

## ANÁLISE DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DA SEIVA DA CASCA DE *Croton lechleri* (Müll. Arg), NO ESTADO DE RONDÔNIA, AMAZÔNIA OCIDENTAL

Fabiane Fão<sup>1</sup>, Renato André Zan<sup>2</sup>, Filomena Maria Minetto Brondani<sup>3</sup>, Leandro José Ramos<sup>4</sup>, Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti<sup>5</sup>

### RESUMO

No estado de Rondônia muitas plantas são usadas na Medicina popular para o tratamento de enfermidades, dentre elas a espécie *Croton lechleri*, conhecida na região como sangue-de-dragão, produtora de látex cuja composição química é rica no alcalóide taspina, reconhecido por sua ação antiinflamatória, analgésica e cicatrizante. O presente estudo objetivou analisar a mutagenicidade do extrato metílico de *C. lechleri* (sangue-de-dragão), por meio do teste de micronúcleo em *Allium cepa*. Para tanto, utilizou-se de uma pesquisa descritiva-exploratória com abordagem qualitativa. Os resultados obtidos mostraram que, em concentrações 0,1 mL, 0,3mL e 0,6mL, não ocorrerão atividades mutagênicas, já na concentração de 1mL, esta atividade foi observada, alertando quanto ao uso indiscriminado de fitoterápicos. É relevante ressaltar que as concentrações estudadas são diluídas em 50ml de H<sub>2</sub>O, já quando absorvidas por humanos será diluída na corrente sanguínea que é de aproximadamente 5000ml, sendo indicado testes em animais para melhor compreensão dos efeitos mutagênicos desse extrato vegetal.

**Palavras-chave:** *Mutagenicidade; Croton lechleri; Micronúcleo; Allium cepa.*

## ANALYSIS OF MUTAGENIC POTENTIAL OF THE SAP FROM THE BARK OF CROTON LECHLERI (Müll. Arg) ON STATE OF RONDONIA, WESTERN AMAZON

### ABSTRACT

Many plants are used in popular medicine to treatment of several illnesses in Rondonia State, including Croton Lechleri species. *C. lechleri* is known in the region as blood-of-dragon and it produces latex which is rich in taspina alkaloid, recognized by its anti-inflammatory, analgesic, and healing actions. This research aimed to study the mutagenicity of *C. lechleri* (blood-of-dragon) methyl extract by micronucleus test in *Allium cepa*. The results showed that at concentrations of 0.1 mL, 0.3 mL and 0.6 mL, mutagenic activity was not observed. Mutagenicity was present in concentration of 1.0 mL. Thus, it alerts about risks of indiscriminate use of herbal medicines. It is important to note that the tested concentrations are diluted in 50ml of H<sub>2</sub>O, although, when absorbed by humans it will be diluted in bloodstream (approximately 5000ml). Thus, animal testing is indicated to better understand the mutagenic effects of this plant extract.

**Keywords:** *Mutagenicity; Croton lechleri; Micronucleus; Allium cepa.*

1Graduada em Química, pela Faculdade de Educação e Meio Ambiente (FAEMA). 2 Químico, Mestre em Química, Docente (FAEMA). 3 Química, Mestre em Biologia Experimental, Coordenadora do Curso de Química da FAEMA. 4 Fisioterapeuta, Mestrando em Biologia de Agentes Infeciosos e Parasitários, Docente da FAEMA. 5 Biólogo, Mestre em Genética e Toxicologia Aplicada, Docente da FAEMA.

## INTRODUÇÃO

Por muito tempo, as plantas medicinais e seus extratos constituíram a maioria dos medicamentos, sendo somente no século XIX que os químicos começaram a questionar sobre as verdadeiras propriedades dos extratos obtidos de fontes vegetais, sendo aos poucos a utilização dos mesmos substituídos por substâncias ativas isoladas (1).

Cerca de 70-95% da população mundial ainda depende de medicamentos tradicionais para a atenção básica em saúde, mesmo sem a investigação científica necessária para fornecer a evidência de sua segurança e eficácia (2).

Uma grande parte da composição química das plantas de uso medicinal ainda é desconhecida pela ciência, e dados recentes afirmam que cerca de 99% das plantas medicinais endêmicas do Brasil ainda não têm seus princípios ativos identificados (3), o que representa um grande potencial farmacológico e econômico a ser explorado, tornando-se imprescindível à avaliação das potencialidades químicas das plantas brasileiras, em especial as espécies vegetais da região amazônica (4), onde a grande maioria dessas plantas não foram estudadas do ponto de vista químico e outras ainda nem foram catalogadas pela ciência (5).

Algumas dessas plantas que apresentam propriedades medicinais podem conter substâncias tóxicas, o que torna errado o conceito de que plantas são medicamentos naturais, portanto livres de efeitos tóxicos, sendo assim, tornando-se necessário o conhecimento científico das características de determinadas plantas, bem como o seu potencial mutagênico, uma vez que as plantas vêm sendo usadas como fitoterápicos sem nenhum conhecimento dos seus efeitos em longo prazo, podendo ocasionar possíveis consequências a quem faz uso das mesmas (6).

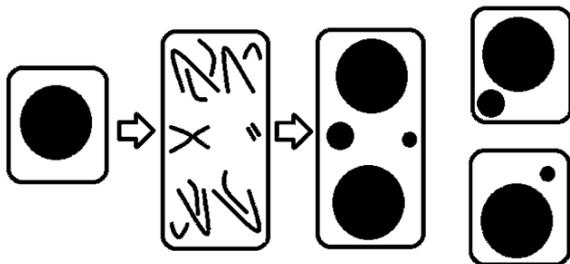
A triagem de extratos de plantas da Amazônia visando à procura de produtos naturais bioativos para ensaios biológicos simples irá estabelecer um modelo para novas investigações nesse campo para preservar, estudar e explorar racionalmente o bioma amazônico do Estado de Rondônia (7), sendo necessária a avaliação do potencial mutagênico para aumentar a segurança no uso feito pela população (8).

Na Amazônia, existem inúmeras espécies de plantas que possuem propriedades medicinais (9). A família *Euphorbiaceae* é uma das maiores das *Angiospermae*, com cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7.500 espécies, dentre suas espécies se destaca a espécie *C. lechleri*, conhecida como sangue-de-dragão, sua árvore pode chegar até 20m de altura (10).

A espécie *C. lechleri* é utilizada como planta medicinal há séculos pelas comunidades indígenas da Amazônia, sua casca produz um látex viscoso cor de sangue, conhecido por este motivo como sangue-de-dragão. A planta apresenta também outros nomes vernaculares como sangue-de-drago e sangue-de-dragão (no Brasil), sangre-de-grado (na Bolívia, Peru e Equador). Com fins terapêuticos para a cura de diversas enfermidades por apresentar: atividade antiinflamatória, cicatrizante de feridas, anti-diarréica, analgésica bucal e para a cura de úlceras estomacais (11).

Diversos compostos químicos são extraídos da *C. lechleri*, seus principais princípios ativos são o 3',4'-O-dimetilcedrusina, que atua sobre os radicais livres e a taspina, um alcalóide incomum com uma estrutura dilactone com um átomo de nitrogênio não incluído em um anel heterocíclico (12), e apresenta atividades antiinflamatórias, antibióticas e cicatrizantes (13, 14, 15, 16), já os compostos fenólicos como, a proantocianidinas, diterpenos, catequinas, epicatequina, galocatequina e epigalocatequina, são conhecidos como potentes inibidores da toxina da cólera (17), porém poucos são os estudos realizados para detecção da ação mutagênica do extrato dessa planta.

Os efeitos mutagênicos podem ser observados por meio da formação de micronúcleos, que são pequenos corpos contendo ácidos desoxirribonucleicos (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 (18). Um cromossomo inteiro ou fragmento cromossômico acêntrico não se integra ao novo núcleo (por não estar unido), este também pode constituir um pequeno núcleo individual, chamado de micronúcleo (19), (Figura 1).



**Figura 1.** Formação de micronúcleos em células eucarióticas (Imagem: Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti).

O teste de micronúcleos detecta mutagênese em organismos eucariotos do tipo clastogênese, aneugênese e danos no fuso mitótico. Os micronúcleos são identificados em qualquer tipo de célula, podendo os micronúcleos serem avaliados para diagnóstico de doenças hematológicas em células epiteliais da boca, do trato urinário e também monitorar ambientes através de testes com roedores e plantas (20).

Para que o micronúcleo seja visualizado é necessária uma divisão celular após a ocorrência mutagênica, sendo necessário fazer o cultivo celular, ou usar células que estão se multiplicando constantemente, como a medula óssea e raízes (21).

O sistema de teste de micronúcleo em raízes da espécie *Allium cepa* (cebola), é definido como sendo um dos melhores para estudos de monitoramento ambiental e mutagênicidade de plantas medicinais, por sua sensibilidade e exatidão, e, porque as raízes da *A. cepa* possuem processo de divisão celular similar aos do homem (22). Na região do vale do Jamarí, que abrange o município de Ariquemes, RO, o método utilizando raízes da *A. cepa*, foi adaptado para aplicabilidade em estudos ambientais e farmacológicos, sendo o mesmo descrito por Meneguetti *et al.*, 2011 e publicado no congresso da Sociedade Brasileira de Mutagênese Carcinogênese e Teratogênese Ambiental (SBMCTA) (23).

O presente estudo objetivou analisar a mutagênicidade do extrato metílico de *C.*

*lechleri* (sangue-de-dragão), por meio do teste de micronúcleo em *A. cepa*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### OBTENÇÃO DO EXTRATO

As cascas da planta em estudo foram obtidas na chácara 36, situada na RO 257, Km 12 no município de Ariquemes no Estado de Rondônia (RO), Brasil, na data de 16/03/2011, sendo encaminhadas para o Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente (FAEMA) no Município de Ariquemes, RO.

As cascas foram cortadas em tamanhos pequenos, para aumentar a superfície de contato, em seguida deixadas em contato com o solvente em um becker pelo período de dois dias. O solvente utilizado foi o álcool metílico, devido as suas características de polaridade, possibilita a extração de um maior número de compostos, o qual foi armazenado em recipiente fechado em temperatura ambiente até o momento dos ensaios posteriores. Para a obtenção de um extrato puro, foi realizada a evaporação do solvente, sendo utilizado Evaporador Rotativo (Q344B- QUIMIS).

### ANÁLISE MUTAGÊNICA

Foram utilizados exemplares de *A. cepa*, de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinados e saudáveis, adquiridos no mercado municipal do Município de Ariquemes, Rondônia, Brasil, tendo início no dia 29/04/2011 e término no dia 07/05/2011.

Os bulbos foram postos a germinar, por um período de seis dias a temperatura de 25°C, em frascos apropriados, com a parte inferior mergulhada em solução contendo 50mL de água destilada e o extrato vegetal em teste, em cinco concentrações diferentes, com 10 repetições cada. O primeiro experimento contendo apenas água destilada, os seguintes 0,1mL; 0,3mL; 0,6mL e 1mL de extrato da planta (Figura 2).

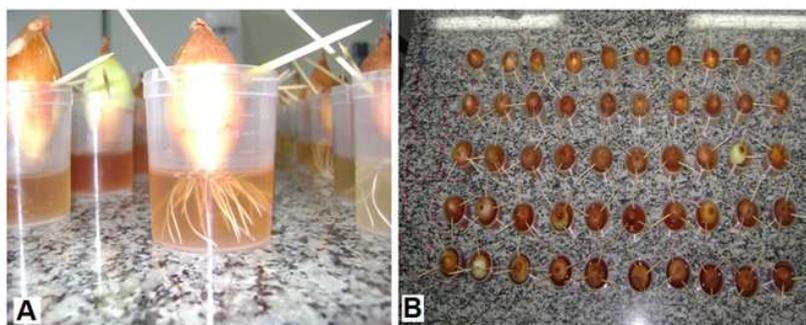


Figura 2. Geminação de *Allium cepa* em extrato de *C. lechleri* (Imagem: Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti).

Quando as raízes atingiram o comprimento de 0,5 a 3cm, foram coletadas para análise de micronúcleos, lavadas em água destilada, hidrolisadas com HCl a 1mol/L por 10 minutos em banho-maria a 60°C e após, sendo os tubos de ensaio resfriados em água corrente.

Após a lavagem dos meristemas hidrolisados em água destilada foram feitos esfregaços em duas lâminas para todas as concentrações, totalizando 100 lâminas e após 30 minutos de secagem as lâminas foram coradas com o Kit Panótico Rápido LB que é composto de três recipientes: o primeiro com triarilmetano a 0,1%, o segundo com xatenos a 0,1% e o terceiro com tiazinas a 0,1%, sendo as lâminas mergulhadas 10 vezes em cada recipiente com submersão de 1 segundo de duração na sequência acima descrita.

Posteriormente, as lâminas foram lavadas em água destilada e secas à temperatura ambiente. Em cada repetição das doses, foram preparadas duas lâminas com um total de 100, sendo 20 para cada dose. A avaliação das lâminas consistiu na observação da presença de micronúcleos em 1.000 células em interfase por bulbo em microscopia óptica, com objetiva de 40x e ocular de 10x tendo um aumento de 400x (Figura 3).

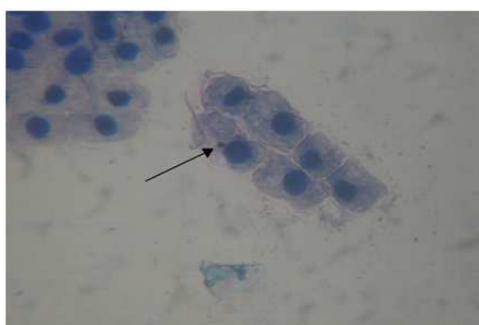


Figura 3. Micronúcleo em célula de *Allium cepa* exposta (ocular: 10x, objetiva 40x) (Imagem: Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti).

Para a análise estatística foi utilizada variância (ANOVA), teste não-paramétrico TUKEY, utilizando o Software Graphad PRISM 5.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### EXTRATO

Após a retirada do solvente (álcool metílico), com o uso de evaporador rotativo a uma temperatura constante de 60°C, sendo esse processo repetido por três vezes para obter o máximo possível de extrato puro, obteve-se uma quantidade de 63,5 g de extrato a partir de uma quantidade de 356,4 g da casca da planta estudada, tendo um rendimento de 17,8 % de extrato puro. O líquido obtido após todo o processo de rotaevaporação era viscoso e de cor vermelho escuro.

### MICRONÚCLEO

Os resultados obtidos por meio da análise mutagênica do extrato da seiva de *C. lechleri*, estão representados na (Tabela 1).

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

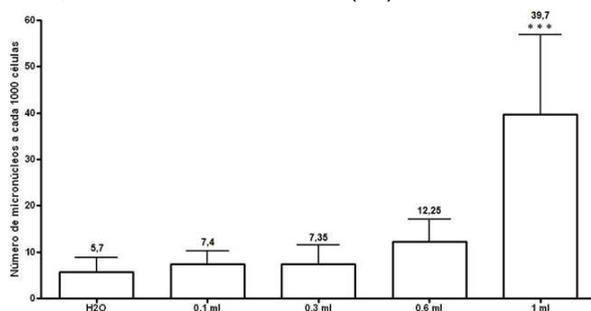
	H <sub>2</sub> O	0,1 mL	0,3 mL	0,6mL	1mL
Frasco 01	3	5	3	16	33
	3	8	9	15	28
Frasco 02	5	9	1	11	16
	4	8	9	12	49
Frasco 03	4	9	5	14	35
	13	4	4	7	32
Frasco 04	8	5	9	8	40
	7	3	6	9	19
Frasco 05	6	7	4	8	39
	6	9	13	10	25
Frasco 06	4	9	16	17	69
	3	4	12	25	58
Frasco 07	6	8	3	17	19
	2	4	5	12	25
Frasco 08	4	5	6	13	30
	7	11	6	8	34
Frasco 09	1	14	8	15	72
	8	9	4	16	66
Frasco 10	8	6	8	4	54
	12	11	16	8	51
Total	114	148	147	245	794
Média	5,7	7,4	7,35	12,25	39,7

Observando os dados da tabela acima, nota-se a presença 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 0,1mL, 0,3mL, 0,6mL, de extrato obteve-se respectivamente 7,4; 7,35 e 12,25 micronúcleos por 1.000 células ( $p > 0,05$ ), não havendo significância estatística dos mesmos em relação ao controle negativo, não aumentando assim, a probabilidade de ocorrência de mutagenicidade pelo uso dos mesmos nas respectivas doses (Figura 4).

A não ocorrência de mutagenicidade provocada pelo extrato de *C. lechleri*, foi observada em estudo realizado com teste Ames/Salmonella, onde nenhuma atividade mutagênica foi encontrada, mostrando ainda efeitos inibitórios às atividades mutagênicas do 2-aminoantraceno e 2-nitrofluorene (24), mostrando que essa planta possui baixa toxicidade, sendo a mesma tolerada para estudos clínicos (16), e ainda apresenta atividade com propriedades anti-tumoral e anti-mutagênica, podendo inibir a proliferação de células leucêmicas nos humanos (9, 16, 24, 25, 26, 27).

Já para o tratamento, contendo 1mL do extrato o índice de micronúcleo por 1.000 células foi de 39,7 sendo ( $p < 0,001$ ) obtendo-se uma alta significância estatística (figura 4), mostrando que a dose de 1mL aumenta significativamente o potencial mutagênico.

Esse potencial mutagênico já foi relatado em estudo realizado por meio do teste Salmonella/microsossoma, onde foi detectado mutações do tipo: substituição de pares de base, reversões e frameshift (28).



**Figura 4.** Média de números de micronúcleo encontrados em 1000 células de *A. cepa*, por dosagem em amostra de extrato de *C. lechleri*. Significativo para \*\*\* ( $P < 0,001$ ).

Esses dados são preocupantes visto que na região amazônica são recomendadas doses progressivas de 30 gotas ao dia para o tratamento de tumores (29), já para o efeito

contraceptivo do látex é indicada uma gota em água morna durante a menstruação ou dois dias depois (30,31), além de serem relatadas indicações de curandeiros da cidade de Iquitos, Peru, e suas respectivas formas de preparação e doses a serem administradas pelas mulheres, mencionando que o látex pode ser tomado nas seguintes formas: seis gotas dissolvidas em uma colherada de água, em jejum, um dia antes e um dia depois da menstruação; também na forma de banhos, colocando-se uma colher de látex em ½ litro de água, depois de cada relação sexual; em jejum, pode-se tomar, no quarto dia da menstruação, por dez dias consecutivos, cinco gotas de látex em uma colher de água tibia (32).

Mesmo antes de se conhecer os efeitos mutagênicos dessa planta, o uso da mesma já era desaconselhável por via interna em casos de gravidez e lactação, (33), sendo também alertado que o látex usado em excesso, causa queimadura nos tecidos (32).

É relevante ressaltar que as concentrações estudadas acima são diluídas em 50mL de H<sub>2</sub>O, já quando absorvidas por humanos será diluída na corrente sanguínea que é de aproximadamente 5.000mL, além da ação fisiológica humana que pode atuar de maneira diferente, e devido a isso são indicados testes em animais para melhor compreensão dos efeitos mutagênicos desse extrato vegetal.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Constatou-se que o extrato da seiva da casca de *C. lechleri* em concentrações de 0,1mL, 0,3mL, 0,6mL para 50mL de H<sub>2</sub>O, não tem ação mutagênica, no entanto, o resultado obtido com o uso da concentração de 1mL, demonstrou um alto índice de micronúcleos, o que evidencia o potencial mutagênico desta espécie. Entretanto, faz-se necessário estudos que avaliem os riscos-benefícios da utilização do extrato de *C. lechleri* em longo prazo, além disso, vale ressaltar que estes resultados são preliminares e futuros estudos precisam ser realizados para investigações mais conclusivas dos efeitos mutagênicos dessa espécie em animais.

Fabiane Fão, Renato André Zan, Filomena Maria Minetto Brondani, Leandro José Ramos, Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti

*Endereço para correspondência:* Fabiane Fão  
Avenida Machadinho, nº 4.349, Setor 6  
Ariquemes-RO

76873-630

E-mail: [bia-45@hotmail.com](mailto:bia-45@hotmail.com)

Recebido em 25/07/2011

Revisado em 13/09/2011

Aceito em 02/12/2011

## REFERÊNCIAS

- (1) SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. **Produtos de Origem Vegetal e o Desenvolvimento de Medicamentos**. In: Simões, C.M.O et al. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Porto Alegre: UFRGS, 2007. p. 371-400.
- (2) WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION GENEVA. **General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine**. n.1, 2000.
- (3) 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.
- (4) CECHINEL FILHO, V.; ROSENDO, A.Y. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova*, v. 21, n. 1, 1998.
- (5) ABREU, A. S.; BARBOSA, P. S.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P. Constituintes químicos do caule e das cascas do caule de *croton pullei* var. *Glabrior* (euphorbiaceae). *Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA*, v. 1, n. 2, p. 1-9, 2001.
- (6) VIEIRA, A.; GUIMARÃES, M.A.; DAVID, G.Q.; KARSBURG, I.V.; CAMPOS, A.R. Efeito genotóxico da infusão de capítulos florais de camomila. *Revista Trópica. Ciências Agrárias e Biológicas*, v. 3, n. 1, 2009.
- (7) DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: UNESP, 2002.
- (8) STURBELLE, R.T.; PINHO, D.S.; RESTANI, R.G.; OLIVEIRA, G.R.; GARCIAS, G.L.; MARTINO-ROTH, M.G. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20. n. 3, p. 415, 2010.
- (9) OSAKADA, A. **Desenvolvimento inicial de sangue-de-dragão (*Croton lechleri* MULL. ARG) sob diferentes classes de solos, corretivos e níveis de luminosidade na Amazônia central**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2009.
- (10) SMITH, B.A. A new species of *Croton* (*Euphorbiaceae*) from Ecuador. Department of Environmental Studies, Emory University, 400 Dowman Drive, Atlanta Georgia. *Novon. A journal for botanical nomenclature from the Missouri Botanical Garden*, v. 16, n. 1, p. 273-274, 2006.
- (11) ZEVALLOS-POLLITO, P.A.; TOMAZELLO FILHO, M. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (*Euphorbiaceae*) no Estado do Acre. *Revista Brasileira de Biociência*, v. 5, n. 2, p. 177-179, 2007.
- (12) ROSSI, D.; GUERRINI, A.; MAIETTI, SILVIA.; BRUNI, R.; PAGANETTO, G.; POLI, F.; SCALVENZI, L.; RADICE, M.; SARO, K.; SACCHETTI, G. Chemical fingerprinting and bioactivity of Amazonian Ecuador *Croton lechleri* Mull. Arg. (*Euphorbiaceae*) stems bark essential oil: A new functional food ingredient. *Food Chemistry*, v. 126, p. 837-848, 2011.

- (13) MEZA, E.N.; AYALA, F. El manejo sostenible de sangre de drago o sangre de grado. **Shaman Pharmaceuticals e Healing Conservancy**, San Francisco, p. 29, 1998.
- (14) MEZA, E.N.; AYALA, F.; CASTEÑEL, M.; FORERO, L.E.; PEÑA, M.; ORTIZ, A.; KING, S.; BORGES, J.R. **Sustainable harvesting of sangre de drago o sangre de grado. Shaman Pharmaceuticals/The Healing Forest Conservancy**. San Francisco, 1998.
- (15) FORERO, L.E.; CHÁVEZ, J.F.; YESID, H. **Croton lechleri. Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas**. Convenio Andrés Bello. CYTED. Martínez, Yesid & Cáceres. Satafé de Bogotá DC (Colombia), 2000.
- (16) JONES, K. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*) - a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections and wounds: traditional uses to clinical research. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 9, p. 877-896, 2003.
- (17) LOPES, M.I.L.; SAFFI, J.; ECHEVERRIGARAY, S.; HENRIQUES, J.A.P.; SALVADOR, M. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 437-445, 2004.
- (18) MILLER, R.C. **The Micronucleus Test as an *in Vivo* Cytogenetic Method**. Environmental Health Perspectives. Institute for Medical Research Camden, New Jersey, 1973.
- (19) COSTA, R.M.A.; MENK, C.F.M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biociência & Desenvolvimento**, 2000.
- (20) 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. **Revista científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 2, n. 1, p.13-22, 2011.
- (21) VILLELA, V. I.; LAU, A. Bioensaios para o Monitoramento de Genotoxicidade Ambiental. In: Silva, J; Edrtmann, B; Henriques, J.A.P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003. p. 158-159.
- (22) GAVRONSKI, L. **Avaliação da Mutagênese de Amostras de Água do Rio dos Sinos através do Teste *Allium cepa***. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Aplicada) - Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 2008.
- (23) MENEGUETTI, D. U. O.; SILVA, F.C.; PELLENZ, D.C.; SOUZA, N.C.; RAMOS, L.J. **Adaptation of the technical micronucleus in *Allium cepa*, to future analysis of mutagenicity of 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.
- (24) ROSSI, D.; BRUNI, R.; BIANCHI, N.; CHIARABELLI, C.; GAMBARI, R.; MEDICI, A.; LISTA, A.; PAGANETTO, G. Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potential of *Croton lechleri* Muell. Arg. latex. **Phytomedicine**, v. 10, p. 139-144, 2003.
- (25) CHEN, Y.; CAI, Y.; PHILLIPSON, J.D. Studies on the anti-tumor, anti-bacterial and woundhealing properties of Dragon's blood. **Planta Medica**, v. 60, p. 541-545, 1994.
- (26) RISCO, E.; GHIA, F.; VILA, R.; IGLESIAS, J.; ALVAREZ, E.; CANIGUERAL, S. Immunomodulatory activity and chemical characterization of sangre de drago (dragon's blood) from *Croton lechleri*. **Planta Medica**, v. 69, n. 9, p. 785-794, 2003.
- (27) TAMARIZ ORTIZ, J.H.; CAPCHA MENDOZA, R.; PALOMINO CADENAS, E.J.; AGUILAR OLANO, J. Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. **Revista Médica Herediana**, v.14, n. 2, p. 81-88, 2003.
- LOPES, M.I.; SAFFI, J.; ECHEVERRIGARAY, S.; HENRIQUES, J.A.; SALVADOR, M. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 437-445, 2004.
- (29) ESTRELLA, E. **Plantas medicinales amazônicas: realidade y perspectivas**. Lima: TCA, 1995. 301p.

(30) REVILLA, J. **Plantas da Amazônia:** oportunidades econômicas e sustentáveis. Manaus: SEBRAE-AM/INPA, 2001. 405p.

(31) REVILLA, J. **Plantas úteis da Bacia Amazônica.** Manaus: INPA/SEBRAE, v.1, 2002.

(32) DELGADO, H.S; HERRERA, J.E.H; SIFUENTES, T.C; RUÍZ, J.G; DÁVILA, M.M; ISERN, F.R. **Plantas medicinales de la amazonia peruana utilizadas por curanderos y chamanes com fines anticonceptivos.** Iquitos: Peruano de Seguridad Social/Instituto de Medicina Tradicional, 1997.

(33) REVILLA, J. **Apontamentos para a cosmética amazônica.** Manaus: SEBRAEAM/INPA, 2002. 532p.