *C. surinamense*, que tem efeito alucinógeno nos peixes causando asfixia e muitas vezes a morte.

Fachinetto e Tedesco, 2009, fazem relatos de um gênero da Asteraceae, onde foram feitos análises de micronúcleo em *A. Cepa* onde a *B. articulata* apresentou atividade mutagênica quando estudada em doses semelhantes as deste trabalho.

Além disso, Borgo et al. (2004) também demonstraram haver atividade mutagênica dos extratos aquosos de *B. articulata* através do ensaio *Salmonella*/Microsoma. Através de nossos resultados, foi possível verificar a não presença de atividade mutagênica da espécie estudada, mesmo assim é indicado que sua utilização pela população ainda seja cautelosa, pois como visto gêneros diferentes da família Asteraceae apresentam atividade mutagênica.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através do estudo mutagênico do extrato da folha de *C. surinamense* em todos os tratamentos executados, não apresentaram significâncias estatísticas ($P < 0,001$) em relação ao CN, somente no caso do CP que apresentou significância estatística ($P > 0,05$) quando comparado ao CN, além disso, cabe ressaltar que estes resultados são preliminares e outros estudos como os de análises mutagênicas em células sanguínea em ratos são necessários para se mais comprovação dos resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

BAGATINI, Margarete Dulce; SILVA, Antonio Carlos Ferreira da and TEDESCO, Solange Bosio. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.** [online]., vol.17, n.3, pp. 444-447, 2007.

BORGIO, J.; ROSA, D.P.; VARGAS, V.M.F. Mutagenicidade do extrato aquoso de *Baccharis articulata* (Lam.) Persoon no ensaio Salmonella/Microsoma. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.17, p.37-43, 2004.

CARNEIRO, H. **As plantas sagradas na história da América**. Disponível em: <<http://www.fafich.ufmg.br/varia/admin/pdfs/32p102.pdf>> Acesso em 07/06/12

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Colaboração de Leonan de Azeredo Penna. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.v.1. p.355.

COSTA EA; ROCHA FF, TORRES ML, SOUCCAR C, DE LIMA TC, LAPA AJ, LIMALANDMAN MT. Behavioral effects of a neurotoxic compound isolated from *Clibadiumsurinamense* L (Asteraceae). **NeurotoxicolTeratol**. 28(3):3, p 49-53. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16616455> > Acesso em: 19/06/12

HERBARIUM.THE MEW YORK Disponível em: <<http://sweetgum.nybg.org/vh/specimen.php?irn=1443128>>. Acesso em 07/06/12

DIETZ,J;DIEHL, A. S;PROLLA ,J. C;FURTADO, C. D;FURTADO, A.D. Pesquisa de micronúcleos na mucosa esofágica e sua relação com fatores de risco ao câncer de esôfago. **RevAssMed Brasil**; 46(3): 207-11. 2000. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/ramb/v46n3/3078.pdf>>.Acesso em 10/06/12.

DUKE, J.A. Toxins: their toxicity and distribution in plant genera. In: **Handbook of medicinal herbs**. Boca Raton: CRC Press, 2000. p.525-68.

FACHINETTO, J.M. and TEDESCO, S.B.. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. **Rev. bras. plantas med.** [online], vol.11, n.4, pp. 360-367, 2009. Disponível: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S151605722009000400002&lng=en&nrm=iso&tlng=pt> em 20/05/12

FÃO, F.; ZAN, R. A.; BRONDANI, F. M.M.; RAMOS, L. J.; MENEGUETTI, D. U. O. ANÁLISE DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DA SEIVA DA CASCA DE *Croton lechleri* (Müll. Arg), NO ESTADO DE RONDÔNIA, AMAZÔNIA OCIDENTAL. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, 7(1),p.91-98, 2012. Disponível em: <<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/viewArticle/1137>> Acesso dia 08/06/12

FILGUEIRAS, C. C. Bioatividade de extratos aquosos das espécies *Clibadium sylvestre* (Aubl.) Baill e *Derris amazonica* Killip sobre o pulgão *Myzus persicae* (Sulzer) (HEMIPTERA:APHIDIDAE) **Dissertação (Mestrado em Agronomia) – U.F.R.A** p. 1- 35 Belém, 2010.

FISKESJÖ, G.The *Allium* test.I: Wastewater Monitoring. **Environ Toxicol Water Qual 8**: 291-298 1993.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test II: Assesmente of chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L. **Environ Toxicol Water Qual 9**: 234-241, 1994.

MENEGUETTI, D. U. O.; SILVA, F. C.; ZAN, R. A.; RAMOS, L. J. Adaptation of the Micronucleus Technique in *Allium Cepa*, For Mutagenicity Analysis of the Jamari River Valley, Western Amazon, Brazil. **JEAT an open access journal**, Volume 2. p. 2-2, 2012

PAULSEN, E. Contact sensitization from Composita e containing herbal remedies and cosmetics. **Contact Dermatitis**, v.47, p.189-98, 2002.

PEREZ-AMADOR, MC; MUNOZ, V; NOYOLA, A y GARCIA-JIMENEZ, F. Essential oil and phototoxic compounds in *Clibadium surinamense* L. and *Montanoa grandiflora* D.C. (Asteraceae). *Phyton (B. Aires)* [online]. 2006, vol.75, pp. 145-150.

POLETTO, P. O.; DINIZ, A. P.; BERNARDON, B.; ZAN, R. A.; RAMOS, L. J.; MENEGUETTI, D. U. O. ANÁLISE DA MUTAGENICIDADE DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE *Derris rariflora* (TÍMBO AMAZÔNICO, ATRAVES DO TESTE MICRONUCLEO *Allium cepa*. **Rev. Pesquisa & Criação** 10 (1), p.163-175, 2012
Disponível em: < <http://www.periodicos.unir.br/index.php/propesq/article/view/402>>
acesso dia 01/06/12

SANTOS, F. S. **As plantas Brasileiras, os jesuítas e os indígenas do Brasil:** história e ciência na triaga brasílica (séc. XVII-XVIII). São Paulo: Casa do Novo Autor, 2009.