

**ANÁLISE DA MUTAGENICIDADE DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE *Derris rariflora* (MART. EX BENTH. J. F. MACBR: FABACEAE), TIMBÓ AMAZÔNICO, ATRAVÉS DO TESTE MICRONÚCLEO EM *Allium cepa***

**ANALYSIS OF MUTAGENICITY HYDROSSOLUBLE EXTRACT DERRIS RARIFLORA (MART. EX BENTH. MACBR JF: FABACEAE), TIMBO AMAZON VIA THE TEST IN MICRONUCLEUS *Allium cepa***

Patric de Oliveira Poletto  
[oliveira\\_poletto@hotmail.com](mailto:oliveira_poletto@hotmail.com)

Adriana Pádua Diniz  
[dri\\_padua@hotmail.com](mailto:dri_padua@hotmail.com)

Bruna Bernardon  
[brunasebraeariquemes@hotmail.com](mailto:brunasebraeariquemes@hotmail.com)

Renato André Zan  
[renato-zan@hotmail.com](mailto:renato-zan@hotmail.com)

Leandro José Ramos  
[leandrojramos@hotmail.com](mailto:leandrojramos@hotmail.com)

Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti  
[dionatas@icbusp.org](mailto:dionatas@icbusp.org)

Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA/Ariquemes/RO

**RESUMO:** A espécie *Derris rariflora*, conhecida popularmente como timbó apresentam rotenóides que provocam atividade ictiotóxica em peixes causando asfixia nos mesmos. O presente estudo objetivou realizar uma análise da mutagenicidade do extrato hidrossolúvel de *D. rariflora* (Mart. Ex Benth. J. F. Macbr: Fabaceae), timbó amazônico, através do teste micronúcleo em *Allium cepa*. O experimento foi realizado com extratos obtidos das raízes e folhas de *D. rariflora*. O extrato da raiz foi dividido em quatro tratamentos com (0,1ml; 0,3ml; 0,5ml e 1ml) e o da folha com três (0,1ml; 0,3ml; 0,5ml) diluídos em 50ml de H<sub>2</sub>O destilada, sendo 10 repetições para cada concentração. 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 tanto para tratamentos com pequenas doses como para doses altas do extrato da folha de *D. rariflora*, apresentaram alto índice de alteração mutagênica. Já nos tratamentos realizados com extrato da raiz de *D. rariflora*, notou-se que pequenas doses, também apresentam significância em relação ao controle negativo e que o índice de alterações mutagênicas aumenta com altas concentrações, sendo nessas doses significativamente maior que os efeitos causados pelo extrato da folha.

**Palavras-chaves:** Mutagenicidade. *Derris rariflora*. Micronúcleo e *Allium cepa*.

**Abstract:** The species *Derris rariflora*, popularly known as timbó have rotenoids that cause ictiotóxica activity in fish causing asphyxiation us same. This study aimed to perform an analysis of the mutagenicity of stratum of *D. rariflora* (Mart. Ex Benth. J. F. Macbr: Fabaceae), timbó Amazon, through the micronucleus test in *Allium cepa*. The experiment was performed with extracts of roots and leaves of *D. rariflora*. The root extract was divided into four treatments (0.1 ml, 0.3 ml, 0.5 ml and 1 ml) and the sheet with three (0.1 ml, 0.3 ml, 0.5 ml) diluted in 50ml of distilled, with 10 repetitions for each concentration. The slides were examined under an optical microscope with a 40x objective with 10x eyepiece and a 400x magnification. Micronuclei were observed at 1000 cells per slide. It was found that both treatments with small doses and for high doses of the leaf extract of *D. rariflora* showed high levels of mutagenic change. Already in the groups treated with root extract of *D. rariflora*, it was noted that small doses, also have significance in relation to the negative control and the mutagenic index change increases with higher concentrations, these doses being significantly greater than the effects caused by extract of leaf .

**Keywords:** Mutagenicity. *Derris rariflora*. Micronucleos and *Allium cepa*.

## 1. INTRODUÇÃO

Timbó é o nome dado a inúmeras plantas de cultura pré-colombiana da região amazônica que são utilizadas nas pescarias dos ameríndios (CONCEIÇÃO *et al.*, 2002), devido sua toxicidade (COSTA *et al.*, 1997).

Há várias espécies de timbós na região amazônica, e sua grande maioria pertence ao gênero *Derris*, e são classificados popularmente como timbó-vermelho, timbó-branco, entre outros, com destaque para a espécie *Derris rariflora*, comumente utilizada por nativos devido seu efeito tóxico (LIMA, 1987).

Segundo Lima (1987), é de se considerar a importância dos timbós, visto que estes apresentam em suas raízes substâncias como a rotenona e os rotenóides, e dentre eles deguelina, tefrosina e toxicarol.

A rotenona é a principal substância, entre os rotenóides, contida nas raízes de plantas como os timbós (CRAVERO *et al.*, 1976), e de acordo com Costa (1996) e Lima e Costa (1998), pode-se encontrar valores de até 10% ou mais de rotenona nas raízes.

Crombie e Whiting (1998) relatam o interesse permanente no uso de rotenóides como veneno para peixes em reservatórios, devido sua atividade ictiotóxica, causando asfixia nos mesmos e o interesse ecológico na influência dos rotenóides sobre certas relações planta/inseto, que segundo Filho (1940), usava-se a rotenona, até 1946, como inseticida em lavouras no controle de insetos (larvas de borboletas, coccídeos, cochonilhas e pulgões) e ectoparasitas de animais.

Assim como a espécie *D. rariflora*, diversos outros vegetais amazônicos apresentam efeitos tóxicos, contendo substâncias que podem acarretar a ocorrência de mutações, sendo necessários estudos dos seus efeitos mutagênicos.

### 1.1 Mutagenicidade

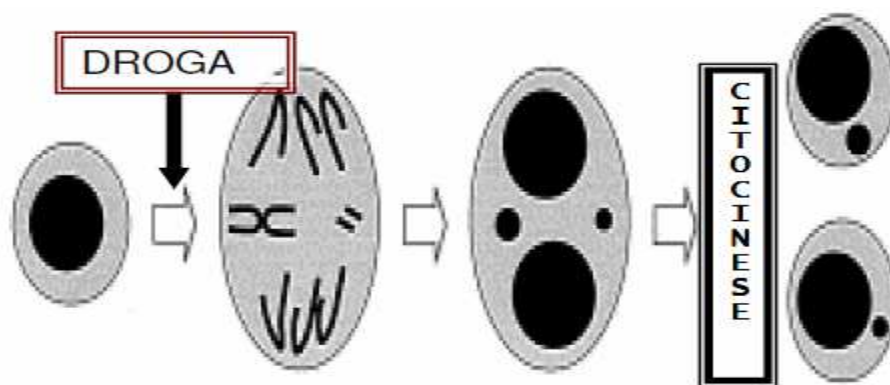
A toxicidade é relacionada com a detecção, composição química e ação biológica de substâncias tóxicas, a toxicidade de uma substância pode ser considerada como a capacidade de ser prejudicial, causando dano grave ao organismo. Os efeitos tóxicos, só se manifestam em organismos se o agente tóxico alcançar locais específicos do organismo, em concentrações e tempo suficiente para produzir algum tipo de efeito (BARROS, 2008). A via de administração, duração e frequência de exposição, é os fatores mais importantes que

influenciam a toxicidade ao organismo mesmo ele, sendo encontrado no interior das células, não está livre de sofrer constantes alterações e mutações (RABELLO-GAY, 1991).

Burns e Bottino, (1991) definem mutação como uma alteração súbita e herdável na estrutura do material genético, sendo esta quase sempre prejudicial, especialmente em organismos multicelulares, nos quais a alteração genética está mais inclinada a perturbar o desenvolvimento e a fisiologia extremamente complexos (ALBERTS, 2002; SILVA *et al.*, 2011).

As substâncias mutagênicas podem causar danos celulares aos organismos vivos que estão frequentemente expostos a estas, danos que geralmente são induzidos por agentes físicos, químicos ou biológicos que acabam afetando processos como a transcrição e duplicação gênica e alterações cromossômicas, o que leva a processos cancerosos e morte celular. As substâncias que causam lesões nos materiais genéticos são conhecidas como genotóxicas (COSTA e MENK, 2000).

Uma das alterações mutagênicas visíveis em microscopia óptica são pequenos corpos contendo DNA e localizados no citoplasma, são definidos como micronúcleos (Figura 1). Os mesmos são originados de fragmentos cromossômicos acêntricos, resultantes de quebras isocromatídicas, cromatídicas, ou de disfunções do fuso mitótico, podendo, em cada célula, aparecer mais de uma vez (RIBEIRO *et al.*, 2003).



**Figura 1.** Formação de micronúcleos em células (UFMG, 2011; SILVA *et al.*, 2011)

O teste micronúcleo, portanto, detecta mutagênese cromossômica em eucariotos do tipo clastogênese, aneugênese e danos no fuso mitótico. Representando uma maneira simples e precisa, de estimar danos genéticos induzidos (MACGREGOR *et al.*, 1987; HAYASHI *et al.*, 1994)

Devido à universalidade do código genético, se um agente pode causar danos ao DNA, este tem potencial genotóxico em qualquer tipo de célula animal, vegetal ou microorganismos (BALIEIRO *et al.*, 2010).

O potencial citotóxico e mutagênico de uma planta pode ser monitorado pelo uso do sistema teste micronúcleo em *Allium cepa* (BAGATINI *et al.*, 2007). Segundo Ma *et al.*, (1995), o sistema teste de *Allium cepa* pode ser usado para avaliar o potencial mutagênico de muitos compostos químicos e no monitoramento da poluição ambiental.

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 testes vegetais na avaliação de genotoxicidade (FISKESJO, 1994).

O presente estudo objetivou realizar uma análise da mutagenicidade do extrato hidrossolúvel de *Derris rariflora* (Mart. Ex Benth. J. F. Macbr: Fabaceae), timbó amazônico, através do teste micronúcleo em *Allium cepa*.

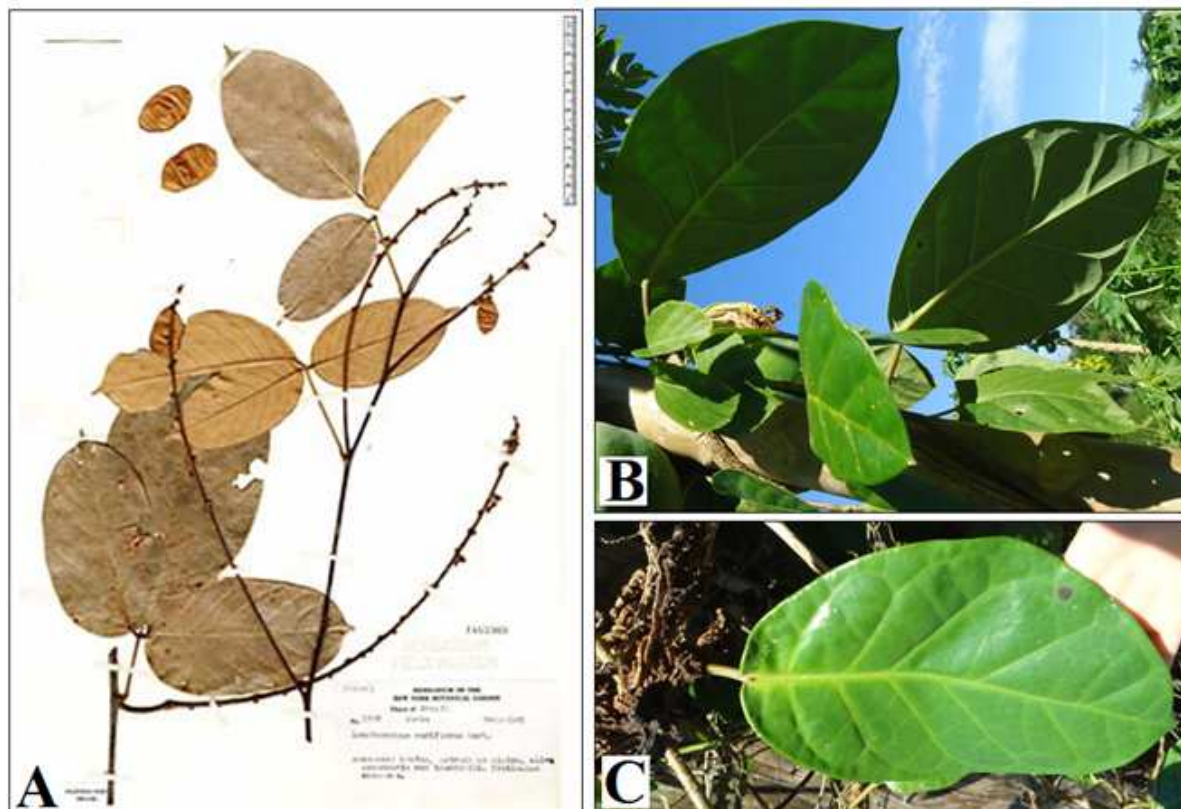
## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Classificação científica

A identificação da espécie em estudo foi realizada com base no Neotropical Herbarium Specimens, que é um sistema online que reúne fotos em alta qualidade de exsicatas da região neotropical, desenvolvido por Robin Foster e colaboradores no Herbário Searle do Museu Field (NEOTROPICAL, 2011).

Dentro do sistema foi selecionada a (Família: Fabaceae; Gênero: *Derris*), onde foi possível encontrar oito espécies, as mesmas que foram comparadas com o espécime coletado, onde foi constatada a confirmação da espécie *Derris rariflora* (Mart. Ex Benth) (Figura 2).

A exsicata analisada tem as seguintes especificações (Acc no: F 1165988; Family: FABACEAE; Taxon: *Derris rariflora* (Mart. ex Benth.) J.F.Macbr; Collection: Ducke,A. 1326; Synonyms: Syn.: *Lonchocarpus rariflorus*; Alt. name *Deguelia rariflora*, ined; Country: BRASIL: Amazonas; Range Includes: Brasil) (NEOTROPICAL, 2011).



**Figura 2.** A) exsicata de *D. rariflora* (Neotropical Herbarium, 2011); B) visão inferior da folha de *D. rariflora*; C) visão superior da folha de *D. rariflora*.

## 2.2 Obtenção do extrato

As raízes e folhas da *D. rariflora* foram coletadas no dia 19 de Julho de 2011 na chácara 36, situada na RO 257, Km 12, dentro dos limites do município de Ariquemes, Rondônia (RO), sendo encaminhados para o laboratório de bioquímica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente (FAEMA).

As raízes e folhas foram postas para secar em estufa por 120 horas a 44 °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 metanólico puro foi obtido a partir da evaporação do solvente, sendo utilizado Evaporador Rotativo (Q344B-QUIMIS).

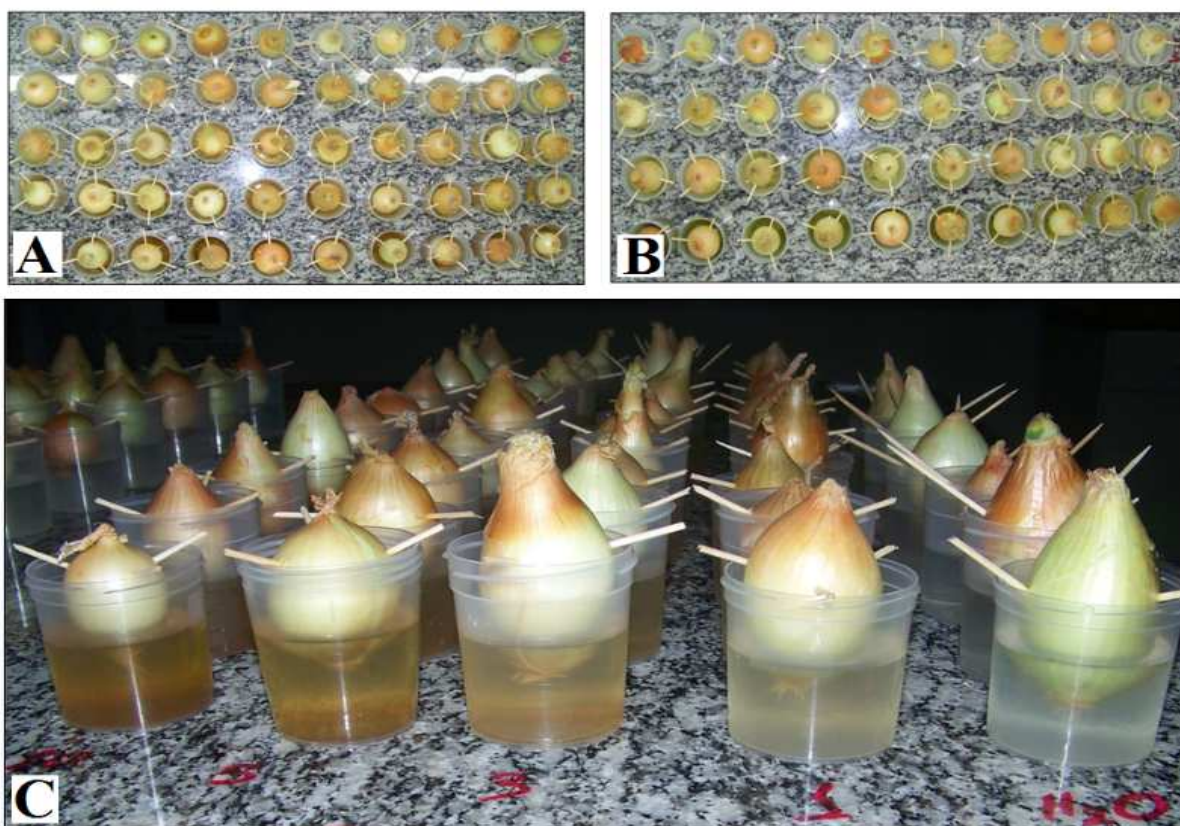
### 2.3 Análise mutagênica

Adotou-se o teste em *Allium cepa*, devido ao baixo custo, disponibilidade de *Allium cepa*, bem visto 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.

As análises tiveram início no dia 12 de Agosto e término no dia 03 de Setembro de 2011. 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 sete dias em temperatura de 24°C.

O experimento foi realizado com extratos obtidos das raízes e folhas de *D. rariflora*, tendo como controle H<sub>2</sub>O destilada. O extrato obtido da raiz foi dividido em quatro tratamentos com (0,1ml; 0,3ml; 0,5ml e 1ml) e o da folha com três (0,1ml; 0,3ml; 0,5ml) diluídos em 50ml de H<sub>2</sub>O destilada, sendo 10 repetições para cada concentração (Figura 3).



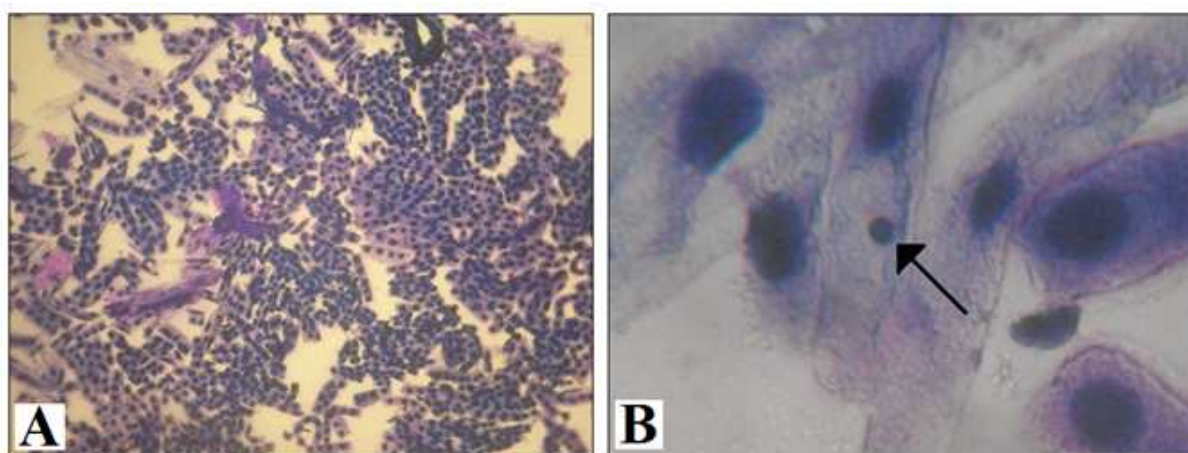
**Figura 3.** A) germinação de *A. cepa*, em extrato da raiz de *D. rariflora*; B) germinação de *A. cepa* em extrato da folha de *D. rariflora*; C) detalhe da germinação do *A. cepa*.

Os meristemas foram coletados quando atingiram comprimento de 0,5 a 3,0 cm, sendo realizada hidrólise dos mesmos em uma solução de HCl 1 N 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 Panótipo 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).

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



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

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Extrato

Após a retirada do solvente (metanol), com o uso de evaporador rotativo a uma temperatura constante de 60°C, obteve-se uma quantidade de 15.3 g de extrato a partir de uma

quantidade de 186,4 g da raiz, tendo um rendimento de 8,2 % de extrato puro e 7,1 g de extrato a partir de 92,3 g de folhas da planta estudada tendo um rendimento de 7,7 % de extrato puro.

### 3.2 Mutagenicidade

Os resultados obtidos através da análise mutagênica do extrato das raízes e das folhas de *D. rariflora*, estão representados na (Tabela 1) e (Tabela 2).

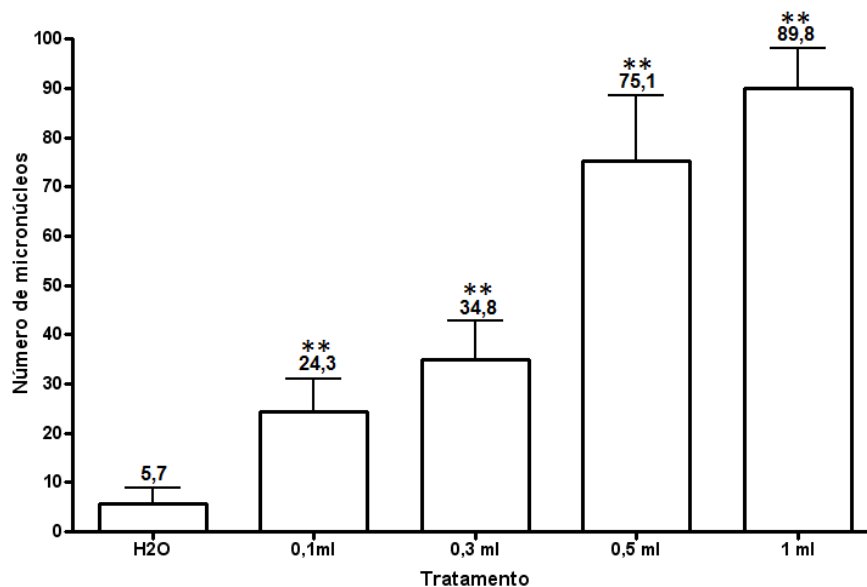
Tabela 1. Número e média de micronúcleo, em *A. cepa* a cada 1000 células por lâminas em tratamentos realizados com extrato da raiz.

	H <sub>2</sub> O	0,1 mL	0,3 mL	0,5mL	1mL
Frasco 01	3	33	34	84	83
	3	36	35	89	89
Frasco 02	5	38	29	65	89
	4	18	26	76	94
Frasco 03	4	22	35	59	76
	13	26	48	75	80
Frasco 04	8	21	47	76	88
	7	33	46	84	83
Frasco 05	6	26	39	49	92
	6	30	32	105	94
Frasco 06	4	21	25	62	98
	3	16	29	74	96
Frasco 07	6	19	45	86	94
	2	21	48	92	98
Frasco 08	4	15	36	72	96
	7	19	25	74	94
Frasco 09	1	23	29	84	98
	8	20	30	70	106
Frasco 10	8	25	33	72	74
	12	24	26	55	81
Total	114	486	697	1503	1797
Média	5,7	24,3	34,8	71,1	89,8

Observando os dados da (Tabela 1), nota-se a presença média de 5,7 micronúcleos por lâminas no controle contendo H<sub>2</sub>O, mostrando que o mesmo, está dentro da normalidade. Para os tratamentos contendo 0,1 mL, 0,3mL, 0,5mL e 1 mL de extrato, obteve-se respectivamente 24,3; 34,8; 75,1 e 89,8 micronúcleos por 1000 células (P<0,001), levando em consideração o



desvio padrão, houve uma alta significância estatística dos mesmos em relação ao controle negativo, evidenciando assim, um alto potencial mutagênico nas respectivas doses (Figura 5).



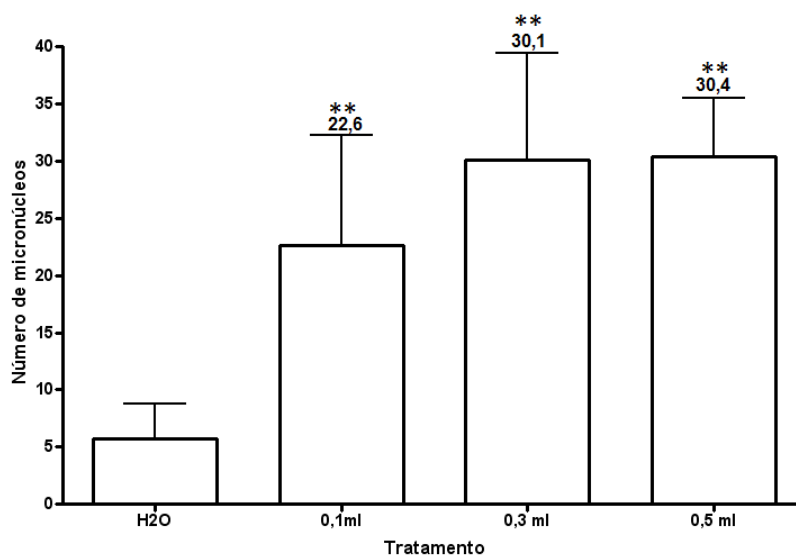
**Figura 5.** Média de números de micronúcleos encontrados em 1000 células de *A. cepa*, por dosagem em amostra de extrato da raiz de *D. rariflora*. Significativo para \*\* ( $P < 0,001$ ).

Tabela 2. Número e média de micronúcleo, em *A. cepa* a cada 1000 células por lâminas e tratamentos realizados com extrato da folha.

	H <sub>2</sub> O	0,1 mL	0,3 mL	0,6mL
Frasco 01	3	26	32	28
	3	26	36	27
Frasco 02	5	34	28	33
	4	9	22	29
Frasco 03	4	25	19	47
	13	23	14	29
Frasco 04	8	28	49	32
	7	28	53	30
Frasco 05	6	28	32	29
	6	34	34	31
Frasco 06	4	36	26	22
	3	39	25	29
Frasco 07	6	10	29	38
	2	10	30	33
Frasco 08	4	10	26	30
	7	11	19	26
Frasco 09	1	11	26	29

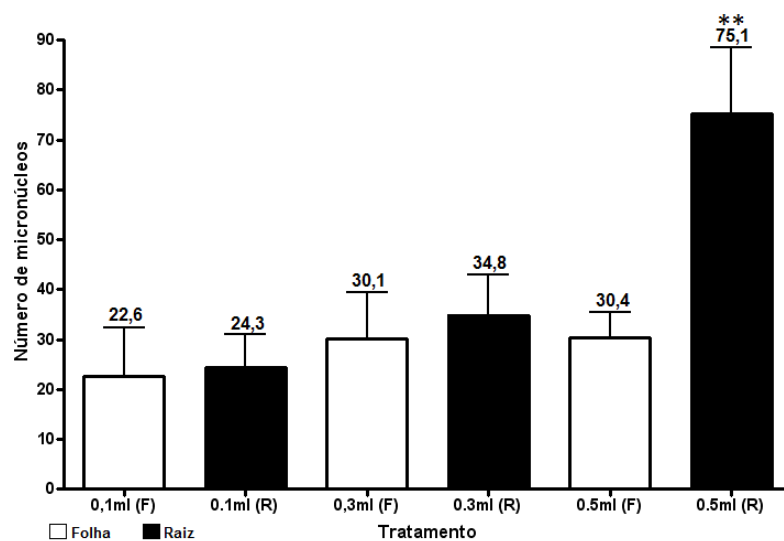
	8	20	30	28
Frasco 10	8	23	34	31
	12	21	38	27
<b>Total</b>	<b>114</b>	<b>452</b>	<b>602</b>	<b>608</b>
<b>Média</b>	<b>5,7</b>	<b>22,6</b>	<b>30,1</b>	<b>30,4</b>

Analisando a Tabela 2, nota-se a presença de 5,7 micronúcleos, em média, por lâminas no controle, contendo H<sub>2</sub>O, mostrando que o mesmo, está dentro da normalidade. Para os tratamentos contendo 0,1 mL, 0,3mL e 0,5mL e de extrato, obteve-se respectivamente 22,6; 30,1 e 30,4 micronúcleos por 1000 células (P<0,001), levando em consideração o desvio padrão, houve uma alta significância estatística dos mesmos em relação ao controle negativo, evidenciando assim, um alto potencial mutagênico nas respectivas doses (Figura 6).



**Figura 6.** Média de números de micronúcleos encontrados em 1000 células de *A. cepa*, por dosagem em amostra de extrato da folha de *D. rariflora*. Significativo para \*\* (P<0, 001).

Realizou-se também uma análise comparativa entre resultados obtidos a partir do extrato da folha e extrato da raiz de *D. rariflora*. (Figura 7).



**Figura 7.** Média de números de micronúcleos encontrados em 1000 células de *A. cepa*, por dosagem em amostra de extrato da folha de *D. rariflora*. Significativo para \*\* ( $P < 0,001$ ).

Comparando os resultados entre os tratamentos realizados com 0,1 mL e 0,3 mL dos extratos da raiz e da folha, observou-se que não teve resultado estatístico significativo entre eles ( $P > 0,05$ ). Já comparando os resultados dos tratamentos realizados com 0,5 mL dos extratos da raiz e da folha de *D. rariflora*, notou-se uma alteração significativa do tratamento com extrato da raiz em relação ao tratamento com extrato da folha ( $P < 0,001$ ).

#### 4. CONCLUSÃO

Constatou-se que tanto para tratamentos com pequenas doses como para doses altas do extrato da folha de *D. rariflora*, apresenta significâncias em relação ao controle negativo, mas não apresenta significância entre as diferentes doses, mostrando que tanto pequenas como grandes doses apresentam alto índice de alteração mutagênica. Já nos tratamentos realizados com extrato da raiz de *D. rariflora*, notou-se que pequenas doses, também apresentam significância em relação ao controle negativo e que o índice de alterações mutagênicas aumenta com altas concentrações, sendo nessas doses significativamente maior que os efeitos causados pelo extrato da folha.

Os resultados são preocupantes visto que na região amazônica é rotineiro o uso da espécie *D. rariflora*, na captura de peixes, os mesmos que vão servir de alimento para essas populações. São necessários estudos futuros de análise mutagênica em células de sangue

periférico de peixes que se alimentam dessa espécie e de pessoas que utilizam desse recurso para pescaria, para uma melhor compreensão dos efeitos citotóxicos desse vegetal.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B. **Fundamentos da Biologia Celular**. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- BAGATINI, M. D; SILVA, A. C. F; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Rev Bras Farmacog.* 17(3):444-447, 2007.
- BALIEIRO, F. P; BARBOSA, S; FREITAS, N. C; RIBEIRO, L. O; BEIJO, L. A; SANTOS, B. R. Influência de extratos foliares de barbatimão sobre a germinação e ciclo celular de *allium cepa*. XIX congresso de pós-graduação da UFLA, 2010.
- BARROS, S. B. M; DAVINO, S. C. Avaliação da toxicidade. In: Oga, S; CAMARGO, M.M.A; BATISTUZZO, J.A.O. *Fundamentos de Toxicologia*. São Paulo: Ed. Atheneu, 2008. p.59-70.
- BURNS, G. W; BOTTINO, P. J. *Genética*. Editora Guanabara Koogan. 6ª edição. Rio de Janeiro, 1991.
- CONCEIÇÃO, H. E. O; PINTO, J. E. B. P; SANTIAGO, E. J. A; GONÇALVES, A. A. S. Crescimento e desenvolvimento de *derris urucu* (Killip et Smith) macbride na ausência de macronutrientes em solução nutritiva. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, 26(3):472-479, 2002.
- COSTA, J. P. C. Efeito da variabilidade de timbós de diferentes regiões da amazônia em *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.
- COSTA, J. P. C; BELO, M.; BARBOSA, J. C.. Efeitos de Espécies de Timbós (*Derris* spp.: Fabaceae) em Populações de *Musca domestica* L. *Anais. Soc. Entomol. Brasil* 26(1), 1997.
- COSTA, R. M. A; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. *Biotecnologia: ciência e desenvolvimento*, 3:24-26, 2000.
- CRAVERO, E. S; GUERRA, M. S; SILVEIRA, C. P. D. *Manual de inseticidas e acaricidas: aspectos toxicológicos*. Pelotas: Aimara, 1976. 229 p.
- CROMBIE, L; WHITING, A. D. Biosynthesis in the rotenoid group of natural products: applications of isotope methodology. *Phytochemistry*, Oxford, 49(6):1479-1507, 1998.
- FILHO, C. A. Timbó e rotenona. Uma riqueza nacional inexplorada. Rio de Janeiro, Serviço de Informação Agrícola, 1940. 14p.

FISKESJO, 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.

HAYASHI, M.; TICE R. R; MACGREGOR J. T. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. *Mutation Research*, 312:293-304, 1994

LIMA, R. R. Informações sobre duas espécies de timbó: *Derris urucu* (Killip et Smith) Macbride e *Derris nicou* (Killip et Smith) Macbride, como plantas inseticidas. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1987. 23 p.

LIMA, R. R; COSTA, J. P. C. Coleta de plantas de cultura pré-colombiana na Amazônia brasileira. Belém: EMBRAPA-CPATU. 1998. 102 p

MA, T.H; XU, Z; XU, C; MCCONNELL, H; RABAGO, E.V; ARREOLA, G.A; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutat Res*, 334(2):185-195, 1995.

MACGREGOR, J. T; HEDDLE, J. A. M. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutation Research*, 189:103-112, 1987.

MENEGUETTI, D. U. O; SILVA, F.C; PELLEZ, D.C; SOUZA, N.C; RAMOS, L.J. Adaptation of the technical micronucleus in *Allium cepa*, to future analysis of mutagenicity og the rivers of the vale do Jamari- Rondônia, Brasil. In: Congresso Brasileiro da Sociedade Brasileira de Mutagênese Carcinogênese e Teratogênese Ambiental, São Paulo, Anais V-Sub-área: Genotoxicidade de contaminantes ambientais e relação gene-ambiente e saúde, 2011. p.6.

NEOTROPICAL. Neotropical Herbarium Specimens. Disponível em <<http://fm1.fieldmuseum.org/vrrc/index.php?PHPSESSID=eb41406e239e7b807176373ff7>> acesso em 25/08/2011.

RABELLO-GAY, M. N. Genetic Toxicológica: Bases e Metas. Instituto Butantan, São Paulo, 1991.

RIBEIRO, M. L. G; SILVA, J. H. V; DANTAS, M. O. Exigências nutricionais de lisina para codornas durante a fase de postura, em função do nível de proteína da ração. *Rev Bras Zoot*, 32(1):156-161, 2003.

SILVA, F. C; BARROS, M.A.B; VIANA, R.R; ROMÃO, N.F; OLIVEIRA, M.S; MENEGUETTI, D.U.O. Avaliação de mutagênese provocada por sulfato de ferro através do teste micronúcleo em células da medula óssea de camundongos. *Rev Cie Fac Edu Mei Amb* 2(1):13-21, 2011

UFMG. Micronúcleos. Disponível em <<http://www.icb.ufmg.br/biq/prodap/2003/micronucleos/sobremn.html>> Acesso em 08/01/2011.