



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - MODALIDADE LICENCIATURA

Darciella de Moura Silva

**AÇÃO DE EXTRATOS AQUOSOS BRUTOS PROVENIENTES DO CAULE DE
Cereus jamacaru DE CANDOLLE (CACTACEAE) EM CÉLULAS
MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE *Allium cepa* L.**

PICOS, PIAUÍ

2014

Darciella de Moura Silva

**AÇÃO DE EXTRATOS AQUOSOS BRUTOS PROVENIENTES DO CAULE DE
Cereus jamacaru DE CANDOLLE (CACTACEAE) EM CÉLULAS
MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE *Allium cepa* L.**

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Peron.

PICOS, PIAUÍ

2014

Eu, **Darciella de Moura Silva**, abaixo identificado(a) como autor(a), autorizo a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação abaixo discriminada, de minha autoria, em seu site, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, a partir da data de hoje.

Picos-PI, 04 de julho de 2014.

Darciella de Moura Silva
Assinatura

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

S586a Silva, Darciella de Moura.
Ação de extratos aquosos brutos provenientes do caule de *Cereus jamacaru* de Candolle (Cactaceae) em células meristemáticas de raízes de *allium cepa* L. / Darciella de Moura Silva. – 2013.

CD-ROM : il. ; 4 ¾ pol. (29p.)

Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) –
Universidade Federal do Piauí. Picos-PI, 2013.
Orientador(A): Profa. Dra. Ana Paula Peron

1.Aberrações celulares. 2.Efeito antiproliferativo.
3.Mandacaru. 4.Sistema-teste vegetal. I. Título

CDD 581.4

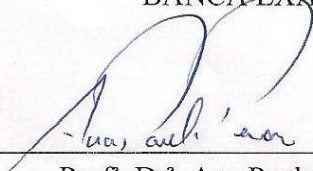
Darciella de Moura Silva

**AÇÃO DE EXTRATOS AQUOSOS BRUTOS PROVENIENTES DO CAULE DE
Cereus jamacaru DE CANDOLLE (CACTACEAE) EM CÉLULAS
MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE *Allium cepa* L.**

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí,
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

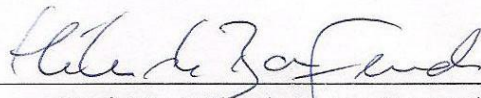
Monografia aprovada em 10 / 03 / 14

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dr.^a. Ana Paula Peron (Orientadora)
Curso de Ciências Biológicas – UFPI

Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima
Prof. Me. Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima (Examinador)
Curso de Ciências Biológicas – UFPI



Prof. Me. Hélio de Barros Fernandes (Examinador)
Curso de Ciências Biológicas – UFPI

À minha família, meu alicerce, em especial à minha mãe Ana Francisca de Moura Silva, que sempre me incentivou a colocar os estudos acima de tudo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre ter me guiado pelos melhores caminhos, por todo o amor, sabedoria, perseverança e por ter me dado forças para superar os diversos obstáculos encontrados durante a minha graduação.

À minha família, por todo sacrifício sofrido para eu estar aqui hoje, em especial aos meus pais, Francisco Antônio da Silva e Ana Francisca de Moura Silva pela dedicação à minha educação e por terem abdicado muitas vezes dos seus sonhos em favor dos meus; e às minhas irmãs Dayana de Moura Silva e Maria Denise de Moura Silva.

À Prof.^a. Dr.^a. Ana Paula Peron, pela orientação, colaboração, paciência e atenção para que eu pudesse desenvolver este trabalho.

Aos amigos da universidade, que sempre me ajudaram nas horas difíceis, com muita compreensão e cumplicidade e pelos grandes momentos de descontração, em especial ao Gabriel Moura, Ronielson Carvalho, sempre lembrarei das boas risadas que demos juntos.

Às minhas amigas, Natália Almondes, Antônia Almondes e Aline Lima que sempre me distraíam quando eu estava com a cabeça quente por conta dos estudos. Obrigada por todos os conselhos, companheirismo e histórias vividas, que foram essenciais para essa conquista.

Ao meu namorado, Pablo Araújo, que sempre teve paciência e compreensão comigo nessa etapa final do curso, onde eu estava muitíssima ocupada e estressada.

Aos meus companheiros de laboratório, muito obrigada por toda a ajuda. Vocês foram peças fundamentais na conclusão desse trabalho.

Aos mestres pelos ensinamentos repassados, as dúvidas esclarecidas, pela amizade e paciência.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista, meu muito

OBRIGADA!!!

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.”

(Charles Chaplin)

RESUMO

A espécie *Cereus jamacaru* De Candolle (Família Cactaceae), conhecido popularmente como mandacaru, é uma planta nativa do caatinga e de grande importância econômica no Nordeste brasileiro, sendo muito utilizada na alimentação humana e animal e também como planta medicinal. Este trabalho teve por objetivo avaliar a ação de extratos aquosos provenientes da maceração do caule de *Cereus jamacaru* (popular mandacaru) sobre as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. em três concentrações, 0,25g/ml; 0,33g/ml e 0,5g/ml, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas. Para cada concentração utilizou-se um grupo de cinco bulbos de cebolas. As radículas foram coletadas e fixadas em ácido acético (3:1) por 24 horas. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética a 2%. A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o Qui-quadrado ($p < 0,05$). Os resultados demonstraram que as concentrações 0,33g/ml e 0,5g/ml tiveram efeito antiproliferativo e induziram um número estatisticamente significativo de aberrações celulares e de prófases nas células do sistema-teste em questão. Portanto, nas condições analisadas, estas duas concentrações mostraram-se citotóxicas.

PALAVRAS-CHAVE: aberrações celulares; efeito antiproliferativo; mandacaru; sistema-teste vegetal.

ABSTRACT

The species *Cereus jamacaru* De Candolle (Family Cactaceae), popularly known as mandacaru, is a plant native caatinga and of great economic importance in the Brazilian Northeast, commonly used in food and feed as well as a medicinal plant. This study aimed to evaluate the effect of aqueous extracts from the maceration of the *Cereus jamacaru* (mandacaru) stem on root meristem cells of *Allium cepa* L. at three concentrations, 0,25g/ml; 0,33g/ml and 0,5g/ml and exposure times of 24 and 48 hours. For each concentration a group of five onion bulbs was used. The root tips were collected and fixed in acetic acid (3:1) for 24 hours. The slides were prepared by crushing and stained with 2% acetic orcein. Data analysis was performed using the Chi-square ($p < 0.05$). The results showed that the concentrations of 0,33g/ml and 0,5g/ml have an antiproliferative effect and induced a statistically significant number of cellular aberrations and prophase in the cells of the test system in question. Therefore, under the conditions studied, these two concentrations present as cytotoxic.

KEYWORDS: antiproliferative effects; cellular aberrations; mandacaru; plant test system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica da Família Cactaceae	15
Figura 2 - <i>Cereus jamacaru</i> (Mandacaru)	16
Figura 3 - Aberrações celulares encontradas nas concentrações.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número de células em intérfase e em diferentes fases da divisão celular, total de células analisadas no ciclo celular de pontas de raízes de <i>A. cepa</i> tratadas com água (Controle) e com os extratos aquosos brutos provenientes do cladódio de <i>C. jamacaru</i> nas concentrações de 0,25g/ml, 0,33g/ml e 0,5g/ml nos tempos de exposição 24 e 48 horas	22
Tabela 2 – Número de metáfases colchicínicas, pontes anafásicas e telofásicas, células micronucleadas e total de aberrações celulares encontradas em cada controle e nas concentrações de 0,25g/ml, 0,33g/ml e 0,5g/ml de extratos aquosos de <i>C. jamacaru</i> , nos tempos de exposição 24 e 48 horas	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 <i>Família Cactaceae e o Gênero Cereus.....</i>	15
2.2 <i>A medicina popular e a espécie Cereus jamacaru.....</i>	16
2.3 <i>Testes feitos com Allium cepa para avaliar efeitos de plantas medicinais.....</i>	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1 <i>Coleta da planta.....</i>	20
3.2 <i>Preparação de extratos aquosos ou concentrações.....</i>	20
3.3 <i>Obtenção de células meristemáticas para a análise citogenética.....</i>	20
3.4 <i>Preparo e leitura das lâminas, e análise dos dados.....</i>	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, cerca de 70% da população mundial faz uso de plantas medicinais no atendimento básico a saúde (FRESCURA et al., 2012). No Brasil, essa prática é amplamente difundida, porém, quase sempre realizada de forma indiscriminada e sem orientação médica (ASARE et al., 2012).

A espécie *Cereus jamacaru* De Candolle (Família Cactaceae), o popular mandacaru, amplamente utilizada na medicina tradicional da região nordeste do Brasil, com destaque aos estados do Maranhão, Piauí, Ceará e Paraíba, é nativa da caatinga e juntamente com outras cactáceas forma a paisagem típica da região semiárida deste país (TAYLOR; ZAPPI, 2004). Seu cladódio, que pode chegar a dois metros de altura, é lenhoso, com ramos eretos e cheios de espinhos, possuindo em sua constituição fitoquímica o nitrato de sódio; o β -sisterol; as aminas tiramina, N-metilamida e horderina; muitas fibras e ácidos graxos insaturados, como o ácido oléico e o ácido linoléico; e saturados, como o ácido palmítico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido esteárico, betalaína e indicaxantina (MEIADO et al., 2010).

Muito do que se conhece sobre a atividade medicinal do caule do mandacaru foi descrito na literatura científica com base em relatos feitos pela cultura popular, como a ação antimicrobiana, vasodilatadora, anti-inflamatória, anticonceptiva (COSTA, 1997), e anticonstipante (RESENDE et al., 2007). No entanto, alguns estudos experimentais já foram conduzidos e mostraram que o extrato aquoso de seu cladódio possui ação no controle da albuminúria e da diabetes, no tratamento de distúrbios renais, na amenização de problemas respiratórios, como tosses e bronquites (GUEDES et al., 2009), no controle do colesterol alto (MAGALHÃES, 2006), e atividade anti-helmíntica (VATTA et al., 2011).

Ainda, Bruton et al. (2006) relataram o seu possível potencial na amenização dos sintomas do Mal de Parkinson, visto que, a tiramina presente em sua constituição tem a propriedade de modificar o acúmulo e a liberação de norepinefrina nas terminações nervosas de algumas espécies de roedores. Porém, Messias et al. (2009), relataram que o potencial tóxico desta cactácea não é bem conhecido e destacaram a urgente necessidade de avaliação de sua toxicidade em nível sistêmico e celular.

Muitas plantas medicinais já demonstraram ter ação citotóxica, genotóxica e/ou mutagênica (VARANDA, 2006), condições estas que podem contribuir de forma significativa para o desenvolvimento de câncer (MEYER et al., 2012). Assim, estudos de avaliação de toxicidade em nível celular, em vários sistemas testes, são necessários para auxiliarem na

padronização de quantidades seguras e eficazes de utilização destes fitoterápicos para a população (ASARE et al., 2012).

Os bioensaios com plantas são considerados bastante sensíveis, rápidos e simples no monitoramento dos efeitos tóxicos em nível celular de compostos químicos, onde se pode citar as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* (cebola) como eficientes organismos-testes para o primeiro screening da citotoxicidade de extratos aquosos brutos de plantas medicinais (SABINI et al., 2011, HERRERO et al., 2011) em função de suas propriedades cinéticas de proliferação, por possuir cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$), o que facilita a sua análise (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008), e por permitir boa visualização das aberrações celulares quando presentes (BAGATINI et al., 2007). Fachinneto et al. (2007), Sabini et al. (2011) e Herrero et al. (2012) e citam que os resultados obtidos por meio deste sistema-teste são excelentes parâmetros de análise citotóxica e genotóxica, e o mesmo tem sido muito usado como indicativo para prever a população humana sobre o consumo de determinados alimentos e medicamentos, sintéticos ou naturais.

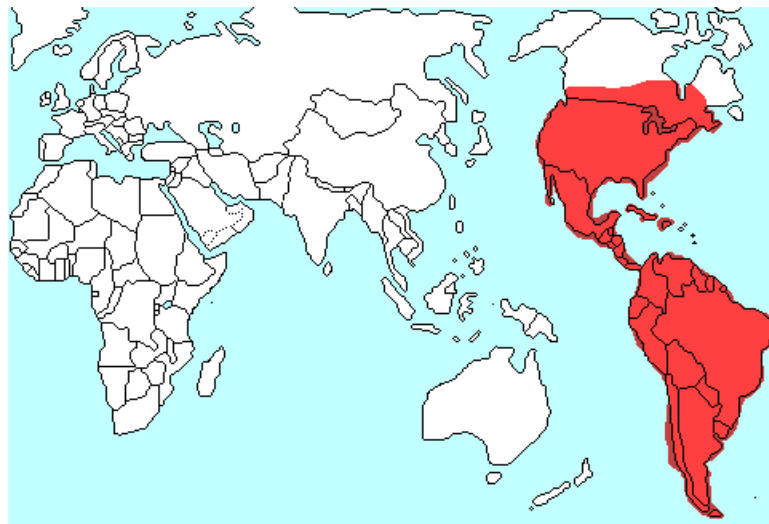
Neste contexto, este trabalho teve por objetivo avaliar a ação de diferentes concentrações de extratos aquosos brutos obtidos a partir do cladódio de mandacaru, sobre o ciclo celular das células meristemáticas de raízes de *A. cepa*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Família Cactaceae e o Gênero *Cereus*

A família Cactaceae, pertence ao Reino Plantae, Divisão Angiospermae, Classe Magnoliophyta e Ordem Caryophyllales, com aproximadamente 125 gêneros e 1.900 espécies, ocorre nas regiões temperadas e tropicais do continente americano (Figura 01), e encontra-se distribuída em vários tipos de habitats, desde regiões áridas, como o nordeste brasileiro, até florestas úmidas (ARECES, 2004).

Figura 1 - Distribuição geográfica da Família Cactaceae



FONTE: www.omnicyber.org/Bio/Families/FamIndex.html

As plantas da família Cactaceae são classificadas como eudicotiledôneas suculentas de diversos hábitos, podendo se apresentar como árvores, arbustos, trepadeiras, epífitas ou geófitas (DAVET, 2005). Apresentam caules colunares, roliços, globulares, tuberculados, em forma de costeletas, asas ou achatados, geralmente segmentados, com ou sem folhas e com a presença de espinhos (BARROSO et al., 2002).

Um dos gêneros mais conhecidos da família Cactaceae é o *Cereus*, pertencente à subfamília Cactoideae e ao grupo Cereoideae, caracterizado por plantas tipo árvores ou arbustos de hastes eretas. Este gênero foi primeiramente descrito por Hermann, em 1698 e depois por Miller em 1754, e inclui 900 espécies publicadas (DAVET, 2005).

De acordo com Davet (2005), as espécies deste gênero mais conhecidas e utilizadas pela população são: *Cereus adeemani*, *Cereus bicolor*, *Cereus comarapanus*, *Cereus friccii*, *Cereus*

jamacaru (mandacaru), *Cereus hildmannianus* (tuna), *Cereus repandus* (Cacto-do-peru), *Cereus trigoniodendron* e *Cereus vargasianus*. Esta mesma autora ainda ressalta que uma das espécies de *Cereus* mais encontradas e de grande importância medicinal, econômica e ambiental para o nordeste brasileiro é o *Cereus jamacaru* De Candolle.

Lucena et al. (2012), destacou o *Cereus jamacaru* (Fig. 2), dentre as cactáceas estudadas em seu trabalho, como a de grande importância econômica, sendo útil a planta inteira para alimentação de animais (bovinos, caprinos e ovinos, principalmente no período de seca, já que a mesma possui grande quantidade de água em seu caule), consumo do fruto por humanos e pássaros, além das raízes e caule serem usadas como medicinais.

Figura 2 – *Cereus jamacaru*, o mandacaru



FONTE: www.cerratinga.org.br/mandacaru/

2.2 A medicina popular e a espécie *Cereus jamacaru*

Plantas medicinais caracterizam-se por toda e qualquer planta que atue de maneira benéfica no combate ou minimização de enfermidades. O seu uso na cura de doenças deixou de ser considerado místico, e vem sendo explorado cada vez mais quanto ao seu potencial na cura e amenização dos sintomas de várias doenças, sendo atualmente objeto de estudo de grandes pesquisas (RICARDO, 2011).

O conhecimento sobre plantas medicinais, geralmente transmitidos pelos mais velhos, simboliza, muitas vezes, o único recurso terapêutico de comunidades e grupos étnicos carentes. Hoje em dia nas regiões mais carentes do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, as

plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL et al, 2002).

A utilização destas plantas é o resultado de uma série de conhecimentos acumulados mediante a relação direta dos seus membros com o meio ambiente e da difusão de uma série de informações, tendo como influência o uso tradicional transmitido oralmente entre diferentes gerações (MOREIRA et al., 2002). Os dizeres populares sobre os benefícios do uso de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, apesar de muitas vezes, estas plantas não terem seus efeitos tóxicos bem determinados e oferecerem riscos a população que às utilizam (MACIEL et al., 2002).

Em um trabalho feito por Veiga Júnior (2008), foram aplicados 1.218 questionários (998 à população em geral e 220 em profissionais de saúde), onde constatou-se que 80% dos entrevistados ingerem os preparados à base de plantas medicinais, como garrafadas, chás, infusões, e apenas pequena parte (2,4%) faz consumo de extratos em cápsulas, obtidos em farmácias, com uma dose mais segura do princípio ativo da planta. Veiga Júnior (2008) ainda afirma que ao se ingerir extratos à base de plantas medicinais obtidos de fonte não segura, são grandes os riscos de intoxicação.

No Brasil, a utilização de plantas na cura ou amenização de doenças é uma prática amplamente difundida e, na maioria dos casos, feita sem orientação médica ou de outro profissional da área da saúde, em função da crença de que produtos de origem vegetal são isentos de reações adversas (RODRIGUES, et al., 2011). No entanto, Vicentini et al. (2001) afirmam que os chás e infusões de plantas medicinais podem conter substâncias tóxicas com efeitos mutagênicos.

As plantas medicinais no nordeste do Brasil são usadas com muita frequência, e dentre elas, o *Cereus jamacaru* se destaca por seus inúmeros benefícios, entretanto pouco estudados. A planta como um todo é usada no combate ao escorbuto e nas afecções do aparelho respiratório (bronquites, tosse), e as raízes e o caule são diuréticos e melhoram males do coração (DAVET, 2005). De acordo com Medeiros (2011), o mandacaru ainda possui propriedades emenagoga, anticonstipante, anti-hipertensiva, anti-reumática e antiemética.

Lucena et al. (2012), constatou em sua pesquisa que as raízes do mandacaru são usadas no preparo de infusões que auxiliam no combate ao colesterol, doenças cardíacas, gastrite, gripe e infecções de modo geral. A parte interna do cladódio também é utilizada, onde é colocado na

água para ser consumido no dia seguinte, quando se objetiva tratar de enfermidades como infecções uterinas, problemas renais, úlceras e inflamações em geral (ANDRADE et al., 2006).

Em estudo feito por Medeiros (2011), com extratos etanólicos e aquosos dos cladódios de *Cereus jamacaru*, foi detectado a presença de diversos princípios ativos, entre eles alguns alcalóides feniletilamínicos, como a tiramina, hordenina, N-metiltiramina, além do aminoácido tirosina.

Davet (2005), identificou tiramina – ou 2-phidroxifeniletilamina (C₈H₁₁NO) - em hastes frescas de *Cereus jamacaru*. Outros estudos feitos com esta planta, identificaram também, a presença de nitrato de sódio, que no organismo, são vasodilatadores utilizados especialmente para o tratamento da angina, além da presença de β-sitosterol que é amplamente difundido na natureza, presente em muitos alimentos; a ele já foram atribuídas diversas atividades, como a anti-inflamatória.

Existe uma enorme carência de trabalhos que estudem mais a fundo o mandacaru, uma vez que se trata de uma planta com toxicidade indefinida e de uso comum na população brasileira, tanto na medicina dita popular, quanto na alimentação humana e animal, o que torna necessárias mais pesquisas com essa planta (MESSIAS, 2010). Alguns trabalhos podem ser encontrados na literatura sobre ações tóxicas de outras cactáceas, como o estudo feito por Necchi (2011), onde foi avaliado o efeito tóxico renal e hepático de *Nopalea cochenillifera* através de dosagem sérica de marcadores bioquímicos. Entretanto sobre a toxicidade do *Cereus jamacaru*, existem poucos trabalhos publicados.

2.3 Testes feitos com *Allium cepa* para avaliar efeitos de plantas medicinais

Ensaio biológico utilizando espécies vegetais são utilizados para o monitoramento da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas e têm sido incorporados à identificação e monitoramento de substâncias tóxicas (NOLDIN et al., 2003). Os bioensaios podem ser feitos em papel filtro, substrato inerte, hidroponia ou solo no caso das sementes. Os parâmetros avaliados tipicamente são a germinação e o comprimento do sistema radicular (BELINELO et al., 2008), sendo que Souza et al. (2005), além dessas características, avaliaram também o índice mitótico (IM) e o índice de velocidade de germinação (IVG).

Estes sistemas-testes são considerados bastante sensíveis e simples no monitoramento dos efeitos tóxicos de compostos químicos (USEPA) (IGANCI et al., 2006) e a *Allium cepa*

tem sido indicada como um eficiente organismo-teste vegetal para avaliação de citotoxicidade (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008), em função, entre outras características, de suas propriedades cinéticas de proliferação.

Este sistema-teste também é adequado para esse tipo de estudo por possuir cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$), o que facilita a sua análise na detecção de danos à estrutura da molécula de DNA (HERRERO et al., 2012) e na verificação de alterações no índice de divisão celular (índice mitótico), como aumento ou redução da proliferação das células de tecidos que estão em exposição a compostos de interesse (TABREZ et al., 2011).

As primeiras adaptações do teste *Allium cepa* para a utilização no monitoramento ambiental, avaliação de compostos solúveis e insolúveis em água até avaliação de efeitos de misturas complexas, foi realizado em 1985 por Fiskesjö que além disso, mostrou a importância deste bioensaio para a avaliação da genotoxicidade (capacidade de substâncias causarem danos ao material genético, processo também chamado de mutagênese (SILVA et al., 2003)).

Um importante estudo foi realizado por Camparoto et al. (2002), onde utilizaram células meristemáticas de cebola e células de rato como sistemas teste para verificar os efeitos da genotoxicidade de extratos de plantas medicinais como *M. ilicifolia* e *B. candicans* e o resultado demonstrou que não houve diferença significativa na diminuição do índice mitótico em ambos os casos estudados.

Os resultados de testes de toxicidade utilizando a espécie *A. cepa* destacam a importância deste sistema-teste, pois o mesmo apresenta resultados semelhantes aos obtidos com outros bioensaios. É também importante ressaltar, como mencionado por Vicentini et al. (2001), Peron et al. (2008) e Fachinetti et al. (2009), que mesmo que o metabolismo das plantas seja diferente ao de animais, os resultados obtidos por meio deste sistema-teste são excelentes parâmetros de análise citotóxicas, e a observação da ocorrência de alterações cromossômicas no ciclo celular dessa espécie tem sido utilizado como um indicador para alertar as pessoas sobre o consumo de determinados alimentos e medicamentos, tanto sintéticos, como naturais.

Assim, o conhecimento do potencial citotóxico de plantas medicinais por meio da análise do ciclo celular de raízes de *Allium cepa* serve como indicativo de segurança para a população que utiliza chás medicinais muitas vezes como a única alternativa para o tratamento de doenças (FACHINETTO et al., 2007).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Parasitologia do Campus Senador Helvídio Nunes de Barros (CSHNB) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Município de Picos, Estado do Piauí, no período de maio à setembro de 2013.

3.1 Coleta da planta

Para realização dos experimentos, amostras de cladódio foram coletadas de uma planta de mandacaru localizada próxima ao CSHNB/UFPI. Antes de iniciar as coletas, esta cactácea foi caracterizada taxonomicamente por Maria do Socorro Meireles de Deus, mestre em botânica e docente do Curso de Ciências Biológicas do CSHNB/UFPI, como sendo a espécie *Cereus jamacaru* De Candolle.

3.2 Preparação de extratos aquosos ou concentrações

Preparou-se os extratos aquosos de *C. jamacaru* através da trituração em um liquidificador de pedaços da parte interna do cladódio imersos em água destilada. Antes da maceração, retirou-se com um estilete a epiderme e os espinhos de cada pedaço a ser utilizado.

Após este procedimento, as soluções obtidas foram coadas e, em seguida, colocadas em contato com as raízes dos bulbos de *A. cepa*. Foram estabelecidas 03 concentrações: 0,25g/ml; 0,33g/ml e 0,5g/ml, sendo a de 0,25g/ml recomendada pelo Portal de Educação – Fitoterapia e Homeopatia (2013).

3.3 Obtenção de células meristemática para a análise citogenética

Os bulbos de *A. cepa* foram enraizados em frascos com água destilada, à temperatura de 25°C e aerados constantemente, até a obtenção de raízes com cerca de 1,0cm de comprimento. Para análise de cada concentração estipulou-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebolas. Antes de se colocar as raízes em contato com as suas respectivas concentrações, algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle (CO) do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram colocadas em suas respectivas concentrações, por 24 horas, procedimento este denominado de tempo de exposição 24 horas (TE 24h).

Após este tempo foram retiradas algumas raízes e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas as suas respectivas concentrações onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição 48 horas (TE 48h). Após este período, as raízes novamente foram coletadas e fixadas. Os tempos de exposição de 24 e 48h foram escolhidos com o intuito de se avaliar a ação das concentrações estudadas em mais de um ciclo celular.

A fixação das raízes se deu em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético), a temperatura ambiente, por 24 horas. Para cada coleta de raiz, retirou-se, em média, três raízes por bulbo de cebola.

3.4 Preparo e leitura das lâminas, e análise dos dados.

As lâminas, em média 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002). Cada lâmina foi corada com duas gotas deorceína acética a 2% (FACHINNETO e TEDESCO, 2009) e analisada em microscópio óptico, em objetiva de 40X. Para cada bulbo analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada controle e concentração. Durante a análise observou-se células em intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Foi calculado o número de células em intérfase e em divisão de cada controle e tempos de exposições e determinado o índice mitótico.

Também foi avaliada a presença de aberrações celulares como anomalias do ciclo mitótico (metáfases colchícinicas, pontes anafásicas e pontes telofásicas) e anomalias interfásicas (células micronucleadas e células binucleadas). Para esta avaliação analisou-se 1.000 células de cada controle e tempo de exposição.

A análise estatística de todos os dados foi realizada pelo teste do Qui-quadrado (χ^2), com nível de probabilidade <0.05 , por meio do software estatístico BioEstat 3.0 (AYRES, 2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, é apresentado o número de células em intérfase e em diferentes fases da divisão celular, e os valores de índice mitóticos obtidos de células meristemáticas de raízes de *A. cepa* tratadas com água (Controle) e com diferentes concentrações de *C. jamacaru*, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

Tabela 1 – Número de células em intérfase e em diferentes fases da divisão celular, total de células analisadas no ciclo celular de pontas de raízes de *A. cepa* tratadas com água (Controle) e com os extratos aquosos brutos provenientes do cladódio de *C. jamacaru* nas concentrações de 0,25g/ml, 0,33g/ml e 0,5g/ml, nos tempos de exposição 24 e 48 horas.

Concentração	TE	Total de células analisadas	Células em Intérfase	P	M	A	T	Total de Células em Divisão	IM(%)
0,25g/ml	CO	5.000	4.405	233	143	108	111	595	11,9 ^a
	24h	5.000	4.628	190	76	82	24	372	7,4 ^a
	48h	5.000	4.629	218	82	54	17	371	7,4 ^a
0,33g/ml	CO	5.000	4.435	225	130	122	88	565	11,3 ^a
	24h	5.000	4.857	102	09	04	28	143	2,8 ^b
	48h	5.000	4.833	140	01	01	25	167	3,3 ^b
0,5g/ml	CO	5.000	4.269	200	269	127	135	731	13,6 ^a
	24h	5.000	4.724	244	00	00	32	276	5,5 ^b
	48h	5.000	4.702	257	00	00	41	298	6,0 ^b

TE - Tempo de Exposição; CO - Controle; P - Prófase, M - Metáfase, A - Anáfase, T - Telófase, IM - Índice Mitótico.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste χ^2 .

A partir dos resultados obtidos pode-se observar que a concentração de 0,25g/ml não alterou o índice de divisão celular das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* quando comparado os IM obtidos para os seus dois TE com o IM do seu respectivo CO. Ainda, quando confrontados os valores de índice de divisão celular obtidos para os dois TE desta concentração verificou-se que os mesmos não foram significativos entre si.

Já para as concentrações 0,33g/ml e 0,5g/ml observou-se que os IM obtidos para os dois TE foram significativamente inferiores ao IM obtidos para os seus respectivos controles ($p < 0,05$), demonstrando que estas duas concentrações tiveram efeito antiproliferativo significativo sobre o ciclo celular das células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Na tabela 1 também é importante destacar que para estas duas concentrações foi observado, nos dois TE avaliados, um maior número de células em prófase do que em outra fase da divisão celular, o que significa que essas concentrações estavam inibindo o processo de divisão celular fazendo com que as células parassem em prófase e não completassem o ciclo.

Na Tabela 2, é apresentado o número de metáfases colchicínicas, pontes anafásicas e telofásicas, micronúcleos, e o total de aberrações celulares presentes nas células meristemáticas de raízes de *A. cepa* tratadas com água (controle) e com diferentes concentrações de *C. jamacaru* nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

Tabela 2 - Número de metáfases colchicínicas, pontes anafásicas e telofásicas, células micronucleadas e total de aberrações celulares encontradas em cada controle e nas concentrações de 0,25g/ml, 0,33g/ml e 0,5g/ml de extratos aquosos de *C. jamacaru*, nos tempos de exposição 24 e 48 horas.

Concentração	TE	Total de células analisadas	Metáfases colchicínicas	Pontes anafásicas e telofásicas	Micronúcleos	Total de células aberrantes
0,25g/ml	CO	1.000	00	00	00	00 ^a
	24h	1.000	01	01	21	23 ^b
	48h	1.000	01	00	19	20 ^b
0,33g/ml	CO	1.000	00	00	00	00 ^a
	24h	1.000	01	02	20	23 ^b
	48h	1.000	04	03	21	28 ^b
0,5g/ml	CO	1.000	00	00	00	00 ^a
	24h	1.000	01	01	43	45 ^b
	48h	1.000	01	00	54	55 ^b

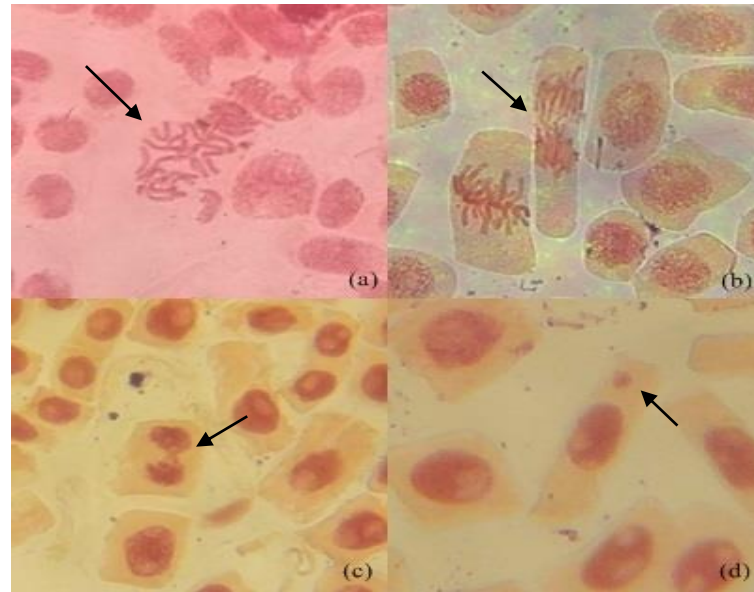
TE – Tempo de Exposição; CO – Controle.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de χ^2 .

Nos dois TE avaliados das três concentrações verificou-se a presença de metáfases colchicínicas, pontes anafásicas, pontes telofásicas e micronúcleos (Fig. 3). Todas as concentrações induziram um número de aberrações celulares que diferiu significativamente dos seus respectivos CO, porém não diferiram entre si. É importante relatar que o número de aberrações celulares, nos dois TE, com destaque ao número de micronúcleos, aumentou na concentração de 0,5g/ml. Dessa forma, os resultados obtidos em relação ao índice de divisão celular e o número de aberrações celulares observadas demonstraram que as concentrações 0,33g/ml e 0,5g/ml foram citotóxicas as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*.

De forma semelhante, Souza et al. (2001) verificaram efeito antiproliferativo significativo do extrato hidroetanólico do caule de *C. jamacaru* sobre as células de tumores induzidos em roedores (Sarcoma 180), nas concentrações de 250 e 500mg/Kg e em tratamento agudo. O trabalho desenvolvido por estes autores foi o único encontrado na literatura científica, até o momento, sobre a ação do caule de mandacaru em nível celular. Dessa forma, espera-se que os resultados obtidos neste trabalho juntamente com o trabalho de Souza e colaboradores (2001) sirvam de estímulo para a realização de outros trabalhos de avaliação de citotoxicidade, bem como os de avaliação de genotoxicidade e mutagenicidade.

Figura 3 – Aberrações celulares encontradas nas concentrações



(a): metáfase colchicínica; (b): ponte anafásica; (c): ponte telofásica; (d): célula com micronúcleo

Apesar do mandacaru ser utilizado a décadas pela população do nordeste brasileiro, e de que estudos já tenham demonstrado atividade medicinal, esta planta ainda não foi catalogada pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Brasil como sendo um fitoterápico. Segundo Carvalho (2011), é sabido que para uma planta ser indicada como medicinal por este órgão regulamentador é necessário que a mesma passe por testes toxicológicos, como os de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade. Assim, os resultados obtidos aqui são de grande importância, em função de que poderão auxiliar a estabelecer doses ideais de ingestão pela população em relação a esta planta.

É importante destacar que existe uma escassez de estudo de toxicidade para a maioria das espécies do gênero *Cereus*. Estas espécies são amplamente utilizadas na medicina tradicional e como alimentos na época da seca intensa pela população do nordeste do Brasil. Este fato solicita com urgência testes de toxicidade avaliando estas cactáceas.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, a concentração de 500g/2L não mostrou ações citotóxicas nas células meristemáticas do sistema teste *Allium cepa*. Já em contrapartida, nas concentrações de 0,5g/ml e 0,33g/ml pôde ser verificado valores significativamente inferiores ao índice mitótico de seus respectivos controles, mostrando-se com efeito antiproliferativo sobre o ciclo celular das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*. Independentemente das concentrações, todos os tratamentos apresentaram aberrações celulares com ênfase ao alto número de micronúcleos na concentração de 0,5g/ml. De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que com relação ao índice de divisão celular e ao número de aberrações, as concentrações de 0,33g/ml e 0,5g/ml mostraram-se citotóxicas às células meristemáticas de *A. cepa*.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C.T.S.; MARQUES, J.G.W.; ZAPPI, D.C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Feira de Santana, v.8, n.3, p.36-42, 2006.
- ARECES, A. Cactaceae. **In Flowering plants of the Neotropics**. (N. Smith, S.A. Mori, A. Henderson, W.D. Stevenson & S.V. Heald, eds.). Princeton and Oxford University Press, p.73-76, 2004.
- ASARE, G.A. et al. **Genotoxicity, cytotoxicity and toxicological evaluation of whole plant extracts of the medicinal plant *Phyllanthus niruri* (Phyllanthaceae)**. *Genet Mol 11*: 100-111. doi: 10.4238/2012. January.13.3.
- AYRES, M. **BioEstat 5.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília CNPq, 2007.
- BAGATINI, M.D.; SILVA, A.C.F.; TEDESCO, S.B. Uso do sistema-teste *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Santa Maria, v.17, n.3, p.444-447, jul./set. 2007.
- BARROSO, G.M. et al. **Sistemática de angiospermas do Brasil**, Viçosa: Editora UFV, 2002. 309p.
- BELINELO, V.J. et al. Alelopatia de *Arctium minus* Bernh (Asteraceae) na germinação e crescimento radicular de sorgo e pepino. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.21, n.4, p.12-16, out/dez. 2008.
- BRUTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. **Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. 11ed. São Paulo: McGraw-Hill-Interamericana do Brasil, 2006.
- CAMPAROTO, M.L. et al. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. And *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion roottip and rat bone-marrow cells. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v.25, n.1, p.85-89, 2002.
- CARITÁ, R.; Marin-Morales, M.A. **Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes**. Chemosphere, 2008.
- CARVALHO, L.S. **Alterações clínicas e histológicas decorrentes de neurointoxicação por plantas medicinais**. Seminário apresentado à Disciplina de Seminários Aplicados (Nível: Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.
- CERRATINGA**: Produção sustentável e consumo consciente. Disponível em: <<http://www.cerratinga.org.br/mandacaru/>>. Acesso em: 10 jan. de 2014.
- COSTA, S.C. **Cacto *Cereus peruvianus*: características estruturais, reológicas e aplicações dos polissacarídeos**, 1997.

- DAVET, A. **Estudo fitoquímico e biológico do cacto – *Cereus jamacaru* DE CANDOLLE, CACTACEAE**. 2005. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- DAVET, A. et al. Atividade antibacteriana de *Cereus jamacaru* DC., Cactaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.19, n.2, p.561-564, 2009.
- FACHINETTO, J.M. et al. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo de celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.17, n.1, p.49-54, abr. 2007.
- FACHINETTO, J.M.; TEDESCO, S.B. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. **Revista Brasileira PI. Med.** Santa Maria, v.11, n.4, p.360-367, 2009.
- FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Reino Unido, v.102, n.1, p.99-112, mar. 1985.
- FRESCURA, V.D.; LAUGHINGHOUSE, I.V.; TEDESCO, S.B. Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Luehea divaricata* on the *Allium Cepa* cell cycle. **Caryologia International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics**, v.65, n.1, p.27-33, 2012.
- GUEDES, R.S. et al. Germinação de sementes de *Cereus jamacaru* DC. em diferentes substratos e temperaturas-DOI: 10.4025/actascibiols. v31i2. 635. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.31, n.2, p.159-164, 2009.
- GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar os cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002.
- HERRERO, O.; PEREZ, J.M.M.; FERNÁNDEZ, P.F. Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test. **Mut. Res**, Madrid, v.743, n.1, p.24-34, mar. 2012.
- IGANCI, J.R.V. et al. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.73, n.1, p.79-82, jan. 2006.
- JUNIOR, V.F.V. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Manaus, v.18, n.2, p.308-13, abr./jun. 2008.
- JUNIOR, V.F.V.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, Rio de Janeiro, v.28, n.3, p.519-528, fev. 2005.
- LUBINI, G. et al. Extracts affecting mitotic division in root-tip meristematic cells. **Biologia**, Santa Maria, v.63, n.5, p.647-651, out. 2008.

LUCENA, C.M.D. et al. Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil). **Biotemas**, Areia, v.25, n.3, p.281-29, set. 2012.

MACIEL, M.A.M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v.25, n.3, p.429-438, jul. 2002.

MAGALHÃES, A. **Perfil etnobotânico e conservacionista das comunidades do entorno da reserva natural Serra das Almas, Ceará-Piauí, Brasil**. 2006. 68 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

MEIADO, M.V. et al. Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. **Plant Species Biology**, Recife, v.25, n.2, p.120-128, mai. 2010.

MEDEIROS, I.U. **Identificação dos princípios ativos presentes no extrato etanólico de *Cereus jamacaru* e avaliação em ratos dos possíveis efeitos tóxicos e/ou comportamentais da exposição prolongada**. 2011. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

MESSIAS, J.B. et al. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratas no segundo terço da gestação submetidas à ação do extrato metanólico de *Cereus jamacaru* DC., Cactaceae, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Recife, v.20, n.4, p.478-483, Ago./Set. 2010.

MEYER, L.; QUADROS, K.E.; ZENI, A.L.L.B. Etnobotânica na comunidade de Santa Bárbara Acurra, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Santa Catarina, v.10, p.258-266, jul./set. 2012.

MOREIRA, R.D.C.T. et al. Abordagem etnobotânica acerca do uso de plantas medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, Ilhéus, v.21, n.3, p.205-211, 2002.

NECCHI, R.M.M. **Farmacobotânica, atividade anti-inflamatória e parâmetros bioquímicos de *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dick (Cactaceae)**. 2011. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

NOLDIN, V.F. et al. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. **Química nova**, São Paulo, v.26, n.3, p.331-334, mai/jun. 2003.

OMNI CYBER. **Mapa de distribuição de famílias**. Disponível em: <<http://www.omnicyber.org/Bio/Families/FamIndex.html>> Acesso em: 28 de out. 2013.

PERON, A.P. et al. Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia vahl* em sistema teste vegetal. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, Picos, vol.12, n.1, p.51-54, 2008.

PORTAL Educação – Homeopatia e Fitoterapia. Disponível em:
<<http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/cursos/1836/curso-de-fitoterapia-homeopatia?gclid=CIRD66rH5bsCFYI9OgodtngAyQ>> Acesso em: 15 de out. 2013.

RESENDE, G.M.; CAVALCANTI, N.B. Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.), facheiro (*Pilosocereus pachycladus* Ritter), xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. Webw. Ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl.) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* Britton & Rose). **Revista Caatinga**, Petrolina, v.20, n.1, p.28-35, jan./mar. 2007.

RICARDO, L.G.P.S. **Estudos etnobotânicos e prospecção fitoquímica de plantas medicinais utilizadas na comunidade do Horto, Juazeiro do Norte (CE).** 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2011.

RODRIGUES, H.G. et al. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.3, p.359-366, 2011.

SABINI, M.C. et al. Evaluation of cytogenotoxic effects of cold aqueous extract from *Achyrocline satureioides* by *Allium cepa* L test. **Nat Prod Commun**, Córdoba, v.6, n.7, p.995-998, 2011.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. **Genética toxicológica.** Porto Alegre: Alcance, 2003. 422 p.

SOUZA, I.A. et al. Antitumour properties of *Cereus jamacaru* on an experimental model of cancer in: fundamental & Clinical Pharmacology. **3rd Meeting of the federation of the European Pharmacological Societies**, Lyon, v.15, 2001.

SOUZA, S.A.M. et al. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista Biológica e Ciências da Terra**, Campina Grande, v.5, n.1, sem página, jan/ago. 2005.

TABREZ, S. et al. Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an overview of the techniques and their efficacies. **Environmental Carcinogenesis Ecotoxicology Review**, Aligarh, vol.29, n.3, p.250-275, set. 2011.

TAYLOR, N.P. Cactaceae. In: S. Oldfield (ed.). **Cactos e plantas suculentas - Pesquisa Estado e Plano de Acção de Conservação.** IUCN / SSC Cactus e Grupo de Especialistas em suculentas. IUCN, Gland e Cambridge, 1997.

TAYLOR, N.; ZAPPI, D. **Cacti of eastern Brazil.** Kew: Royal Botanic Gardens, 2004. 511 p.

VARANDA, E.A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.27, n.1, p.1-7, 2006.

VATTA, A.F. et al. Direct anthelmintic effects of *Cereus jamacaru* (Cactaceae) on trichostrongylid nematodes of sheep: In vivo studies. **Veterinary parasitology**, Ibadan, v.180, n.3, p.279-286, ago. 2011.

VICENTINI, V.E.P. et al. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* L. Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum**, p.593-598, 2001.