

IRACI FIDELIS

**CRESCIMENTO, ARMAZENAMENTO, HOMEOPATIA, PRODUÇÃO DE
METABÓLITOS SECUNDÁRIOS
E TESTE BIOLÓGICO DO EXTRATO DE *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski
EM COELHOS DIABÉTICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia,
para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F451c
2003

Fidelis, Iraci, 1962-

Crescimento, armazenamento, homeopatia, produção de metabólitos secundários e teste biológico do extrato de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski em coelhos diabéticos / Iraci Fidelis. – Viçosa : UFV, 2003
185p. : il.

Orientador: Vicente Wagner Dias Casali
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Viçosa

1. *Sphagneticola trilobata* - Metabólitos secundários. 2. *Sphagneticola trilobata* - Crescimento - Efeito da luz. 3. *Sphagneticola trilobata* - Armazenamento. 4. Plantas medicinais no controle do diabetes. 5. Diabetes - Indução em coelhos. 6. Homeopatia. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 19.ed. 633.885504133

CDD 20.ed. 633.885504133

IRACI FIDELIS

**CRESCIMENTO, ARMAZENAMENTO, HOMEOPATIA, PRODUÇÃO DE
METABÓLITOS SECUNDÁRIOS
E TESTE BIOLÓGICO DO EXTRATO DE *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski
EM COELHOS DIABÉTICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 16 de maio de 2003

Prof.^a Tânia Toledo de Oliveira
(Conselheira)

Prof. Paulo Roberto Cecon
(Conselheiro)

Prof. Daniel Melo de Castro

Prof. Ricardo Henrique Silva Santos

Prof. Vicente Wagner Dias Casali
(Orientador)

A DIVÍNA COMÉDIA

(O Inferno)

“Em meio do caminho desta vida,
Eu me encontrei por uma selva escura,
Estando a estrada certa já perdida.

E como descrever é coisa dura,
Esta selvagem selva e áspera e forte,
Que o só pensar renova medo e agrura!

De tão amarga, é quase igual à morte:
Mas, por tratar do bem que nela achei,
O que lá vi direi, se de outra sorte.

Não sei dizer de como ali entrei,
tão pesado de sono estava quando
da trilha verdadeira me afastei.”

Dante Alighieri

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia (DTF), pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudo.

Ao professor orientador Vicente Wagner Dias Casali, pela dedicação e pela disponibilidade, pelo exemplo profissional, pelos conhecimentos e pela experiência transmitida, pela atenção, compreensão e amizade dispensadas.

Aos professores conselheiros, Tânia Toledo de Oliveira e Paulo Roberto Cecon pelas disponibilidades, sugestões e críticas.

Aos professores da banca de qualificação e banca de defesa Fernando Luiz Finger, Ricardo Henrique Silva Santos, Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Daniel Melo de Castro pela disponibilidade e sugestões.

Ao professor Aloísio da Silva Pinto pela disponibilidade nos ensaios biológicos.

Aos professores Nélio José de Andrade e Nilda de Fátima Ferreira Soares pela contribuição na interpretação das análises microbiológicas.

As estudantes da Tecnologia de Alimentos, Júnia Capuá de Lima e Francelini A. Lopes pela contribuição nas análises microbiológicas.

As Engenheiras Agrônoma, Maíra Lima Figueira e Andréa Mafra Moreira pela contribuição nos ensaios homeopáticos.

A Economista Doméstica Rosângela Carvalho e ao estudante André Mundstock Xavier de Carvalho e a todos os amigos do Grupo entre folhas, inclusive Sr. Vicente de

Paula Rosado, Sr. José Geraldo, Jesuína Oliveira Casali, Reginalda Célia Lopes e Zenilda da Silva Vieira.

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia, Francisco Glicério Ribeiro, Eva das Graças Faria, José Geraldo Júlio, Francisco Cardoso da Silva, Domingos Sávio da Silva, Itamar Duarte Santos, Vicente Madaleno e a Secretária Mara Rodrigues.

Aos funcionários do Laboratório de Biofármacos, Maria Aparecida Leão e José Geraldo Pinto e aos estagiários Jefferson Rodrigues Gandra, Leonardo Marques Ribeiro, Allison Carlos A. Pereira, Fabrício Luciani Valente, Hugo Juarez Vieira Pereira, Cecília Monneret, Gilberto Lourenço, Leonardo Lara pela constante ajuda nos ensaios biológicos.

Ao Reino Vegetal, pela fabulosa diversidade de metabólitos especiais, possibilitando a oportunidade de realização de pesquisas e amplo uso na terapêutica.

Aos animais que fizeram parte desta pesquisa, por terem doado suas preciosas vidas.

A Deus, pelo dom da vida, pela sua providência durante todos os momentos deste curso, por todas as benções e graças derramadas a cada dia.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO 1.....	1
1. A ESPÉCIE <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski.....	1
2. INTRODUÇÃO GERAL	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Produtos secundários de plantas.....	6
3.2. Funções dos metabólitos secundários de plantas	6
3.3. Evolução do metabolismo secundário.....	7
3.4. Grupos de produtos secundários	7
3.5. Terpenos.....	8
3.5.1. Terpenos: compostos defensivos	9
3.5.2. Monoterpenos (C ₁₀).....	9
3.5.3. Sesquiterpenos (C ₁₅)	10
3.5.4. Diterpenos (C ₂₀)	11
3.5.5. Triterpenos (C ₃₀)	11
3.5.6. Politerpenos (C ₅) _n	12
3.5.7. Efeitos tóxicos dos terpenos.....	13
3.6. Compostos contendo nitrogênio.....	13
3.6.1. Alcalóides: compostos contendo nitrogênio heterocíclico com efeito fisiológico em animais	13
3.6.2. Glicosídeos cianogênicos	15
3.6.3. Glucosinolatos (óleo de mostarda).....	16
3.6.4. Aminoácidos não protéicos	17
3.7. Compostos fenólicos	17
3.7.1. Compostos fenólicos na alelopatia.....	19
3.7.2. Lignina: fenólico complexo	20
3.7.3. Flavonóides: grupo de compostos fenólico.....	21

	Página
3.7.4. Antocianinas: flavonóides coloridos.....	21
3.7.5. Flavonóides protetores e defensores do UV	22
3.7.6. Fitoalexinas: isoflavonóides antimicrobianos.....	23
3.7.5. Taninos: polímeros de compostos fenólicos	23
LITERATURA CITADA	27
CAPÍTULO 2.....	31
EFEITO DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA NO CRESCIMENTO DAS PLANTAS E NA PRODUÇÃO DE TANINO EM <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski.....	31
1. INTRODUÇÃO	31
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	33
2.1. Matéria orgânica.....	33
2.2. Nitrogênio	34
2.3. Fósforo	35
2.4. Potássio	37
2.5. Cálcio e Magnésio.....	38
2.6. pH e Alumínio.....	38
3. MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1. Instalação do Experimento e Análise Estatística	41
3.2. Tratamentos.....	41
3.3. Análise de crescimento	42
3.4. Análise da concentração de nitrogênio, fósforo e potássio no tecido foliar.....	43
3.5. Análise da concentração de tanino no tecido foliar	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1. Análise de crescimento	45
4.2. Análise das concentrações de nitrogênio, fósforo e potássio no tecido foliar.....	48
4.3. Análise da concentração de tanino no tecido foliar	50
4.4. Análise de correlação	51
5. CONCLUSÕES	53
LITERATURA CITADA	54
CAPÍTULO 3.....	57
EFEITO DA RADIAÇÃO NO CRESCIMENTO DE PLANTAS E NA PRODUÇÃO DE TANINO DE <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski	57
1. INTRODUÇÃO	57
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	58
3. MATERIAL E MÉTODOS	61
3.1. Instalação do experimento e análise estatística.....	61
3.2. Tratamentos.....	62
3.3. Análise quantitativa de tanino.....	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.1. Análise de crescimento	65
4.2. Análise das concentrações foliares de nitrogênio, fósforo e potássio...	67
4.3. Análise da concentração de tanino.....	69
4.4. Análise de correlação	69

	Página
5. CONCLUSÕES	71
LITERATURA CITADA	72
CAPÍTULO 4.....	75
EFEITO DA LUZ UV-B NO CRESCIMENTO DE PLANTAS E NA PRODUÇÃO DE TANINO EM <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski	75
1. INTRODUÇÃO	75
2. REVISÃO DE LITERATURA	77
3. MATERIAL E MÉTODOS	81
3.1. Instalação do experimento e análise estatística	81
3.2. Análise de tanino	82
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
5. CONCLUSÕES	86
LITERATURA CITADA	87
CAPÍTULO 5.....	89
INFLUÊNCIA DAS EMBALAGENS E DO ARMAZENAMENTO NO CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO E NA CONCENTRAÇÃO DE TANINO DE <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski	89
1. INTRODUÇÃO	89
2. REVISÃO DE LITERATURA	91
3. MATERIAL E MÉTODOS	94
3.1. Secagem das plantas	94
3.2. Preparo das embalagens	94
3.3. Delineamento experimental	95
3.4. Análises realizadas no produto seco moído	96
3.4.1. Teor de umidade	96
3.4.2. Preparo da amostra no exame microbiológico	96
3.4.3. Contagem de fungos filamentosos e leveduras	96
3.4.4. Contagem de coliformes totais	97
3.4.5. Contagem de bactérias aeróbias mesófilas	97
3.4.6. Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	97
3.4.7 Análise da concentração de tanino	98
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
5. CONCLUSÕES	104
LITERATURA CITADA	105
CAPÍTULO 6.....	107
TESTE BIOLÓGICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski EM COELHOS DIABÉTICOS	107
1. INTRODUÇÃO	107
2. REVISÃO DE LITERATURA	109
2.1. Histórico	109
2.2. O uso de plantas medicinais no tratamento do <i>Diabetes mellitus</i>	111
2.3. O pâncreas	111
2.4. Mecanismo de ação da insulina	114
2.5. Mecanismo de ação do aloxano na indução do <i>Diabetes mellitus</i>	116
2.6. Metabolismo no diabetes	116

	Página
2.7. Bioquímica do sangue: substâncias não eletrolíticas	119
3. MATERIAL E MÉTODOS	126
3.1. Modo de determinação dos constituintes do sangue	127
3.2. Modo de determinação do ácido caurenóico na planta	129
3.3. Análise estatística	129
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	130
5. CONCLUSÕES	139
LITERATURA CITADA	140
CAPÍTULO 7.....	146
EFEITO DA HOMEOPATIA NA CONCENTRAÇÃO DE TANINO	
DE <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski.....	146
1. INTRODUÇÃO	146
2. REVISÃO DE LITERATURA	149
2.1. Os princípios da homeopatia	149
2.2. Pesquisa sobre homeopatia nas plantas	152
3. MATERIAL E METODOS	155
3.1. Ensaio preliminar: Efeito da posição das folhas na concentração de tanino.....	155
3.2. Primeiro Experimento: efeito do preparado homeopático <i>Sulphur</i>	155
3.3. Segundo Experimento: efeito de quatro preparados homeopáticos em <i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski	156
3.4. Análise do tanino	156
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	157
4.1. Ensaio preliminar	157
4.2. Primeiro experimento	158
4.3. Segundo experimento: Primeiro ensaio	160
4.3. Segundo experimento: Segundo ensaio	162
5. CONCLUSÕES	164
LITERATURA CITADA	165
PERSPECTIVAS FUTURAS	167
APÊNDICE	169
GLOSSÁRIO	172

RESUMO

FIDELIS, Iraci, D.S., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2003. **Crescimento, armazenamento, homeopatia, produção de metabólitos secundários e teste biológico do extrato de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski em coelhos diabéticos.** Orientador: Vicente Wagner Dias Casali. Conselheiros: Tânia Toledo de Oliveira e Paulo Roberto Cecon.

O melhor desenvolvimento da espécie *Sphagneticola triloba* com relação as variáveis de crescimento, foi no intervalo de adubação orgânica de 60 a 85% e ciclo de 95 a 120 dias. Das doses 0 até 100% de húmus houve comportamento quadrático com pontos de máximos de matéria seca da raiz, número de ramos, matéria seca da parte aérea e no número de entrenós. As variáveis, comprimento de ramos e relação raiz/parte aérea teve comportamento expresso pela equação raiz quadrada das doses de húmus. A concentração de tanino teve efeito quadrático mantendo-se fixo a época. As variáveis de crescimento correlacionaram positivamente entre si e negativamente com o teor de tanino. O aumento de irradiância reduziu o crescimento da matéria fresca e seca de folhas e caule com redução do número de ramos e internódios de *S. trilobata*. Níveis de irradiância de 34%, 52% e 100% não alteraram as concentrações foliares de nitrogênio, fósforo, potássio e tanino. As concentrações só foram reduzidas em função do período de cultivo. Não houve efeito significativo da exposição à luz UV-B sobre a concentração de tanino e o acúmulo de matéria seca das folhas. A luz UV-B só alterou de forma significativa o número de ramos, número de folhas pequenas e a matéria seca

do caule. Sugere-se que o produto seco e moído preparado a partir de folhas de *Sphagneticola trilobata* seja armazenado sob refrigeração (5°C) e embalagens de papel metalizado. Nestas condições, houve a preservação da cor do produto, o percentual de umidade foi menor, a concentração de tanino maior e as contagens médias de fungos filamentosos e leveduras (cerca de 10^5 UFC.g⁻¹), mesófilos aeróbios (entre 10^5 e 10^6 UFC.g⁻¹) e *Staphylococcus aureus* (< 10^2 UFC.g⁻¹) encontram-se dentro de valores aceitáveis. No entanto, deve-se preocupar com as condições higiênicas do produto seco e moído já que a contagem de coliformes totais foi alta. O extrato bruto etanólico de folhas de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski causou redução na glicemia de animais diabéticos. Os animais diabéticos que foram submetidos aos tratamentos com 200 e 400 mg/kg da fração etanólica de *S. trilobata* tiveram redução na colesterolemia e na concentração de triacilgliceróis. Foi verificada a presença, no extrato etanólico de *S. trilobata*, do diterpeno ácido caurenóico pela cromatografia de camada delgada. A aplicação de uma única vez da homeopatia *Sulphur* CH3 aumentou significativamente a concentração de tanino em *S. trilobata*. Quando utilizou-se a homeopatia *Sulphur* CH3 houve maior concentração de tanino nas folhas coletadas 5 e 7 dias após a aplicação. A concentração de tanino foi estatisticamente maior nas folhas do ápice reduzindo-se em direção às folhas da base nos ramos. Com 4 e 5 aplicações de *Sulphur*, *Graphites*, *Apis mellifica* e *Staphysagia* na dinamização CH3 ocorreu maior concentração de tanino nas folhas enquanto que as testemunhas com água e sem água proporcionaram maior concentração de tanino em relação às quatro homeopantias.

ABSTRACT

FIDELIS, Iraci, D.S., Universidade Federal de Viçosa, May of 2003. **Growth, storage, homeopathy, secondary metabolites production and biological test of the extract from *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski in diabetic rabbits.** Adviser: Vicente Wagner Dias Casali. Committee members: Tânia Toledo de Oliveira and Paulo Roberto Cecon.

The best plant growth development of *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski was in the interval of organic manuring from 60 to 85% and cycle from 95 to 120 days. From the doses 0 up to 100% of humus, there was quadratic behavior and points of maxima of: root dry matter, number of branches, aerial parts dry matter and internodes number. The variables, length of branches and ratio root/aerial parts performance were expressed by the equation square root of humus doses. Tannin concentration had quadratic effect staying fixed time. The growth variables correlated positively among themselves and negatively with the tannin content. Increasing radiation reduced growth of fresh and dry matter of leaves and stem with reduction of the number of branches and internodes of *S. trilobata*. Levels of radiation of 34%, 52% and 100% had no effect on foliar content of nitrogen, potassium and tannin but contents were reduced by cultivation period. There was not significant effect of exposure to light UV-B on tannin content and dry matter accumulation of leaves. UV-B light influenced a significantly branch number, number of small leaves and dry matter of stem. Dry product and ground prepared from leaves of *Sphagneticola trilobata* should be stored under refrigeração (5°C) after

packing of metallic paper. Under these conditions, color was preserved, the percentage of humidity was smaller, the concentration of larger tannin and the medium countings of filamentous mushrooms and yeasts (about 105 UFC.g⁻¹), aerobic mesophytes (between 105 and 106 UFC.g⁻¹) and *Staphylococcus aureus* (<102 UFC.g⁻¹) were acceptable values. However, one should worry about the hygienic conditions of the dry product and ground since the counting of total coliformes was high. The crude extract ethanolic of leaves from *Sphagneticola trilobata* caused reduction in the glycaemia of diabetic animals. The diabetic animals submitted to 200 and 400 mg/kg of the fraction ethanolic of *S. trilobata* had reduction in the cholesterolemia and in the triacylglycerols concentration. The presence was verified in the extract ethanolic of *S. trilobata* of the diterpene kaurenoic acid by thin layer chromatography. The application at once the homeopathy *Sulphur* CH3 increased the tannin concentration significantly in *S. trilobata*. Also the largest tannin concentration was observed after homeopathy *Sulphur* CH3 treatment and leaves were collected 5 to 7 days after the application. The tannin concentration was greater in apex leaves compared to leaves from the base of the branches. *Sulphur*, *Graphites*, *Apis mellifica* and *Staphysagria* all in CH3 dynamization caused greater tannin concentration after 4 and 5 applications. The control (water and without water) provided greater tannin concentration in relation to the four homeopathies.

CAPÍTULO 1

1. A ESPÉCIE *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

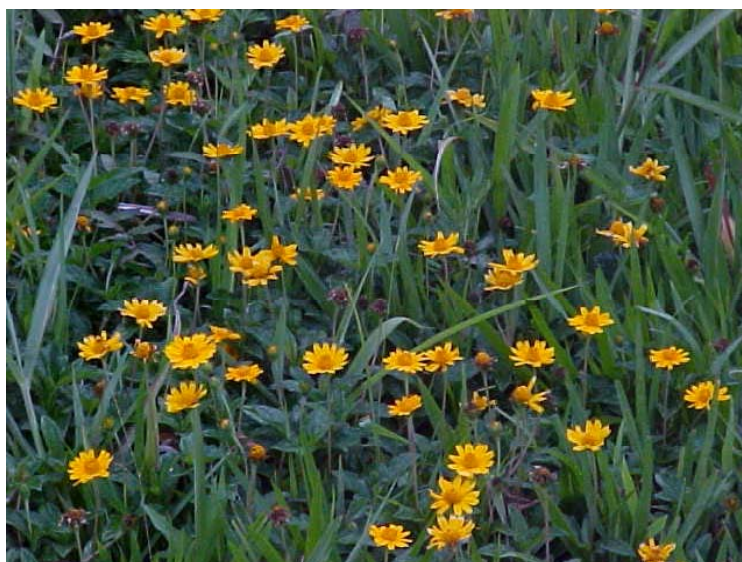


Figura 1. Espécie *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski.

A *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski da família das Asteraceae, também conhecida por malmequer-do-brejo, picão-da-praia, vedélia, malmequer e margaridinha, é herbácea, prostrada, com nós radicante, caule castanho-avermelhado, folhas opostas, flores amarelas e em capítulos solitários (Figura 1). Sinonímia: *Wedelia paludosa* D.C.,

Wedelia trilobata (L.) Hitch, *Bruphthalmum renpens* Lam., *Complaya trilobata* (L.) Strother, *Seruneum trilobatum* (L.) Kuntze, *Silphium trilobatum* L. (LORENZI, 2000). Planta nativa do Brasil, ornamental, empregada na formação de relvados, vegetando bem ao sol e à sombra, aconselhada no plantio de encostas. Encontrada freqüentemente nos lugares sombrios, úmidos, praias e em terrenos baldios (CORREIA, 1984). A família Asteraceae compreende cerca de 25.000 espécies distribuídas em aproximadamente 1.100 gêneros, sendo representada no Brasil por cerca 180 gêneros (BARROSO, 1986). Esta família aparece com número relativamente grande de citações bibliográficas, envolvendo farmacognosia, fitoquímica e plantas medicinais (MILES et al. 1990). A composição química revelou a presença de tanino, wedelactona, ácido caurenóico e luteolina como metabólitos secundários majoritários (SCHLEMPER et al. 1998). Alguns relatos têm mostrado a presença de diversos constituintes químicos nesta planta, tal como ácido caurenóico (ROQUE et al., 1987), terpenos (CRAVEIRO et al., 1993) ácido endesmanolide e lactonas (FERREIRA et al., 1994).

O ácido caurenóico, diterpeno bem conhecido já foi isolado da parte aérea desta espécie (ROQUE et al., 1987) tendo atividades biológicas como antibacteriano (LWANDE et al., 1985), larvicida (SLIMESTAD et al., 1995) e tripanomicida (ALVES et al., 1995). O ácido caurenóico é potente estimulador da contração uterina (PAGE et al., 1992). *Sphagneticola trilobata* é empregada na medicina popular de muitos países no tratamento de várias doenças, tais como dor de cabeça, febre, infecções e patologia do trato respiratório (ROQUE et al., 1987; HOWARD et al., 1990). MANCZAK et al. (1996) mostraram em estudos preliminares que o extrato hidroalcoólico de *S. trilobata* exerce ação antinociceptiva em camundongos. A atividade antinociceptiva da planta é devido a composto polar. O resíduo amarelo encontrado depois de lavado com diclorometano originou o puro 5, 7, 3', 4'- tetrahidroxiflavona (luteolina) CHECINEL-FILHO (2000). Este flavonóide (subclasse flavona) está presente em muitas espécies (por exemplo em *S. trilobata*) tendo atividades em muitos mamíferos (LAURENS et al., 1983; NORO et al., 1983). Também tem efeito antitumoral (NISHIMO et al., 1983), mutagênico (CZECZOT et al., 1990) e antioxidante (TOREL e CILLARD, 1986). Recentemente foi relatada a ação sedativa da luteolina em vários músculos lisos isolados e ação estimulante no coração isolado de cobaia (Ver citação em artigos sobre glicemia).

2. INTRODUÇÃO GERAL

Segundo NEVES (1982), a proporção de medicamentos à base de plantas medicinais no planeta é cerca da terça parte das substâncias sintéticas. A produção comercial dessas plantas é considerada a principal solução na obtenção de matéria prima com qualidade e quantidade satisfatórias, tornando-se opção muito promissora, do ponto de vista econômico (FURLAN, 1996).

Estima-se que o número de espécies de plantas superiores que foram descritas varia de 250.000 a 750.000, e atualmente apenas 119 substâncias derivadas de plantas com fins medicinais são obtidas de cerca de 90 espécies. Destes 119 compostos químicos, 74% têm o mesmo uso ou uso assemelhado ao das plantas na medicina popular (FARNSWORTH, 1997). No Brasil, com 30% das florestas tropicais do planeta, estima-se que existam entre 55 mil e 80 mil espécies vegetais na Amazônia brasileira, e menos de 2% delas foram estudadas.

A indústria farmacêutica gasta em torno de 250 milhões de dólares e 10 anos de trabalho na pesquisa por drogas novas. No tratamento do câncer, já foram testados mais de um milhão de formulações produzidas em laboratório, e, dessas, apenas 15 agiram eficazmente. Partindo dos vegetais, as chances de acerto são de uma a cada cinco mil tentativas (SANTOS, 1996).

A importância dos produtos naturais na formulação dos medicamentos pode ser vista quando se considera que, mesmo nos países industrializados, 45% dos produtos farmacêuticos provêm de produtos naturais. Essa proporção é ainda maior nos países subdesenvolvidos (ELISABETSKY, 1986). Segundo PIRES e GRIPP (1988), em 1973

[nos Estados Unidos] cerca de um quarto das prescrições médicas continham um ou mais ingredientes ativos de origem vegetal, o que representa, nas indústrias farmacêuticas norte-americanas, vendas anuais de oito bilhões de dólares de medicamentos isolados de plantas, medicamentos estes desenvolvidos com base em informações etnobotânicas.

Entre os diversos exemplos de substâncias oriundas de plantas e de importância atualmente, podemos mencionar a forskolina, obtida de *Coleus barbatus*, que apresenta efeito contra hipertensão, glaucoma, asma e tumores, a artemisinina, presente em *Artemisia annua*, que exerce potente atividade antimalárica (KAMCHONWONGPAISON e MESHNICK, 1996), e o dipterpeno anticancerígeno taxol, isolado de plantas do gênero *Taxus*, que após sua síntese em escala industrial, já se encontra disponível no mercado farmacêutico, no tratamento de câncer nos ovários e pulmões (KINGSTON, 1991; CORRÊA, 1995).

No mercado farmacêutico mundial, que movimenta US\$150 bilhões ao ano, é crescente o uso de medicamentos derivados de plantas (ROBBERS et al., 1997). O Brasil tem desperdiçado negócios que movimentam US\$ 60 bilhões por ano no mercado das plantas medicinais. Como exemplo da importância desta área, a vincristina e a vimblastina, metabólitos extraídos da *Catharanthus roseus* G. Don (Apocynaceae), utilizados no tratamento de certos tipos de câncer e que reduzem em 70% o índice de mortalidade infantil por leucemia, foram patenteadas há cerca de 30 anos pelo laboratório norte-americano Eli Lilly e rendem, anualmente, US\$100 milhões à empresa (ROBBERS et al., 1997).

Quinto maior consumidor mundial de remédios, o Brasil nunca desenvolveu um único medicamento (CALIXTO, 1996). O mercado brasileiro é dominado por companhias farmacêuticas multinacionais, que investem pesadamente em pesquisas e tecnologia visando garantir espaço no universo cujas cifras são da ordem de US\$200 bilhões ao ano. Segundo CALIXTO (1996), essa competição o Brasil já perdeu: não investiu, não tem tecnologia avançada e há completa ausência de indústria no setor. Mas tem grande chance de garantir boa parcela à indústria na faixa dos fitofármacos, mercado em expansão que exhibe cifras igualmente consideráveis: US\$40 bilhões ao ano. Em razão de sua imensa biodiversidade e tradição no uso de plantas medicinais, o Brasil tem condições de deter parte considerável desse bolo (CALIXTO, 1996).

Não adianta o Brasil ser o país mais rico em biodiversidade no mundo se não forem feitos investimentos em pesquisas. Exatamente 22,1% das publicações de novos

produtos naturais, listados nos últimos 11 anos pelo Chemical Abstracts, são de origem japonesa, e neste mesmo período o Brasil contribuiu com apenas 1,6%. Esta discrepância constitui paradoxo, pois o Japão possui em torno de 3.000 espécies de plantas superiores contra 55.000 estimadas no Brasil (GOTTLIEB e BORIN, 1997).

Pesquisas agronômicas sobre o cultivo de plantas medicinais no Brasil com fins comerciais são reduzidas. Estudos sobre sementes ou materiais vegetativos padronizados com vistas à produtividade e trabalhos visando o melhoramento são em número muito reduzido. Alguns autores brasileiros destacaram a importância dos estudos agronômicos em plantas medicinais brasileiras (CARLINI, 1983; MATOS, 1985; ELISABETSKY, 1987); entretanto, as pesquisas são ainda escassas (HERTWIG, 1986; MATOS, 1988; GIAGOMETTS, 1989; CORREIA et al., 1991; MARTINUS et al., 1994). LOYD e JACKSON (1986) mostraram que existe a preocupação crescente relativa à conservação de plantas medicinais. Segundo eles, estas plantas têm sido multiplicadas ao longo dos tempos sem domesticação e, conseqüentemente, não foram selecionadas, visando à preservação de genes responsáveis por alta produtividade. Populações silvestres destas plantas constituem uma grande fonte de recursos genéticos. MADUEÑO-BOX (1973) destaca a necessidade de produzir plantas medicinais não somente considerando sua biomassa, mas principalmente, os teores de princípios ativos nelas contidas, observando o fato de que a síntese desses princípios ativos pode ser alterada conforme as técnicas de cultivo.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Produtos secundários de plantas

As plantas produzem diversas classes de compostos orgânicos que parecem não ter qualquer função direta no crescimento e desenvolvimento. Estas substâncias são conhecidas como produtos secundários, compostos secundários ou metabólitos secundários. Diferentes dos metabólitos primários, tal como clorofila, amino ácidos, nucleotídeos ou carboidratos simples, produtos secundários não tem geralmente função reconhecida nos processos de assimilação, respiração, transporte e diferenciação (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Produtos secundários também diferem dos metabólitos primários por terem distribuição restrita no reino vegetal. E o que é particular, os produtos secundários são tipicamente encontradas em apenas uma espécie de planta ou grupo de espécies relacionadas taxonomicamente, enquanto os metabólitos primários básicos são encontrados em todo o reino vegetal (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.2. Funções dos metabólitos secundários de plantas

Por muitos anos, o significado adaptativo de muitos produtos secundários de plantas foi desconhecido. Acreditava-se que esses compostos fossem simples produtos finais sem função no metabolismo (TAIZ e ZEIGER, 1991).

No começo da década de 1960, muitos produtos secundários mostraram importantes funções ecológicas nas plantas. Entre estas funções é na proteção contra o ataque de herbívoros e infecção por microrganismos. No tratamento de diversas moléstias orgânicas, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Produtos secundários são atrativos de polinizadores e animais dispersores de frutos e como agentes de competição entre plantas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.3. Evolução do metabolismo secundário

De acordo com a biologia da evolução, as defesas das plantas devem ter surgido do fenômeno de mutação hereditária, da seleção natural e das mudanças evolucionárias. A mutação ocasional na rota do metabolismo básico possibilitou novos compostos tóxicos aos herbívoros e microrganismos patogênicos. Uma vez que o custo energético da produção destes compostos foi sustentável, eles deram as plantas maior aptidão. Assim, estas plantas deixaram mais descendentes que outras e transmitiram suas características defensivas às próximas gerações (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Experimentos planejados medindo o efeito da desfoliação de plantas, tem mostrado que pequeno número de herbívoros pode reduzir drasticamente o crescimento, sobrevivência e a capacidade reprodutiva das plantas e os fungos e bactérias têm demonstrado efeito similar (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Muitos compostos de defesa que aumentaram a aptidão evolucionária das plantas protegendo-as contra fungos, bactérias e herbívoros podem tornar-se indesejáveis na alimentação de humanos. Plantas de importância agrícola tem sido artificialmente selecionadas na produção de baixos níveis destes compostos. Assim, tornando-as mais susceptíveis aos insetos e doenças (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.4. Grupos de produtos secundários

Produtos secundários de plantas podem ser divididos dentro de três grupos de acordo com a biossíntese: compostos terpenos, fenólicos e compostos contendo nitrogênio. A Figura 2 mostra de forma simplificada a rota envolvendo a biossíntese de produtos secundários e sua interconversão com o metabolismo primário (TAIZ e ZEIGER, 1991).

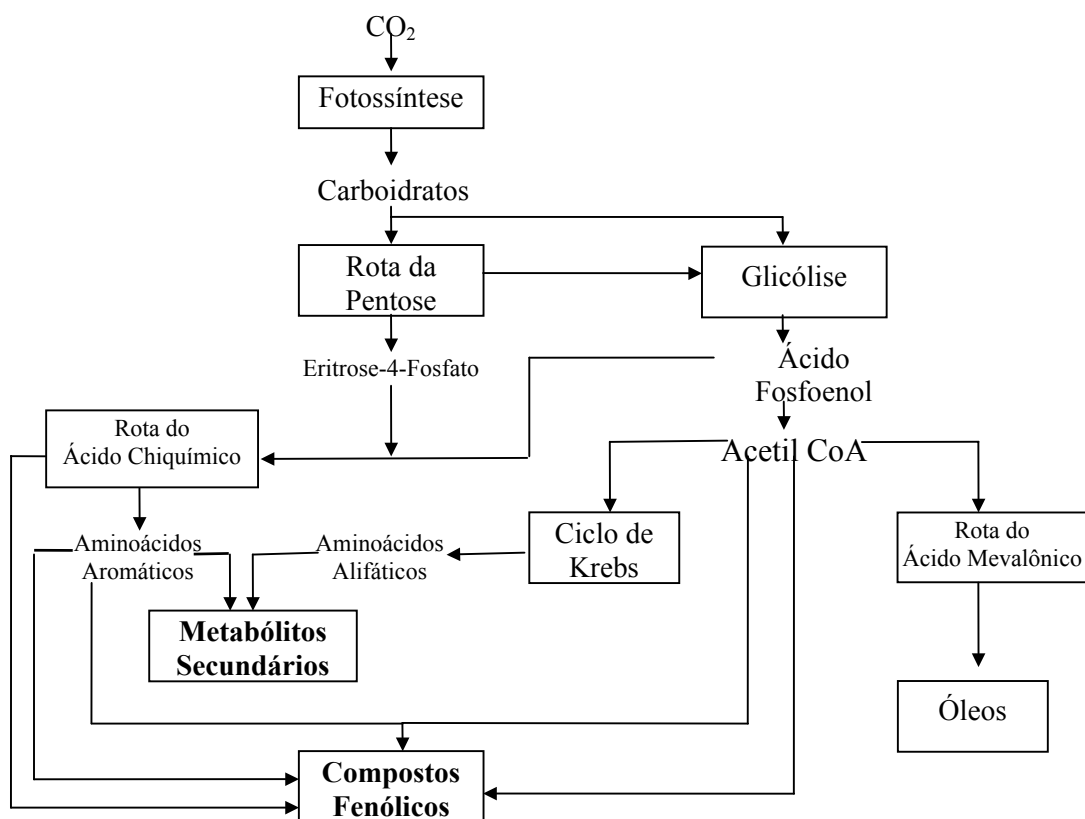


Figura 2. Principais rotas da biossíntese dos produtos secundários e sua relação com o metabolismo primário. Adaptado de (SANTOS, 1999).

Terpenos podem ser lipídeos sintetizados da acetil coenzima A via rota do ácido mevalônico. Compostos fenólicos são substâncias aromáticas formadas via rota do ácido chiquímico ou rota do ácido mevalônico. Produtos secundários contendo nitrogênio, tal como alcalóides, são biossintetizados primariamente de aminoácidos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.5. Terpenos

Os terpenos ou terpenóides compreendem a mais extensa classe de produtos secundários. As diversas substâncias desta classe são geralmente insolúveis na água e tem origem biossintética comum (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Todos terpenos são derivados da união de unidades de cinco carbonos que tem um braço de esqueleto de carbono do isopenteno. As estruturas básicas destes elementos de terpenos são algumas vezes denominadas unidades de isopenteno porque os terpenos podem decompor-se em altas temperaturas dando o isopreno. Assim, todos terpenos são ocasionalmente referidos como isoprenóides (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os terpenos são classificados pelo número de unidades de cinco carbonos que eles contém, embora por causa da extensiva modificação metabólica é algumas vezes difícil definir a origem das unidades de cinco carbonos. Terpenos de 10 carbonos, os quais contém duas unidades de C₅, são chamados monoterpênicos; terpenos de 15 carbonos (três unidades C₅) são sesquiterpenos e terpenos de 20 carbonos (quatro unidades de C₅) são diterpenos. Os mais extensos terpenos incluem triterpenos (30 carbonos), tetraterpenos (40 carbonos) e politerpenos [(C₅)_n carbonos onde n > 20] (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Muitos terpenos têm função bem caracterizada no crescimento e desenvolvimento e então podem ser considerados metabólitos primários ao invés de secundários. Por exemplo, um sesquiterpeno é precursor do ácido abscísico, enquanto o diterpeno ent-kaurene, é intermediário na síntese do ácido giberélico. Ambos, ácido abscísico e ácido giberélico, são importantes hormônios de plantas (TAIZ e ZEIGER, 1991). Os esteróides são derivados de triterpenos e componentes essenciais das membranas das células, sendo estabilizados pela interação com fosfolípidos. Carotenóides vermelhos, laranja e amarelo são tetraterpenos que funcionam como pigmentos acessórios na fotossíntese e protegem tecidos fotossintéticos da fotoxidação. Longas cadeias de álcoois politerpenos parecem estar ligadas aos transportes de açúcares nas paredes celulares e na síntese de glicoproteína (TAIZ e ZEIGER, 1991). Terpenos derivados de cadeia lateral, tal como fitol e cadeia lateral de clorofila, ajudam ligar certas moléculas às membranas. Assim, numerosos terpenos têm importante papel primário nas plantas. Entretanto, a maioria dos terpenos são metabólitos secundários envolvidos na defesa (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.5.1. Terpenos: compostos defensivos

Os terpenos são toxinas que repelem grande número de insetos e mamíferos herbívoros e assim exercem importante papel de defesa (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.5.2. Monoterpenos (C₁₀)

Muitos monoterpênicos e seus derivados são agentes importantes de toxicidade aos insetos. Por exemplo, éster de monoterpênicos denominados piretróides que ocorrem nas folhas de *Chrysanthemum* mostram notável atividade inseticida. Ambos os

piretróides, natural e sintético, são inseticidas populares comercialmente por causa da baixa persistência no ambiente e desprezível toxicidade aos mamíferos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Em coníferas, tais como pinheiro e abeto, os monoterpenos são acumulados nos ductos de resina nas acículas, ramos e troncos. O principal monoterpeno das resinas de conífera é α -pineno, β -pineno, limoneno e myrceno. Estes compostos são tóxicos a insetos como besouro do córtex, séria praga cosmopolita de coníferas. Muitas coníferas respondem a infestação pelo “besouro do córtex” produzindo quantidade adicional de monoterpenos. A síntese de novos compostos de defesa após o ataque de herbívoros é processo importante sendo análogo à síntese de compostos antimicrobianos, como as fitoalexinas após o ataque do patógeno (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Certas espécies contêm misturas de monoterpenos voláteis e sesquiterpenos, denominados óleos essenciais, que geram odor característico na folhagem. *Mentha piperita*, *Citrus limonum*, *Ocimum gratissimum* e *Salvia officinalis* são exemplos de plantas que contêm óleos essenciais. O principal monoterpeno constituinte de hortelã-pimenta é o mentol e do limoeiro é o limoneno. Óleos essenciais são conhecidos pelas propriedades repelentes de insetos. São frequentemente encontrados nos tricomas glandulares, tornando as plantas tóxicas e impróprias ao consumo, repelindo herbívoros potenciais antes ou mesmo que iniciem sua alimentação (TAIZ e ZEIGER, 1991). Nos tricomas glandulares, os terpenos são armazenados no espaço extracelular e intercelular modificado entre a cutícula e a parede celular. Óleos essenciais podem ser extraídos de plantas pela destilação a vapor, dentre outros processos (CO₂ líquido por exemplo) sendo importantes comercialmente como condimento de alimentos e na fabricação de perfumes (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.5.3. Sesquiterpenos (C₁₅)

Entre os muitos sesquiterpenos conhecidos como agentes antiherbívoros estão os sesquiterpenos lactonas encontrados nos tricomas glandulares dos membros da família Asteraceae, tal como *Helianthus annuus* e *Artemisia tridentada*. Estes compostos são caracterizados pelo anel lactona, um éster cíclico. Experimentos com lactonas sesquiterpênicas tem mostrado o forte potencial repelente de insetos, mamíferos herbívoros alimentadores (TAIZ e ZEIGER, 1991). Como muitos outros restringentes de alimentação de mamíferos, lactonas sesquiterpênicas causa sabor amargo ao serem

consumidas por humanos. Segundo os ecologistas, o amargo não é necessariamente propriedade intrínseca de compostos de defesa das plantas, mas na evolução, herbívoros associam o amargo com substâncias de defesa e assim evitam plantas contendo aquelas substâncias (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Outro composto sesquiterpênico de defesa é o gossipol, o sesquiterpêno aromático dímero do algodão, encontrado nas glândulas subepidérmicas, sendo responsável por significativa resistência a insetos de certas variedades de algodão. Gossipol e outros sesquiterpênos são também importantes como defesa contra fungos e bactérias patogênicas. Gossipol, que é encontrado nas glândulas subepidérmicas, é responsável por significativa resistência à insetos em certas variedades de algodão. Estudos na China tem indicado que o gossipol tem potencial como contraceptivo em humanos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.5.4. Diterpenos (C₂₀)

Muitos diterpenos são tóxicos aos herbívoros e deterrentes. Resinas de plantas como pinheiros e certas leguminosas tropicais, frequentemente contém grande quantidade de diterpenos tal como ácido abiético. Quando canais de resinas nos troncos são perfurados por insetos, o fluxo de resina pode fisicamente bloquear a alimentação e torna-se impedimento químico da predação. Na exposição ao ar a resina endurece e protege o meristema de cicatrização. Plantas de eufórbio (Família Euphorbiaceae) produzem éster diterpeno de forbol e outros compostos que são severos irritantes de pele e toxina internas de mamíferos. Comumente, diterpenos tipo phorbol são de grande interesse como promotores de tumores nos estudos de carcinógenos em animais (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.5.5. Triterpenos (C₃₀)

Nesta categoria incluem vários de compostos com diversidade estrutural, incluindo esteróides, muitos dos quais têm sido modificados, sendo reduzidos a 30 átomos de carbono. Vários álcoois esteróides são importantes componentes de membranas celulares de plantas. Outros esteróides são produtos de defesa. Por exemplo, fitoecdisonas são esteróides de plantas com a mesma estrutura básica do hormônio da ecdise de insetos. A ingestão de fitoecdisona por insetos rompe o ciclo de

transformação, interferindo com a muda do velho exoesqueleto e a produção do novo, levando o inseto à morte (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Outro grupo de composto triterpeno antierbívoro são os limonóides, os quais são bem conhecidos como substâncias amargas dos frutos de *Citrus*. Talvez o mais poderoso deterrente de insetos é o conhecido azadiracatina, o complexo limonóide da árvore nim ou neem (*Azadirachta indica*) da África e Ásia. Azadiracatina é um deterrente de alguns insetos em doses tão baixas como 0,1 parte por milhão (TAIZ e ZEIGER, 1991). Seu uso potencial limitando o dano por inseto em plantas cultivadas é amplamente investigado (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Triterpenos que são ativos contra vertebrados herbívoros incluem cardenolides e saponinas. Cardenolides são glicosídeos (compostos contendo açúcar ligado a açúcar) que são substâncias amargas e extremamente tóxicas aos animais superiores. Em humanos, tem efeito importante no músculo do coração pela influencia na relação Na^+/K^+ ativando ATPases. Em doses cuidadosamente regulares, diminuem e fortalecem as batidas do coração (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Saponinas são esteróides e considerados glicosídeos triterpenois. O nome se deve às propriedades espumantes, semelhantes ao sabão. A presença de ambos elementos solúveis a lipídeos (triterpenos) e elementos solúveis em água (açúcar) na molécula dá às saponinas propriedades restringentes gerando espuma saponácea quando agitada com água. A toxicidade das saponinas provavelmente resulta da capacidade de romper membranas e causar a hemólise das células vermelhas do sangue. Saponinas em certas variedades de alfafa são venenosas ao gado. Saponinas de cará (*Dioscorea*) são largamente usadas na síntese de compostos semelhantes a progesterona em pílulas de controle da natalidade (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.5.6. Politerpenos (C_5)_n

Vários politerpenos de alto peso molecular ocorrem em plantas. A borracha, o mais conhecido polímero, contendo 1.500 a 15.000 unidades de isopentenil, na qual toda a dupla ligação carbono-carbono tem configuração cis. A borracha é encontrada em várias plantas, sendo mais importante comercialmente a *Hevea brasiliensis* (TAIZ e ZEIGER, 1991). Nesta planta a borracha ocorre como pequenas partículas suspensas no fluido denominado látex, encontrado em estrutura de secreção alongados, conhecidas como laticíferos. Os laticíferos são encontrados em muitas espécies de plantas e contém

outros produtos secundários ao invés da borracha. A função dos laticíferos nas plantas tem sido discutida desde sua descoberta por DE BARY em 1877. A borracha não é prontamente mobilizada, por isso seu papel como composto de armazenamento é incerto. A mais provável função dos laticíferos parece ser a proteção, no mecanismo de cicatrização e na defesa contra herbívoros ou microrganismos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.5.7. Efeitos tóxicos dos terpenos

Pesquisadores têm duvidado da função defensiva dos terpenos e outros produtos secundários porque herbívoros são frequentemente vistos se alimentando em plantas contendo alto teor destes compostos sem adoecer e muitos até são atraídos ao invés de serem repelidos. Estes fatos são explicáveis pela evolução ao adaptar herbívoros contra os produtos secundários, ou seja, haverá ingestão de considerável quantidade de metabólitos secundários de plantas sem haver envenenamento. Alguns herbívoros, por exemplo, desintoxicam-se eficientemente de produtos secundários lipofílicos pela conversão a derivados solúveis em água facilmente excretáveis. Outros herbívoros têm modificações fisiológicas que os tornam resistentes ou tolerantes aos compostos tóxicos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.6. Compostos contendo nitrogênio

Ampla variedade de produtos secundários de plantas tem nitrogênio na sua estrutura. São compostos de defesa antiherbívoros como os alcalóides e glicosídeos cianogênicos, os quais são de considerável interesse por causa da toxicidade aos humanos e propriedades medicinais. Muitos produtos secundários nitrogenados são biossintetizados de aminoácidos comuns (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.6.1. Alcalóides: compostos contendo nitrogênio heterocíclico com efeito fisiológico em animais

Alcalóides são compostos contendo nitrogênio encontrado em 20 a 30% das plantas vasculares. O átomo de nitrogênio nestas substâncias está no anel heterocíclico, o anel contendo átomos de nitrogênio e carbono. Muitos alcalóides são alcalinos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os alcalóides são geralmente sintetizados de aminoácidos incomuns, em particular, ácido aspártico, lisina, ornitina, tirosina e triptofano. Entretanto, muitos dos esqueletos de carbono de alguns alcalóides são derivados da rota do ácido mevalônico. Os principais tipos de alcalóides e seus aminoácidos precursores estão na Tabela 1 (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Tabela 1. Principais tipos de alcalóides, seu amino ácido precursor e exemplo de cada tipo

Classe de alcalóide	Precursor biossintético	Exemplo
Pirrolizidina	Ornitina	Nicotina
Tropano	Ornitina	Atropina, cocaína
Piperidina	Lisina ou acetato	Coniina
Quinolizidina	Lisina	Lupinina
Isoquinolina	Tirosina	Codeína, morfina
Índole	Triptofano	Reserpina, stricnina

A rota biossintética que conduz à nicotina é importante não apenas por causa de efeitos prejudiciais da nicotina como componente do tabaco, mas também por causa da vitamina B, ácido nicotínico (niacina), ser precursor deste alcalóide. Ácido nicotínico é constituintes da NAD e NADP, os transportadores de elétrons do metabolismo. Nas plantas e bactérias, o ácido nicotínico é provavelmente sintetizado do ácido aspártico e gliceraldeído 3-fosfato, enquanto os animais e fungos superiores utilizam o triptofano como precursor (TAIZ e ZEIGER, 1991).

O papel dos alcalóides nas plantas tem sido objeto de especulação nos últimos 100 anos. Acreditavam que os alcalóides fossem produtos finais do metabolismo, análogo a uréia e ácido úrico em animais; compostos armazenadores de nitrogênio ou reguladores de crescimento, mas há poucas evidências que suportam qualquer destas funções. Muitos alcalóides são tóxicos aos herbívoros, então podem funcionar na defesa contra consumidores, especialmente mamíferos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Muitas mortes de gado são causadas pela ingestão de plantas contendo alcalóides, sendo que nos Estados Unidos, grande porcentagem é envenenada a cada ano pela ingestão de plantas contendo alcalóides, tais como lupinos (*Lupinus* spp.), espora (*Delphinium* spp.) e tasneirinha (*Senecio* spp.). Isto pode ser devido ao fato de que os animais domésticos possuem metabolismo diferente dos animais silvestres, que não tem

sido objeto de seleção natural para evitar estas plantas tóxicas. Realmente, alguns animais domésticos até preferem plantas contendo alcalóides (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Todos os alcalóides, quando ingeridos em quantidade suficiente, são também tóxicos aos humanos. Por exemplo, stricnina, atropina e coniina, são clássicos agentes de envenenamento. Entretanto, em doses mais baixas muitos são úteis farmacologicamente. Morfina, codeína, atropina e efedrina são alguns dos alcalóides comumente usados na medicina. Outros alcalóides, tais como cocaína, nicotina e cafeína, são apreciados não como medicamento, mas como estimulantes e sedativos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

O modo de ação dos alcalóides nas células é bastante variável. Muitos ligam-se aos receptores nervosos e afetam a neurotransmissão; outros afetam o transporte de membranas, síntese protéica ou atividade de enzimas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os alcalóides não são apenas substâncias de defesa. Os alcalóides betalaninas, pigmentos vermelhos e amarelos das flores e frutos, são encontrados em plantas, incluindo cactos e *Beta vulgaris* (Quenopodiáceas). As plantas que contém pigmentos de betalaína não contém antocianinas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.6.2. Glicosídeos cianogênicos

Vários outros compostos de proteção nitrogenados não alcalóides são encontrados nas plantas. Dois grupos destas substâncias; glicosídeos cianogênicos e glicosinolatos, não são tóxicos por si mesmos, mas originam venenos voláteis quando as plantas são esmagadas. Glicosídeos cianogênico liberam o venenoso gás cianeto (HCN) (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A quebra dos glicosídeos cianogênicos nas plantas é feita por duas enzimas. Espécies que sintetizam glicosídeos cianogênicos também sintetizam as enzimas necessárias na hidrólise do açúcar e liberam o HCN. No primeiro passo, o açúcar é clivado por uma glicosidase, enzima que separa o açúcar de outras moléculas na qual estão ligadas. O resultado do produto da hidrólise chamado α -hidroxinitrila, pode-se decompor espontaneamente e liberar HCN, ou este segundo passo pode ser acelerado pela enzima hidroxinitrila liase (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Glicosídeos cianogênicos não são normalmente clivados em plantas intactas porque glicosídeos e enzimas degradativas estão separadas espacialmente. No sorgo o glicosídeo cianogênico está presente no vacúolo das células epidérmicas, enquanto

enzimas hidrolíticas e líticas são encontradas no mesofilo (TAIZ e ZEIGER, 1991). Em condições ordinárias, estes compartimentos previnem a decomposição do glicosídeo. Entretanto, quando a folha é danificada, durante a alimentação de herbívoro, o conteúdo das células de tecidos diferentes mistura-se e o HCN é formado. Glicosídeos cianogênicos são largamente distribuídos nas plantas e são frequentemente encontrados nas Fabáceas, Poáceas e espécies da família das Rosáceas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

O glicosídeo cianogênico tem função protetiva em certas plantas. HCN é uma toxina de rápida ação que bloqueia a respiração celular pela ligação ao grupo heme que contém ferro da citocromo oxidase e outras enzimas respiratórias. A presença de glicosídeos cianogênicos detém a alimentação de insetos e outros herbívoros (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os glicosídeos cianogênicos tem atraído a atenção, não apenas por causa de seu papel fisiológico nas plantas, mas também por causa de seu efeito fisiológico em humanos e animais. Pouca literatura há sobre a toxicidade dos glicosídeos cianogênicos (TAIZ e ZEIGER, 1991). Em adição, o glicosídeo cianogênico amigdalina, tem atraído a atenção por causa da declaração de sua efetiva ação no tratamento do câncer (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.6.3. Glucosinolatos (óleo de mostarda)

A segunda classe de glicosídeos, glucosinolatos ou óleo glicosídeos de mostarda, quando clivadas liberam substâncias defensivas que são encontradas principalmente nas crucíferas. Glucosinolatos originam compostos responsáveis pelo cheiro e sabor dos brócolos, repolhos e rabanetes. Na liberação destes voláteis “óleos de mostarda”, também chamado tioglucosidase e glucose se desligam do átomo de enxofre (TAIZ e ZEIGER, 1991). O resultado de um aglicone, a porção não açúcar da molécula, rearranja dando produto penetrante e quimicamente reativo incluindo isotiocianato, tiocianato e nitrila, dependendo da condição da hidrólise. Estes produtos funcionam na defesa como toxina contra herbívoros e repelentes de alimento (TAIZ e ZEIGER, 1991). Tal como glicosídeos cianogênicos, os glucosinolatos são armazenados em plantas separadamente das enzimas que os hidrolisam, entrando em contato com estas enzimas apenas quando as plantas são esmagadas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os glucosinolatos são encontrados principalmente na família das Cruciferae, mas também Tovariaceae, Resedaceae e Moringacea (CRONQUIST, 1968). Outras

famílias nas quais os glucosinolatos ocorrem em um ou mais táxon, incluem Limnanthaceae e Euphorbiaceae (KJAER, 1974).

3.6.4. Aminoácidos não protéicos

As plantas e animais têm em comum incorporados os mesmos 22 aminoácidos nas suas proteínas. Entretanto, muitas plantas contêm aminoácidos incomuns, denominados aminoácidos não protéicos, que não são incorporados nas proteínas, permanecendo livres atuando na proteção (TAIZ e ZEIGER, 1991). Os aminoácidos não protéicos são frequentemente muito similares aos aminoácidos comuns. Canavanina, por exemplo, é análogo da arginina, e ácido azetidina-2-carboxílico tem estrutura muito semelhante a prolina (TAIZ e ZEIGER, 1991).

O aminoácido não protéico exerce sua toxicidade de vários modos. Alguns bloqueiam a síntese ou o transporte de aminoácidos protéicos; outros podem ser erradamente incorporados dentro das proteínas. A toxicidade básica da canavanina nos herbívoros tem sido bem estudada. Depois da ingestão, a canavanina é reconhecida pela enzima do herbívoro que normalmente liga a arginina à molécula de RNA transportador (TAIZ e ZEIGER, 1991). Deste modo, a canavanina torna-se ligada ao t-RNA com anticodon arginina e é incorporada na proteína no lugar da arginina. O resultado é a proteína não funcional por causa da estrutura terciária e outras mudanças que afetam as propriedades catalíticas. Canavanina, cujo ponto isoelétrico (pI) é 8,2, menor do que a arginina (pI = 10,8) e pode alterar a capacidade da enzima de ligar-se ao substrato ou catalisar reações químicas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Plantas que sintetizam aminoácidos não protéicos são resistentes a toxicidade destes compostos. Na *Canavalia ensiformis*, que sintetiza grande quantidade de canavanina nas suas sementes, o mecanismo sintético protéico pode discriminar entre canavanina e arginina e não incorporar canavanina na própria proteína. Alguns insetos que se especializaram em se alimentar de plantas contendo aminoácidos não protéicos têm adaptação bioquímica similar (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.7. Compostos fenólicos

As plantas produzem ampla variedade de compostos secundários contendo um grupo fenol, ou seja, uma hidroxila em um anel aromático (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Estas substâncias são classificadas como compostos fenólicos. Fenólicos de plantas quimicamente são grupos heterogêneos. Alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, vários são solúveis em água, em ácidos carboxílicos e em glicosídeos, enquanto outros são polímeros insolúveis (TAIZ e ZEIGER, 1991).

De acordo com sua diversidade química, os fenólicos exercem variedade de funções na planta. Muitos atuam no sistema de defesa contra herbívoros e patógenos, outros no mecanismo de suporte, na atração de polinizadores e dispersores de frutos, ou na redução do crescimento de plantas em competição (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os fenólicos de plantas são biossintetizados por diversas rotas e assim constituem grupo heterogêneo do ponto de vista metabólico. Duas rotas básicas estão envolvidas: a rota do ácido chiquímico e a do ácido mevalônico (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A rota do ácido chiquímico participa na biossíntese de muitos fenólicos de plantas. A rota do ácido mevalônico, embora fonte importante de produtos secundários fenólicos em fungos e bactérias é menos importante em plantas superiores (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A rota do ácido chiquímico começa de carboidratos simples e procede a ácidos aromáticos aminados, sendo encontrada em plantas, fungos e bactérias, mas não em animais. Os animais não sintetizam os três ácidos aromáticos aminados: fenilalanina, tirosina e triptofano, os quais são essenciais à sua dieta (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Muitas classes de compostos fenólicos secundários nas plantas são derivadas da fenilalanina e tirosina, e em muitas espécies de plantas, o passo chave na síntese é a conversão da fenilalanina em ácido cinâmico pela eliminação da molécula de amônia (Figura 3).

Esta reação é catalisada pela enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL), importante enzima reguladora do metabolismo secundário. Em poucas plantas, particularmente em algumas Poáceas, a reação chave na formação de fenólico parece ser análoga à conversão de tirosina a ácido 4-hidroxicinâmico (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A atividade da PAL em plantas está sob o controle de diversos fatores internos e externos, tais como hormônios, níveis de nutrientes, luz (por meio do efeito de fitocromo), infecção por fungos e ferimentos. A infecção por fungos, por exemplo, aciona a transcrição do RNA-mensageiro que codifica a PAL, assim aumentando a síntese de PAL na planta e estimulando a síntese de compostos fenólicos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

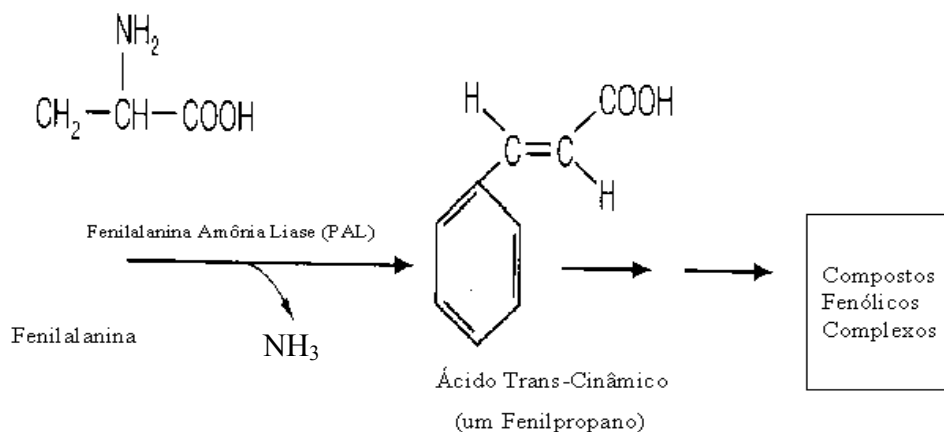


Figura 3. Desaminação da fenilalanina à ácido trans-cinâmico é um passo importante na biossíntese dos fenólicos em muitas espécies de plantas. O ácido trans-cinâmico, um fenilpropano, é um importante bloco de muitos compostos fenólicos complexos. Esta reação é catalizada pela fenilalanina amônia-liase (PAL).

Como muitos outros metabólitos secundários, as plantas podem elaborar o esqueleto básico de carbono com compostos fenólicos simples, visando torná-lo mais complexo (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Muitos compostos fenólicos simples têm importante papel na defesa das plantas contra insetos herbívoros e fungos. De especial interesse é a fototoxicidade de certas cumarinas chamadas furanocumarinas, as quais tem um anel extra de furano. Estes compostos não são tóxicos até serem ativados pela luz. A luz do sol na região do ultravioleta A (UV-A) (320-400 nm) tornam as furanocumarinas ativadas pelo alto estado eletrônico de energia (TAIZ e ZEIGER, 1991). As furanocumarinas ativadas podem inserir-se na dupla hélice de DNA e ligar nas bases pirimidinas citosina e timina, assim bloqueando a transcrição e conduzindo a célula a morte. A fototoxicidade das furanocumarinas é especialmente abundante nos membros da família Umbeliferae, incluindo aipo, pastinaca e salsa. No aipo, o nível deste composto pode aumentar aproximadamente 100 vezes se a planta é submetida ao estresse ou doença (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.7.1. Compostos fenólicos na alelopatia

Das folhas, raízes e demais partes das plantas são liberados vários produtos, primários e secundários, no ambiente. Os efeitos destes compostos nas plantas são

denominados alelopatia. Se a planta reduz o crescimento de outras plantas na sua vizinhança pela liberação de químicos dentro do ambiente, ela aumenta o acesso à luz, água, nutrientes e assim aumenta sua aptidão (TAIZ e ZEIGER, 1991). O termo alelopatia tem sido aplicado aos efeitos prejudiciais de uma planta nas outras plantas ao redor, embora a definição precisa também inclua efeitos benéficos. Compostos tais como ácido caféico e ácido ferúlico ocorrem no solo em quantidade apreciável e podem inibir a germinação de sementes ou o crescimento de muitas plantas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A importância da alelopatia nos ecossistemas naturais é ainda controversa. Muitos pesquisadores duvidam que a alelopatia é significativa na interação planta-planta porque as evidências destes fenômenos têm sido difíceis de serem obtidas. É fácil mostrar que o extrato ou o composto purificado de alguma planta pode inibir o crescimento de outras plantas em experimentos de laboratório, mas tem sido difícil demonstrar que estas substâncias estão presentes no solo em concentração suficiente que cause a inibição do crescimento. Entretanto, a alelopatia é interessante por causa do potencial de aplicação na agricultura (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.7.2. Lignina: fenólico complexo

Depois da celulose, a substância orgânica mais abundante nas plantas é a lignina, polímero altamente ramificado do grupo fenilpropano. A estrutura exata da lignina não é conhecida porque é difícil extrair lignina das plantas, por estar covalentemente ligada à celulose e outros polissacarídeos da parede celular (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A lignina é geralmente formada de três álcoois (coniferol, cumariol e sinapil), que são sintetizados da fenilalanina via vários derivados do ácido cinâmico (TAIZ e ZEIGER, 1991).

O álcool fenilpropano é acoplado dentro do polímero pela ação da enzima peroxidase. A peroxidase catalisa a oxidação do álcool fenilpropano, gerando radical livre intermediário enzimaticamente de modo ao acaso para originar a lignina. Há frequentemente múltiplas ligações C-C e C-O por unidade de álcool fenilpropano, resultando em estrutura complexa ramificada de três dimensões. Portanto, diferente dos polímeros amido, borracha ou celulose, as unidades de lignina não são ligadas de forma organizada. Cada molécula de lignina é única (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Lignina é encontrada na parede celular de vários tipos de tecido de suporte e de condução, principalmente nos traqueídeos e elementos do vaso do xilema, fibras e esclereídeos. Ela é depositada na parede secundária causando espessamento, mas pode também ocorrer na parede primária e lamela média em contato íntimo com a celulose e hemicelulose já presentes. A rigidez da lignina fortalece o caule e o tecido vascular, permitindo o crescimento vertical estabilizando a condução da água e sais minerais através do xilema sob pressão negativa, sem colapso do tecido. Por ser a componente chave no transporte da água nos tecidos, a capacidade de sintetizar lignina constitui-se importante recurso do metabolismo primário permitindo que plantas primitivas se estabelecessem nos ambientes secos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Além de fornecer suporte mecânico, a lignina tem função protetora nas plantas. Sua rigidez física detém a alimentação por animais, e sua durabilidade química, torna-a relativamente indigesta aos herbívoros. Por causa da ligação com a celulose e proteínas, a lignina também reduz a digestibilidade destas substâncias. A lignificação bloqueia o crescimento de patógenos sendo resposta frequente a infecção ou ferimentos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.7.3. Flavonóides: grupo de compostos fenólico

Uma das mais diversas classes de fenólicos de plantas são os flavonóides. O esqueleto básico dos flavonóides contém 15 carbonos, com dois anéis aromáticos conectados pelo carbono 3 do anel. A ponte de um anel aromático é uma unidade de fenilpropano sintetizado de fenilalanina produzida pela rota do ácido chiquímico. Os 6 carbonos do outro anel aromático é originado de três unidades de acetato via rota do ácido mevalônico (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os flavonóides são classificados em quatro grupos baseados primariamente no grau de oxidação da ponte de três átomos de carbono. Os grupos são antocianinas, flavonas, flavonol e isoflavonóides (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.7.4. Antocianinas: flavonóides coloridos

A interação entre plantas e animais não é limitada a relações antagonistas, tal como presa-predador. Há associação mutualística também. Em troca da recompensa pela ingestão do néctar ou polpa das frutas, animais prestam serviços extremamente

importantes como carregadores de pólen e sementes. Produtos secundários estão envolvidos nesta interação plantas-animais, ajudando a atrair animais até às flores e frutos por efeitos visuais e por sinais olfativos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os pigmentos de plantas são de dois tipos principais: carotenóides e flavonóides. Carotenóides, como já visto, são compostos terpenóides amarelos, alaranjados e vermelhos, que servem como pigmentos acessórios na fotossíntese. Flavonóides são compostos fenólicos que incluem ampla classe de substâncias coloridas. Os pigmentos flavonóides mais difundidos são as antocianinas responsáveis pela maioria das cores observadas nas plantas, tais como o vermelho, o purpúra, o rosa e o azul (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Antocianinas são glicosídeos que têm açúcar na posição 3 e algumas vezes em outras posições. Sem o açúcar, as antocianinas são conhecidas como antocianidinas. As cores das antocianinas são influenciadas por muitos fatores: a) o número de grupos hidroxil e metoxil no anel B da antocianina, b) a presença de metal quelado tal como ferro e alumínio, c) a presença de co-pigmentos flavona e flavonol e d) pH das células do vacúolo na qual estes compostos são armazenados (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Considerando a variedade de fatores da coloração da antocianina e a possível presença de carotenóides, não é surpreendente que muitas cores de flores e de frutos sejam encontrados na natureza. A evolução da cor das flores pode ter sido governada pela pressão de seleção por espécies de polinizadores, os quais têm diferentes preferências. A cor, naturalmente é apenas um dos sinais de atuação dos polinizadores (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.7.5. Flavonóides protetores e defensores do UV

Dois outros grupos de flavonóides encontrados nas flores são flavonas e flavonol. Estes flavonóides geralmente absorvem a luz em comprimento de onda mais curto do que as antocianinas e então não são visíveis aos humanos. Entretanto, os insetos tais como abelhas, que visualizam dentro espectro do ultravioleta, podem responder aos flavonas e aos flavonol (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Flavonas e flavonol não são restritos às flores, mas também são encontrados nas folhas das plantas. Tem sido sugerido que estas duas classes de flavonóides protegem as células da excessiva radiação UV, porque absorvem fortemente a luz (nessa região do espectro) (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.7.6. Fitoalexinas: isoflavonóides antimicrobianos

Os isoflavonóides são encontrados principalmente nas leguminosas e tem diversas funções. Os rotenóides têm forte atividade inseticida, enquanto outros isoflavonóides têm efeito antiestrogênico e causam infertilidade nos mamíferos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os isoflavonóides tornaram-se mais conhecidos pelas funções das fitoalexinas, compostos antimicrobianos que se acumulam em altas concentrações após a infecção por fungos e bactérias, ajudando a limitar a propagação do patógeno invasor (TAIZ e ZEIGER, 1991). As fitoalexinas têm diversas características: a) Antes da infecção, não são geralmente detectadas. b) São sintetizadas muito rapidamente, poucas horas após o ataque microbiano. c) A síntese é restrita ao redor do local de infecção. d) São tóxicas a amplo espectro de fungos e bactérias patogênicas de plantas (TAIZ e ZEIGER, 1991). A produção das fitoalexinas parece ser mecanismo comum de resistência a microrganismos patogênicos. Entretanto, famílias de plantas empregam diferentes tipos de produtos secundários como fitoalexinas. Por exemplo, isoflavonóides são fitoalexinas comuns na família Fabaceae, enquanto nas Solanaceae, tais como, batata, tabaco e tomate, vários sesquiterpenos são produzidos como fitoalexinas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Em resposta a invasão por fungos ou bactérias, as plantas devem rapidamente reconhecer a presença dos patógenos e prontamente iniciar a produção de fitoalexina. Fragmentos de polissacarídeos da parede celular de fungo estão algumas vezes envolvidos no reconhecimento do patógeno (TAIZ e ZEIGER, 1991). Estes fragmentos de polissacarídeos, que surgiram da ação hidrolítica das enzimas de defesa da planta, disparam a síntese de fitoalexina. Em geral, substâncias que estimulam a síntese de fitoalexinas são conhecidas como elicitores. Em adição aos fragmentos de polissacarídeos, outras moléculas presentes no fungo como glicoproteínas, peptídeos e ácidos graxos têm sido elicitores de fitoalexinas em várias espécies de plantas. Fragmentos de pectina da parede celular da própria planta podem sinalizar a presença de ferimento e também elicitar a síntese de fitoalexinas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

3.7.5. Taninos: polímeros de compostos fenólicos

Além da lignina, um segundo tipo de polímero de composto fenólico de planta com propriedade defensiva é o tanino. O termo tanino primeiro designava compostos

que poderiam converter couro de animal cru em couro processado conhecido como curtimento. Tanino liga a proteína colágeno do couro do animal, causando a precipitação da proteína, aumentando sua resistência ao calor, água e microrganismo (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Há duas categorias: tanino condensado e tanino hidrolisado. Taninos condensados são compostos formados pelo ligamento de unidades de flavonóides. São frequentes em plantas lenhosas. Taninos condensados podem ser hidrolisados a antocianidina pelo tratamento com ácido forte gerando protoantocianidina. Taninos hidrolisados são polímeros heterogêneos contendo ácido fenólico, especialmente ácido gálico e açúcar simples. São menores que taninos condensados e podem ser hidrolisados mais facilmente por ácidos diluídos. Muitos taninos tem massa molecular entre 600 a 3000 kD (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Taninos são geralmente toxinas que reduzem o crescimento e sobrevivência de muitos herbívoros. Em adição, taninos atuam como repelente do alimento de grande número de animais. Nos humanos os taninos causam desagradável, adstringente e aguda sensação na boca devido a sua ligação às proteínas da saliva. Mamíferos, tal como gado, cervo e macacos caracteristicamente evitam plantas ou parte de plantas com alto conteúdo de tanino (TAIZ e ZEIGER, 1991). Frutos verdes, por exemplo, tem alto nível de tanino, freqüentemente concentrado no epicarpo. Os taninos são geralmente produzidos em células secretoras, denominadas células taníferas, que podem se localizar nos mais diversos tecidos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

As propriedades defensivas dos taninos têm sido atribuídas a capacidade de ligar-se a proteínas. Taninos complexam as proteínas no intestino de herbívoros pela formação de pontes de hidrogênio entre grupo hidroxil fenólico e sítios na proteína, assim inativando as enzimas digestivas dos herbívoros e criando o complexo agregado de tanino e proteínas da planta, que são bastante indigestos. Vários animais possuem adaptação digestiva pela ação detergente de compostos encontrados no intestino de alguns insetos prevenindo a ligação tanino-proteína no sistema digestivo (TAIZ e ZEIGER, 1991). Portanto, é possível que os taninos atuem não apenas reduzindo a digestibilidade, mas podendo exercer toxicidade (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os taninos condensados e hidrolisáveis se distribuem no reino vegetal seguindo padrões diferentes. Enquanto as proantocianidinas ocorrem amplamente em gimnospermas e angiospermas, os taninos hidrolisáveis estão quase restritos às

Choripetalae das dicotiledôneas e não foram encontrados nas Sympetalae (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os taninos condensados em geral estão amplamente distribuídos em plantas lenhosas. Já os taninos hidrolisáveis ocorrem em dicotiledôneas herbáceas e lenhosas, porém dentro de limites taxonômicos bem definidos. Os elagitaninos têm sido utilizados como marcadores taxonômicos devido à sua distribuição no complexo HDR, Hamamelidae, Dileniidae e Rosidae (HASLAM e CAI, 1994). Sua distribuição dentro das famílias do complexo HDR foi revista pelo grupo de OKUDA et al. (1993). Revisão da distribuição sistemática de taninos em angiospermas foi realizada por MOLE (1993), utilizando dados baseados em testes de precipitação de proteínas.

Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional como remédios no tratamento de diversas moléstias orgânicas, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlceras gástricas), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (HASLAM, 1996).

Nas últimas décadas, vários grupos têm investigado as atividades farmacológica e biológica dos taninos. Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos ou com taninos puros têm identificado diversas atividades dessa classe de substâncias. Dentre essas atividades podem-se citar: ação bactericida e fungicida (SCALBERT, 1991), antiviral (OKUDA et al., 1993), muluscicida (MARSTON e HOSTETTMANN, 1985), inibição de enzimas como glucosiltransferases de *Streptococcus mutans* e *S. sobrinus* (HATTORI et al., 1990 e OOSHIMA et al., 1993) e ação antitumoral (OKUDA et al., 1989).

Acredita-se que as atividades farmacológicas dos taninos são devidas, a três características gerais que são comuns em maior ou menor grau aos dois grupos de taninos, condensados e hidrolisáveis. Essas características são: 1) complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros); 2) atividade antioxidante e seqüestradora de radicais livres e 3) habilidade de complexar com outras moléculas incluindo macromoléculas tais como proteínas e polissacarídeos. Foi sugerido que os possíveis modos de ação dos taninos no tratamento de doenças estão intimamente ligados a essas três propriedades (HASLAM, 1996).

Testes *in vitro* mostram que taninos inibiram praticamente todas as enzimas testadas. Tal fato se deve à propriedade dos taninos de se ligarem às proteínas. Esse efeito *in vitro* pode ser extrapolado para enzimas extracelulares como a

glucosiltransferase, que é produzida por duas bactérias, *Streptococcus mutans* e *S. sobrinus*, encontradas na cavidade bucal do homem. Essa enzima catalisa a formação de dextranas, que se sedimentam sobre os dentes e, com isso, facilitam a adesão das bactérias à superfície lisa dos dentes. Placas são pressupostos na formação de cáries e podem também proporcionar a formação de inflamação da gengiva (gengivite). O efeito da inativação da glucosiltransferase pelos taninos bloqueia a formação da placa dental e de inflamações na região bucal garganta (SCHOLZ, 1994).

Várias doenças degenerativas como câncer, esclerose múltipla, arteriosclerose e o próprio processo de envelhecimento estão associados a radicais livres. Estudos recentes mostram que vários taninos atuam como captadores de radicais, os quais interceptam o oxigênio ativo formando radicais estáveis. Por exemplo, nas seguintes situações: o bloqueio da peroxidação de lipídeos em mitocôndrias hepáticas; o bloqueio da lipoxigenase em leucócitos; o bloqueio da xantinoxidase e a repressão da formação de radicais livres de ânion superóxido assim como dos radicais 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH). Dessa forma os taninos teriam possível importância na prevenção e tratamento de doenças causadas pela peroxidação de lipídeos (SCHOLZ, 1994).

LITERATURA CITADA

ALVES, T.M.C. et al., A diterpene from *Mikania abtusata* active on *Trypanosoma cruzi*. **Planta Medical**, v.61, p.85-87. 1995.

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiosperma do Brasil**. 2. ed. UFV – MG, 1986.

CALIXTO, J.B. Fitofármacos no Brasil: agora ou nunca! **Ciência Hoje**. v.21, n.123, agosto, p.26-29, 1996.

CARLINI, E. Pesquisa com plantas medicinais usadas na medicina popular. **Revista Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.29, n.5/6, p.109-110, 1983.

CECHINEL-FILHO, V. Principais avanços e perspectiva na área de produtos naturais ativos: Estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. **Química Nova**, v.23, n.5, p.680-685. 2000.

CORRÊA, A. G. **Quím. Nova**, v.18, p.460, 1995.

CORREIA, J.R.C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**, Curitiba: Emater, PR. 162p.

CORREIA, M.P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. v.I – VII, Brasília, Ministério da Agricultura, I.B.D.F., reimpressão, 1984.

CRAVEIRO, et al. Volatile constituents of two *Wedelia* species. **Journal of Essencial Oils Research**, v.5, p.439-441, 1993.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 396p. Londres: Nelson, 1968.

- CZECZOT, H. et al. Isolation and studies of the mutagenic activity in the Ames test of flavonoids naturally occurring in medical herbs. *Mutation Research*, v.240, p.209-216. 1990.
- ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia de algumas tribos brasileiras. In: RIBEIRO, D. (Ed.) **Suma etnológica brasileira**. Petrópolis: FINEP, 1986. v.1, p.135-150.
- ELISABETSKY, E. Pesquisas em plantas medicinais. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.39, n.8, p.697-702, ago, 1987.
- FARNSWORTH, N.R. Testando plantas para novos remédios. In: WILSON, E.O. (Ed.) **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p.107-125.
- FERREIRA, D.T.; LEVORATO, A.R.; FARIA, T.J.; CARVALHO, M.G.; BRAZ-FILHO, R. **Nat. Prod. Lett.**, v.4, p.1, 1994.
- FURLAN, M.R. Aspectos agronômicos em plantas medicinais. In: Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar/Luiz Cláudio Di Stasi organizador. São Paulo: Editora UNESP, p.157-167, 1996.
- GIAGOMETTS, D.C. **Ervas codimentares e especiarias**, São Paulo: Nobel, 1989. 158p.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R.M.B. Natural products research in Brazil. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.49, n.5/6, p.315-320, 1997.
- HASLAM, E.; CAI, Y. Plant polyphenols (vegetable tannins): gallic acid metabolism. **Nat. Prod. Rep.**, p.41-46, 1994.
- HATTORI, M.; KUSUMOTO, L.T.; NAMBA, T.; ISHIGAMI, T.; HARA, Y. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyl transferase from *Streptococcus mutans*. **Chem. Pharm. Bull.**, v.37, p.717-720, 1990.
- HERTWIG, I.F.G. **Plantas aromáticas e medicinais**, São Paulo: Ícone, 1986. 449p.
- HOWARD, M.D. Cotton boll weevil antifeedant activity and antifungal activity (*Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*) of extracts of the stems of *Wedelia biflora*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.38, p.1591-1594. 1990.
- KAMCHONWONGPAISON, S.; MESHNICK, S.R. **Gen. Pharmac.**, v.27, p.587, 1996.
- KINGSTON, D.G.I. **Pharmac. Ther.**, v.52, p.1, 1991.
- KJAER, A. The natural distribution of glucosinates: a uniform group of sulfur containing glucosides. In: **Chemistry in botanical classification**. Bendz, G.; Santesson, J. (eds.), pp. 229-234. London: Academic Press, 1974.
- LAURENS, A. et al. Aldose reductase inhibitors: a new therapeutic method for certain complications of diabetes. **Therapeutic**, Paris, v.36, p.659-663. 1983.

- LAVOLA, A.; JULKUNEN-TIITTO, R. The effect of elevated carbon dioxide and fertilization on primary and secondary metabolism in birch, *Betula pendula* (Roth). **Oecologia**, v.99, p.315-321. 1994.
- LAWANDE, W. et al., Kaurenoic acid form *Aspilia pluriseta*. **Fitoterapia**, v.56, p.126-128. 1985.
- LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2000. 608p.
- LOYD, B.F.; JACKSON, M. Vegetables industrial crops, medicinal and forage plant. Plant genetic resources: Na introduction to their conservation and use. London: Edwas Arnold, 1986. p.108-115.
- MADUENO-BOX, M. **Cultivo de plantas medicinais**, Madri: Labor, 1973. 490p.
- MANCZAK, A. et al.; Efeito antinociceptivo do extrato hidroalcolico obtido da *Wedelia paludosa*. XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Florianópolis, Brazil, p.95, 1996.
- MARTINS, E.R. et al. **Plantas medicinais**, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1994. 220p.
- MILES, D.H.; CHITTAWONG, V.; PAYNE, A.M. **J. Agric. Food Chem.**, v.38, p.1591, 1990.
- NEVES, E.S. Plantas medicinais na saúde pública. *Silvic. São Paulo*, São Paulo, v.6-A, p.181-186, 1982.
- NISHIMO, H. et al., Role of flavonoids in supresión of the enhancement of lipid metabolism by tumor promoters. **Cancer Letter**, v.21, p.1-8. 1983.
- NORO, T. Inhibitors of xanthine oxidase (Ec 1.2.3.2) from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v.31, p.3984-3987. 1983.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. Classification of oligameric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. **Phytochemistry**, v.32, p.507-521, 1993
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. **Planta Med.**, v.55, p.117-122, 1989.
- OOSHIMA, T.; MINAMI, T.; AONO, W.; IZUMATANI, A.; SOBUE, S.; FIJIWARA, T.; KAWABATA, S.; HAMADA, S. Oolong tea polyphenols inhibit experimental dental caries in SPF ratas infected with *Streptococcus mutans*. **Caries Res.**, v.27, p.124-129, 1993.
- PAGE, J.E. Biologically active diterpenes from *Aspilia mossambicensis*, um chimpanzee medicinal plant. **Phytochemistry**, v.31, p.3437-3439. 1992.

PIRES, M.J.P.; GRIPP, A. Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais em banco ativo de germoplasma. **Acta Amazônica**. v.18, n.1/2, p.61-73, 1988.

ROBBERS, J.E., SPEED, I.E.M.K., TYLER, V.E. **Farmacognosia e Farmacobiocologia**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1997. 372p.

ROQUE, N.F.; GIANNELLA, T.L.; GIESBRECHT, A.M.; BARBOSA, R.C.C.B.C. **Rev. Latinoam. Quim.**, v.18, p.110, 1987.

SANTOS, M.A.; ELISABETSKY, E. Ethnofarmacologia como ferramenta na seleção de espécies de plantas medicinais para triagem de atividade anti-tumoral. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.2, n.1, p.7-17, 1999.

SANTOS, M.H. **Estudo químico dos frutos de *Rheedia gardneriana* (PL. e TR.) e aplicações biológicas dos seus constituintes**. Viçosa: UFV, 1996. 114p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 1996.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, p.3875-3883, 1991.

SCHLEMPER, S.R. de M.; CORDEIRO, F.; CECHINEL FILHO, V. Atividade antibacteriana das frações semipurificadas e dos princípios ativos isolados da *Wedelia paludosa*. Ação alelopática de *Wedelia paludosa*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15., 1998, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia, s.n., 1998. p.53.

SCHOLZ, E. Pflanzliche Gbsoffe: Pharmakologie un Toxikologie. **Dtsch. Apoth. Ztg.**, v.134, n.34, p.3167-3179, 1994.

SLIMECTAD, R. et al., Larvicidal constituents of *Melantheria albinervia*. **Planta Medicinal**, v.61, p.562-563. 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Califórnia: The Benjamin/Cumming Publishing Company. 1991. 565p.

TORRELL, J.; CILLARD, P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. **Phytochemistry**, v.25, p.383-386, 1986.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA NO CRESCIMENTO DAS PLANTAS E NA PRODUÇÃO DE TANINO EM *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, apesar de não possuir medicina tradicional propriamente dita, isto é, caracterizada pela transmissão escrita dos conhecimentos, desenvolveu a medicina Popular, calcada nas informações dos índios, europeus e negros, principais formadores da etnia brasileira, e na influência de outras populações imigrantes. Tal conhecimento vem sendo perdido, ao longo do tempo, após o grande desenvolvimento da indústria farmacêutica que, em contrapartida, demanda pesquisas e tecnologia avançadas, de alto custo, tornando seus produtos, os quimioterápicos, muito caros, inacessíveis às populações de baixa renda, além de proporcionarem a ocorrência de Iatrogênese (doenças causadas por efeitos colaterais pelo seu uso excessivo ou inadequado).

Essa tabela motivou a retomada do uso de plantas como medicamento pela população e despertaram as organizações governamentais ligadas à saúde na validação dos fitoterápicos.

Segundo NEVES (1982), a proporção de medicamentos à base de plantas medicinais em todo mundo é cerca da terça parte das substâncias sintéticas. Diversos

estados brasileiros já têm implantados programas de fitoterapia nas redes primárias de saúde pública. Acompanhando essa demanda crescente na fitoterapia, há necessidade também de se estabelecer técnicas agronômicas de manejo e cultivo das plantas medicinais visando suprir o mercado nacional e internacional com matéria prima em quantidade e qualidade adequadas.

Assim sendo, a produção comercial dessas plantas é considerada a principal via de obtenção da matéria prima com qualidade e quantidade satisfatórias, tornando-se opção promissora do ponto de vista econômico (FURLAN, 1996). Todavia, são poucas as informações disponíveis sobre os aspectos agronômicos tais como épocas adequadas de plantio ou de colheita, adubação; espaçamento, podas, controle fitossanitário, o que evidencia a necessidade de pesquisas sobre o comportamento dessas espécies quando submetidas ao cultivo.

Segundo DOBEREINER e BALDANI (1981), a avaliação da maioria dos trabalhos de pesquisa baseiam-se exclusivamente na produção. Contudo, os trabalhos que avaliam os efeitos da nutrição sobre os caracteres qualitativos e quantitativos têm dados contraditórios.

Os adubos orgânicos são empregados amplamente nos sistemas de produção das plantas medicinais atuando, às vezes, como condicionador do ambiente químico e físico da rizosfera e, conseqüentemente, na resposta biológica das plantas (RODRIGUES e CASALI, 1998).

Diante disto, há necessidade de se conhecer a quantidade ótima do adubo orgânico que permita o maior rendimento de biomassa e princípio ativo da planta.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Matéria orgânica

A nutrição da *S. trilobata* merece destaque porque a deficiência e o excesso de nutrientes podem alterar tanto de forma quantitativa como qualitativa o desempenho agrônômico da planta, como exemplo a produção de fitofármacos (CASALI et al., 1998).

A prática da adubação orgânica, além de fornecer nutrientes às plantas, proporciona a melhoria física do solo, aumenta a retenção de água, diminui as perdas por erosão, favorece o controle biológico devido a maior população microbiana e melhora a capacidade tampão do solo (LOPES, 1989).

O húmus de minhoca ou vermicomposto ainda não é amplamente utilizado no cultivo de plantas medicinais, devido seu custo, sendo porém boa opção de adubo orgânico rico em nutrientes (CÔRREA JÚNIOR, et al., 1991). O húmus tem características próprias, dependendo do resíduo utilizado, de sua constituição e procedência (BICCA et al., 1999). Os resíduos utilizados variam desde esterco animal, resíduos vegetais, compostos de lixo urbano e industrial e o lodo de esgoto, entre outros (SENAR, 1994).

MARTINEZ (1990) relata que o vermicomposto promove melhoria no enraizamento, incrementa a biomassa das raízes, aumenta o crescimento e o desenvolvimento das plantas e algumas vezes alterou sua morfologia. De acordo com QUIJANO (1999), no húmus podem estar presentes em pequenas quantidades reguladores de crescimento (fitormônios), tais como auxina, citocinina e giberelinas, cujas presenças podem ser

observadas por análises químicas e biológicas e pelo efeito hormonal produzido nas plantas.

MING et al. (1998) verificaram aumento na produção de massa fresca da parte aérea de *Achillea millefolium* L., com níveis crescentes de adubo orgânico(esterco de gado + palha) curtido. No entanto, RODRIGUES e SUMIOKA (2000) observaram que o aumento da adubação orgânica causou em redução da massa fresca da parte aérea de cará comparados a testemunha (sem adubação). O aumento de níveis de composto orgânico, promoveu acréscimos de 321,69 g/planta, na produção da massa fresca da parte aérea de alface cv. Baba, seguido de decréscimos com os níveis mais elevadas do adubo orgânico (SANTOS et al., 1994).

2.2. Nitrogênio

Do total de nitrogênio do solo mais de 95% encontra-se na forma orgânica, que é a única maneira de reter este nutriente no solo. As formas minerais, amoniacal (NH_4^+) e nítrica (NO_3^-), estão sujeitas a perdas por volatilização e lixiviação, respectivamente, não permanecendo no solo por muito tempo (KIEHL, 1985).

Entretanto, de modo que este nutriente possa ser aproveitado pelas plantas é necessário que ocorra mineralização da matéria orgânica. Esta mineralização depende da própria composição e dos fatores: temperatura, umidade, aeração, teor de outros nutrientes, pH, microorganismos e manejo do solo. A avaliação da quantidade de nitrogênio da matéria orgânica disponível às plantas é complexa devido às múltiplas interações dos fatores que a afetam. Por este motivo e pela importância do nitrogênio nas plantas muitos pesquisadores têm tentado estimar a capacidade de suprimento deste elemento aos solos. Visando estas estimativas buscou-se correlacionar o nitrogênio mineralizado com características do solo, como nitrogênio total, teor de matéria orgânica, CTC, relação C/N, pH, ou ainda com frações do nitrogênio total extraível com reagentes químicos (PARENTONI, FRANÇA e BAHIA FILHO, 1988). Provavelmente apenas parte do nitrogênio total do solo é mineralizável e talvez este fenômeno tenha cinética de primeira ordem, ou seja:

$$dN / dt = - kN;$$

$$\text{onde } N = N_0 - N_t$$

sendo: N_0 - nitrogênio potencialmente mineralizável

N_t - nitrogênio mineralizado até o tempo t

k - constante de mineralização (STANFORD e SMITH, 1972).

A estimativa da quantidade de nitrogênio mineralizável (N_0) e a taxa de mineralização de nitrogênio (k) têm grande importância prática no manejo agrônomico do nitrogênio. Por exemplo, culturas em solos com N_0 e k altos seriam pouco beneficiadas com práticas como adubação verde, que fornece grande quantidade de nitrogênio mineralizável em curto prazo, enquanto a limitação está no suprimento de nitrogênio em longo prazo, o que provocará deficiência deste nutriente no final do ciclo das culturas (PARENTONI, FRANÇA e BAHIA FILHO, 1988).

Entretanto, a quantidade de nitrogênio fornecida pela matéria orgânica do solo nem sempre será bastante ao desenvolvimento das culturas. Além disso, em solos cultivados, a quantidade de nitrogênio mineralizada é menor que em solos virgens (THOMPSON, BLACK e ZOELLNER, 1954).

É necessário, conhecer o comportamento dos adubos orgânicos no que se refere à liberação do nitrogênio. Em função da relação média de C:N:P:S da matéria orgânica, 100:10:1:1 - respectivamente, da necessidade média de nitrogênio dos microorganismos, e do teor médio de compostos carbonatos em resíduos vegetais secos, considera-se que o teor crítico de nitrogênio dos resíduos orgânicos a serem incorporados ao solo é 1,2 a 1,6%. Abaixo destes valores ocorre diminuição do nitrogênio disponível às plantas (HENIS, 1986). Nem todo nitrogênio da matéria orgânica aplicada está prontamente disponível. Estima-se que a mineralização de adubos orgânicos de origem animal com 1,6 a 2,2% de nitrogênio ocorre em 40 a 50% no primeiro ano, 10 a 20% no segundo, e 5% no terceiro ano após a aplicação (BROADBENT, 1986).

2.3. Fósforo

O papel do fósforo orgânico do solo na nutrição das plantas é subestimado, pelo fato da maioria dos solos cultivados terem a maior parte do fósforo na forma inorgânica, e isto se deve ao baixo teor de matéria orgânica (DALAL, 1977).

A matéria orgânica do solo é considerada importante fonte de fósforo, pois contem de 15 a 86% do fósforo total incorporado no solo (KIEHL, 1985). Num estudo das diversas formas de fósforo no sub-horizonte A1 em solos do Estado de São Paulo os teores de fósforo orgânico variaram entre 5,3% e 31,3% do fósforo total (JORGE e VALADARES, 1968). A quantidade de fósforo orgânico decresce no perfil com a

profundidade, sendo que pequenas quantidades são encontradas além dos 90 cm (KIEHL, 1985).

O aproveitamento do fósforo orgânico do solo pelas plantas depende da mineralização. A velocidade deste processo depende, entre outros, do tipo de composto com o qual o fósforo está ligado. A maior parte está contida na fitina (26 a 35%) e seus derivados (11 a 14%). Outras substâncias orgânicas que contém fósforo são os compostos de ácido nucléico com proteína (nucleoproteínas) (KIEHL, 1985), fosfolípidos, e de açúcares (DALAL, 1977). A fitina e seus derivados são mineralizados mais lentamente que as nucleoproteínas. A diminuição da acidez aumenta a taxa de mineralização da fitina em maior proporção do que das nucleoproteínas (PEARSON e NORMAN, 1941).

O fósforo orgânico acompanha o mesmo padrão de acúmulo e perda da matéria orgânica, havendo alta correlação entre a mineralização do fósforo orgânico e do nitrogênio e carbono orgânico (THOMPSON et al., 1954). Altas correlações também foram obtidas entre fósforo extraível de solos orgânicos ácidos usando extrator de Mehlich; entre fósforo orgânico mineralizado e incremento na produção (DAUGHTREY et al., 1973); entre fósforo extraível por ácido (BRAY 1) e teor de matéria orgânica na camada superficial de solos de florestas tropicais (BRAMS, 1973); entre percentagem de fósforo orgânico e teor de carbono do solo (ENWEZOR, 1967).

A importância do fósforo orgânico do solo na nutrição das plantas é tanto maior quanto maior for a porcentagem em relação ao fósforo total do solo (DAUGHTREY, GILLIAM e KAMPRATH, 1973). Em regiões onde a temperatura do solo é alta (35°C) o fósforo orgânico mineralizado também pode contribuir com a disponibilidade deste elemento para as plantas (THOMPSON et al., 1954), embora a ocorrência deste fenômeno dependa de outros fatores como teor inicial de fósforo e atividade microbiana (IGUE et al., 1971). A quantidade de fósforo mineralizada é maior em solos virgens do que em solos cultivados o que foi atribuído, em parte, ao menor teor de matéria orgânica dos solos cultivados e também à diminuição na taxa de mineralização do fósforo orgânico pela perda da fração mais suscetível à mineralização durante o cultivo (THOMPSON et al., 1954).

Nos solos das regiões tropicais e subtropicais o fósforo é elemento limitante na nutrição das plantas, não só pela baixa concentração mas também pelas propriedades adsorptivas destes solos (PEIXOTO et al., 1987). A disponibilidade de fósforo pode aumentar pela adição de resíduos orgânicos (PAVAN et al., 1986). Este incremento é

atribuído tanto à liberação do fósforo contido na matéria orgânica pela mineralização (PEIXOTO, 1990) quanto à influência da matéria orgânica sobre os mecanismos de fixação do fósforo, reduzindo as propriedades adsorptivas dos colóides do solo e aumentando, conseqüentemente, a disponibilidade do fósforo inorgânico (PAVAN et al., 1986).

A imobilização e a mineralização que são processos de transformação biológica determinantes do acúmulo ou perda de matéria orgânica, podem ocorrer simultaneamente no solo (DALAL, 1977) e dependem, entre outros fatores, da disponibilidade dos demais elementos (carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre) neste mesmo solo. Assim, a adição de adubo fosfatado mineral, além de contribuir como nutriente em si, pode ativar alguns processos que liberam o fósforo da matéria orgânica do solo (IGUE et al., 1971) dependendo do teor inicial do fósforo no solo, de sua proporção em relação aos outros elementos e da sua disponibilidade aos microorganismos (DALAL, 1977). Por este mesmo motivo, a adição de fósforo inorgânico ou matéria orgânica com elevada relação C:P a solos com baixos níveis de fósforo pode reduzir ainda mais o fósforo disponível às plantas devido a imobilização (DALAL, 1977).

A relação carbono orgânico:fósforo orgânico nos resíduos vegetais incorporados ao solo tem sido utilizado na tentativa de prever a predominância de qual processo, imobilização ou mineralização, irá ocorrer (ALEXANDER, 1977). Na relação 200:1, ou menor, ocorrerá mineralização e acima de 300:1, imobilização. O nível crítico de fósforo na matéria orgânica, que reflete o equilíbrio entre imobilização/mineralização seria 0,2% (ALEXANDER, 1977). Entretanto, sob enfoque mais amplo, incluindo o efeito da matéria orgânica sobre as propriedades adsorptivas dos solos, SINGH e JONES (1976) observaram que o teor crítico de fósforo nos resíduos orgânicos é 0,3%, sendo que abaixo deste teor crítico ocorre diminuição do fósforo lábil no solo.

2.4. Potássio

É elemento ativo na planta porém, o potássio não é constituinte de importância quantitativa em nenhum composto orgânico e seu teor em resíduos vegetais decompostos ou parcialmente decompostos é pequeno (KIEHL, 1985). Quatro semanas após a queda, o resíduo vegetal depositado no solo em floresta tropical úmida já havia perdido 80 a 90% do potássio (BERNHARD-REVERSAT, 1974). Além disso, o teor de potássio nas plantas é bastante influenciado pelas chuvas, que reduziram sua

concentração nas folhas em 2 a 3 vezes em relação à época seca (SAMPAIO et al., 1988).

A importância da matéria orgânica na disponibilidade de potássio para as plantas está mais relacionada com sua manutenção na forma trocável e a redução de sua perda por lixiviação (DIEST, 1979).

Em solos tropicais onde predominam minerais de argila de baixa CTC, a matéria orgânica contribui significativamente na sua elevação (RAIJ, 1991), o que diminui as perdas por lixiviação de cátions trocáveis, conforme verificado por PAVAN et al. (1986). Por outro lado, o húmus retém com maior intensidade os cátions bivalentes, aumentando a disponibilidade relativa do potássio (DIEST, 1979).

A matéria orgânica, além de influir diretamente nos teores de K^+ trocáveis no solo, aumenta a formação e estabilização de agregados, proporcionando uma relação água/ar mais favorável ao desenvolvimento radicular, aumentando assim a superfície de absorção dos nutrientes (DIEST, 1979).

2.5. Cálcio e Magnésio

O cálcio e o magnésio absorvidos pelas plantas são, principalmente, de origem mineral. A matéria orgânica contribui na manutenção em forma trocável pela adsorção eletrostática com colóides orgânicos que reduzem a perda por lixiviação (KIEHL, 1985), conforme foi constatado por PAVAN et al. (1986). Este fenômeno depende do tipo de matéria orgânica, pois entre sete tipos de adubo orgânico somente o resíduo de curtume produziu incrementos significativos nos teores de cálcio e magnésio trocáveis do solo (MACHADO et al., 1983).

2.6. pH e Alumínio

A acidez do solo já foi atribuída, exclusivamente, à presença dos ácidos orgânicos da matéria orgânica (KIEHL, 1985); hoje se sabe que a matéria orgânica, quando decomposta em condições aeróbicas, tem reação alcalina, podendo elevar o pH de solos ácidos, pelo menos temporariamente (PAVAN et al., 1986); embora este efeito não tenha sido constatado por PEIXOTO et al. (1987).

ERNANI e GIANELLO (1982) verificaram que a adubação orgânica, mesmo sem influir significativamente no pH, reduziu os teores de alumínio trocável e a

necessidade de calcário. Resultados semelhantes na redução de alumínio trocável em função da matéria orgânica foram obtidos por PAVAN et al. (1986).

O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito da matéria orgânica (húmus de minhoca) no crescimento e nas concentrações foliares de nitrogênio, fósforo e potássio e na produção de tanino em *S. trilobata*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de 06-10-2000 a 19-03-2001, em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizado no Campus da UFV em Viçosa - MG.

Plantas de *S. trilobata* foram obtidas a partir de mudas cedidas pelo Grupo Entre-Folhas (UFV). As mudas foram enraizadas em bandejas plásticas, preenchidas com solo/areia. Após 30 dias, essas plantas foram transplantadas em vasos de seis litros, preenchidos com substrato constituído por solo (Latosolo-vermelho amarelo):esterco de bovino curtido, na proporção de acordo com os tratamentos. O experimento foi iniciado 30 dias após o enraizamento das mudas em bandejas quando as plantas tinham, em média, 10 cm de altura e 4 a 5 pares de folhas. A irrigação até essa data foi diária, de acordo com a necessidade. O experimento teve como objetivo avaliar o efeito da adubação orgânica (vermicompostagem) sobre: 1) o crescimento da espécie *S. trilobata* durante 154 dias, 2) o acúmulo de biomassa na espécie *S. trilobata* durante 164 dias, 3) a concentração foliar de nitrogênio, fósforo e potássio foliar na espécie *S. trilobata*, 4) a curva de absorção de nitrogênio, fósforo e potássio foliar na espécie *S. trilobata*, 5) a produção de tanino na espécie *S. trilobata* e 6) o estudo de correlação do crescimento e produção de tanino.

3.1. Instalação do Experimento e Análise Estatística

O experimento foi instalado segundo o esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os doses de adubação orgânica de 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 100% e nas subparcelas as épocas de coleta dos dados aos 39, 63, 94, 123, 154 dias após início do experimento, no delineamento inteiramente ao acaso, com quatro repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso, sendo uma planta por vaso. Os vasos foram trocados de lugar na bancada uma vez por semana. Foram realizadas análises de variância e regressão (pela técnica da superfície de resposta). Os modelos de ajuste escolhidos basearam-se na significância dos coeficientes da superfície de resposta; por meio do teste de t, a 5% de probabilidade; no coeficiente de determinação e no fenômeno em estudo. Na análise do acúmulo de biomassa foi feito estudo de regressão simples das doses de adubação orgânica de 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 100% aos 164 dias após o plantio. Na análise foliar das concentrações de nitrogênio, fósforo e potássio foram feitos o estudo de regressão pela técnica de superfície de resposta nas doses de adução orgânica (húmus) de 15, 45, 75 e 100%, não incluindo a dose zero por falta de matéria seca de folha neste tratamento. O resumo de análise de variância encontram-se nas Tabelas 2A e 3A no apêndice. A análise estatística foi feita utilizando-se o programa SAEG 5,0 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas).

3.2. Tratamentos

Os tratamentos constituíram-se da combinação de sete doses de adubação orgânica e cinco épocas de amostragem (colheita). As doses de adubação foram: (1) 0% de adubação; (2) 15%, (3) 30%, (4) 45%, (5) 60%, (7) 75% e (8) 100% de adubação orgânica (húmus de minhoca ou vermicompostagem) que corresponderam a 0, 0,288, 0,576, 0,864, 1,152, 1,440, 1,728 e 1,920 kg de matéria seca (MS) de húmus/vaso. As datas de coleta ocorreram aos 39, 63, 94, 123, 154 e 164 dias após início do experimento. A casa de vegetação encontra-se disposta com maior comprimento no sentido Norte-Sul, com pé direito à altura de 5 metros, sendo coberta com polietileno transparente e fechada lateralmente com tela tipo sombrite preta 30% (sendo que a radiação a pleno sol em dia sem sombra é de $1800 \mu\text{mol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$). A evolução do comprimento do dia em Viçosa encontra se na Figura 1.

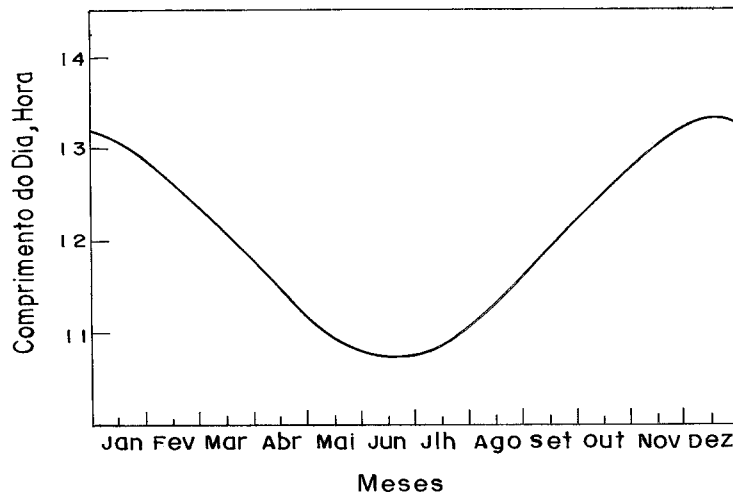


Figura 1. Evolução do comprimento do dia de Viçosa (MG).

As épocas de coleta foram determinadas a partir do início do plantio das mudas nos vasos. Iniciou-se a aplicação dos tratamentos nas mudas 30 dias após as estacas serem colocadas no leito de enraizamento. Esse dia foi considerado, portanto como dia ou data zero. A análise da parte aérea das plantas foi iniciada 39 dias após essa data. Em cada data de amostragem, foram colhidas 28 plantas (uma por vaso). As colheitas foram feitas manualmente, cortando-se o caule rente as bordas do vaso com tesoura de poda, sempre no horário compreendido entre 7:00 e 11:00 horas. As plantas, logo que colhidas, foram colocadas separadamente em sacos de papel kraft, previamente identificados. Imediatamente, as plantas foram pesadas, determinando-se a massa da matéria fresca e levadas à sala de secagem, localizada no porão do Departamento de Fitotecnia, onde desidratam à temperatura ambiente (em torno de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade mantida em torno de 50%, por meio de desumidificador, após o qual determinou-se a massa da matéria seca. Preferiu-se secar todas as plantas nessas condições pois na estufa poderia haver degradação térmica do princípio ativo.

3.3. Análise de crescimento

Em cada data de amostragem, obteve-se os dados da massa da matéria fresca e seca da parte aérea, o número de ramos e internódios.

3.4. Análise da concentração de nitrogênio, fósforo e potássio no tecido foliar

A determinação da concentração de nitrogênio, fósforo e potássio foi feita nas doses 15, 45, 75 e 100% de húmus e nas datas 39, 63, 94 e 123 dias, nas mesmas plantas secas já colhidas anteriormente. As leituras foram feitas em espectrofotômetro de duplo feixe Hitachi U-2000, sendo realizada uma leitura por amostra. A determinação do nitrogênio orgânico (N-NH₄⁺) foi feita pela digestão sulfúrica e de fósforo e potássio pela digestão nítrico-perclórica de rotina no laboratório de nutrição de plantas.

3.5. Análise da concentração de tanino no tecido foliar

O método de análise utilizado foi o espectrofotométrico Método Oficial de Análise da Association of Agricultural Chemist (AOAC, 1970), e as análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Mineral do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa.

A) Extração de tanino (fenóis totais)

Cem mg da planta desidratada triturada em pó foram submetidos a três extrações consecutivas. Cada extração foi realizada com 3 mL de metanol a quente (55°C), em frascos de 10 mL com duração de dez minutos. Após a extração, o extrato foi pipetados e filtrados com algodão sendo transferidos em frascos de 50 mL completando o volume até 10 mL, com metanol.

B) Preparação da curva-padrão

Na preparação da curva-padrão, foram adicionados em tubos de ensaio de 15 mL: solução-padrão de ácido tânico (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 mL), 7,5 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente de Folin-Denis e 1,0 mL de solução saturada de Na₂CO₃, diluindo-se a 10 mL com água. Após homogeneização e repouso da mistura por 30 minutos, foi determinada a absorbância em 760 nm, obtendo-se a curva-padrão com a absorbância em função de mg de ácido tânico/ 100mL. A concentração do ácido tânico na solução padrão foi de 25 mg ácido tânico/250 mL água.

C) Leitura em espectrofotômetro

As leituras foram feitas em espectrofotômetro de duplo feixe Hitachi U-2000, sendo realizada uma leitura por amostra. Na preparação da amostra destinada a leitura de absorvância, adicionou-se 7,5 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente Folin-Denis e 1 mL de solução saturada de carbonato de sódio à 0,2 mL de extrato, completando-se a solução para 10 mL. Após 30 minutos em repouso, realizou-se a leitura de absorvância em 760 nm (de acordo com a curva-padrão). A concentração das amostras foi determinada em mg de ácido tânico/100 mL. Com esses valores, posteriormente calculou-se a percentagem de tanino por 100 mg de amostra de planta desidratada, unidade esta adotada na análise de variância. O modo de preparo dos reagentes encontra-se no Apêndice.

Tabela 2. Características do húmus utilizado no experimento sobre o efeito da adubação orgânica no crescimento de *Sphagneticola triloba* (L.) Pruski. Viçosa MG, 2003

Umidade (%)		Base seca (umidade total %)			
65°C	110°C	Total	MO	Cinzas	
43,62	6,94	50,56	52,72	47,27	
Base seca (umidade 65°C)					
pH	Ca	Mg	K	P	N ₂
8,4	1,75	0,46	1,16	0,41	1,72
Cu	Zn	Mn	Fe	Cd	Ni
45,0	65,45	674	15,054	0,45	21,6

1. Determinação do carbono pelo método da calcinação (Carbono orgânico 30,58 %)
2. Nitrogênio determinado pelo método de Kjeldahl, citado por KIEHL (1985)
3. Macro e micronutrientes determinados pela digestão nítrico-perclórica.

Tabela 3. Características químicas do solo utilizado no experimento sobre o efeito da adubação orgânica no crescimento de *Sphagneticola triloba* (L.) Pruski. Viçosa MG, 2003

PH	P	K	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Al ⁺³	H + Al
H ₂ Omg/dm ³	-----cmol _c /dm ³ -----	-----	-----	-----
5,6	1,5	189,5	1,57	0,17	0,00	1,32
SB	(t)	(T)	V		m	
.....cmol _c /dm ³	-----	-----%	-----	-----
2,22	2,22	3,54	62,7		0,00	

1. P e K: Extrator Mehlich. 2. H + Al: Extrator acetato de cálcio 0,5 mol/L, pH 7,0.
3. Al, Ca e Mg: Extrator KCl – 1mol/L. 4. SB = Soma de bases trocáveis.
5. CTC_i = Capacidade de troca catiônica efetiva. 6. CTC_T = Capacidade de troca catiônica em pH 7,0.
7. V = Índice de saturação de bases.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise de crescimento

O número de ramos de *S. trilobata* encontra-se representado na Figura 2. O número máximo de 35 ramos, foi estimado com 76,76% de húmus e aos 111 dias.

Aos 105 dias o acúmulo de matéria seca com 86,77 % de húmus foi 19,76 g, ponto máximo estimado pela equação (Figura 3).

MING et al. (1998) relata que o fornecimento de até 4 kg/m² de adubo orgânico, resultou em crescimento e biomassa de *Lippia alba* 106%, em relação à testemunha, estando de acordo com o encontrado em *S. trilobata*. SCHEFFER (1991 e 1998), relata que o fornecimento de até 4 kg/m² de adubo orgânico, causou aumento significativo na biomassa *Achillea millefolium* no tratamento 3 kg/m².

A Figura 4 representa as variáveis massa da matéria fresca e seca da parte aérea, número de ramos e internódios respectivamente (MFPA, MSPA, NR e NE), acumulado no período de 164 dias.

A medida estimada da massa da matéria seca da parte aérea (119,74 g), massa da matéria seca da raiz (17,79 g) e o número de ramos (179) foram conseguidos com o máximo nas doses de húmus, respectivamente (86,63%, 92,54% e 75,29%). O comprimento dos ramos teve comportamento expresso pela equação raiz quadrada das doses de húmus.

$$\hat{y} = -18,528 + 0,4958**D - 0,003941**D^2 + 0,5978**C - 0,003025**C^2 + 0,0009819**DxC \quad r^2 = 0,8736$$

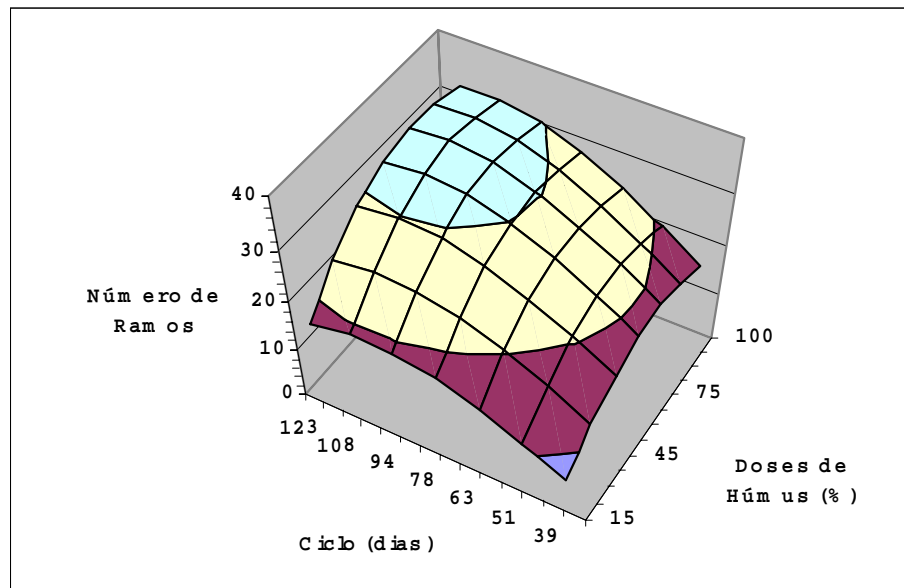


Figura 2. Estimativa do número de ramos de *Sphagneticola trilobata* em função das doses de húmus e do ciclo.

$$\hat{y} = -16,992 + 0,3000**D - 0,002153**D^2 + 0,5036**C - 0,002674**C^2 + 0,0006979**DxC \quad r^2 = 0,7351$$

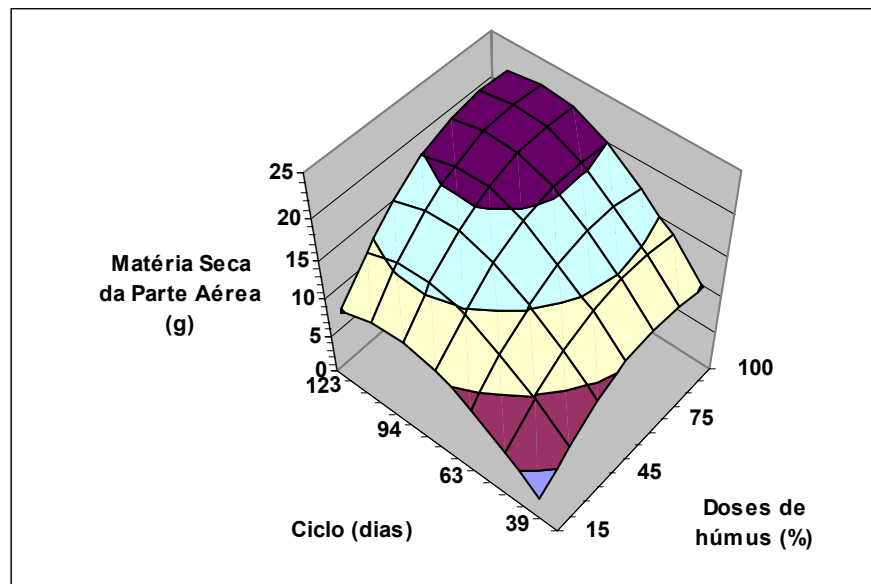


Figura 3. Estimativa do acúmulo de massa da matéria seca da parte aérea em gramas/vaso (MSPA) (g/vaso) de *S. trilobata* em função das doses de húmus e do ciclo.

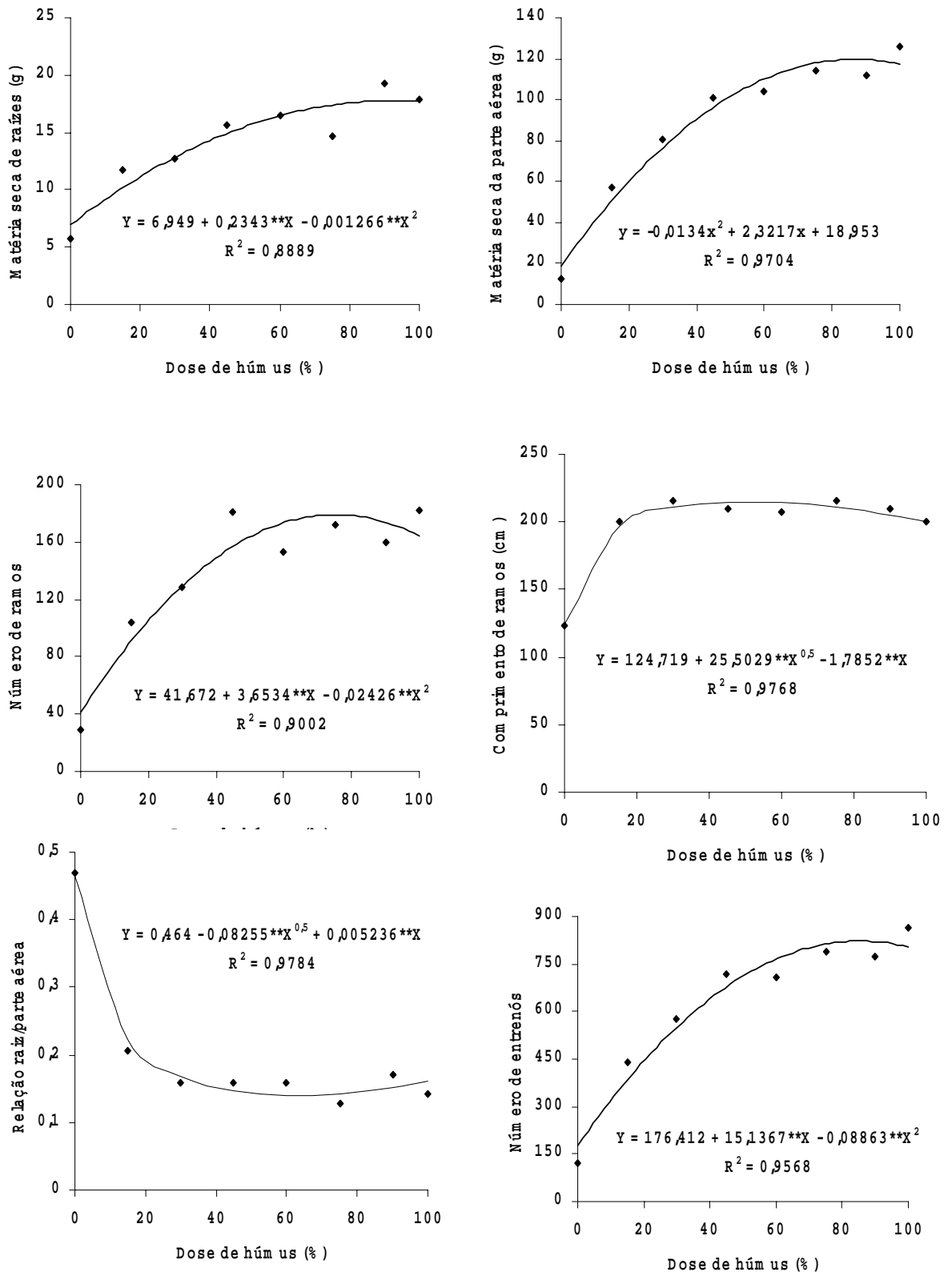


Figura 4. Equações de regressão e coeficiente de determinação da massa da matéria seca da parte aérea (MSPA), massa da matéria seca de raiz (MSR), número de ramos (NR), comprimento de ramos (CR), relação raiz parte aérea (RRPA) e número de internódios (NE) em função das doses de húmus acumulado no ciclo.

A relação raiz parte aérea foi máxima na ausência do húmus. Com adição de 15% a relação caiu de 0,464 até 0,223, correspondendo redução de 52% na relação. No entanto, pela equação de regressão a menor relação é atingida com 62,24% de húmus que corresponde à relação de raiz/parte aérea 0,139. A diminuição na relação raiz/parte aérea é esperada, pois com a adição de húmus a planta passou proporcionalmente a investir mais fotoassimilados na produção da parte aérea em detrimento ao sistema radicular, não precisando de tantas raízes na obtenção dos nutrientes. O comprimento de ramos em função das doses de húmus foi expresso pela equação raiz das doses; diferente do número de ramos que teve comprimento máximo 124,719 cm na dose zero 87,70% de húmus.

4.2. Análise das concentrações de nitrogênio, fósforo e potássio no tecido foliar

As Figuras 5, 6 e 7 com as respectivas equações de regressão ilustram as concentrações de nitrogênio, fósforo e potássio em função das doses de húmus e ciclo.

A concentração de nitrogênio nas folhas foi linearmente crescente com o aumento das doses de húmus, mantendo o ciclo constante (Figura 5).

A diferença de aumento da concentração de nitrogênio no tecido foliar entre as doses 15% e 100% de húmus foram maiores na última avaliação e menor na primeira. Aos 123 dias com 15% de húmus a concentração de nitrogênio foliar foi 1,41% passando a 2,16% com 100% de húmus. Este aumento de nitrogênio foliar foi 53%. Com as mesmas doses de húmus, o aumento foi apenas 29% aos 39 dias. Foram estimados 2,62% de nitrogênio foliar que se elevou a 3,38% quando as doses de húmus passaram de 15% a 100%.

A Figura 6 ilustra as concentrações foliares de fósforo em função dos tratamentos.

A concentração de fósforo na folha aumentou com os acréscimos das doses de húmus no substrato, mantendo constante o ciclo. Aos 39 dias houve aumento de fósforo nas folhas de 118% quando a dose de húmus passou de 15% a 100%. Com 15% foi estimada a concentração 0,16% de fósforo nas folhas, que passou a 0,35% com 100% de húmus no substrato aos 39 dias.

Aos 123 dias, com a dose 15% de húmus de foi estimada a concentração de fósforo foliar de 0,46%, que se elevou a 0,50% com a dose 100% de húmus, sendo o aumento de apenas 8,7%.

$$\hat{y} = 3,7622 + 0,0089**D - 0,0383**C + 0,000147*C^2 \quad r^2 = 0,9110$$

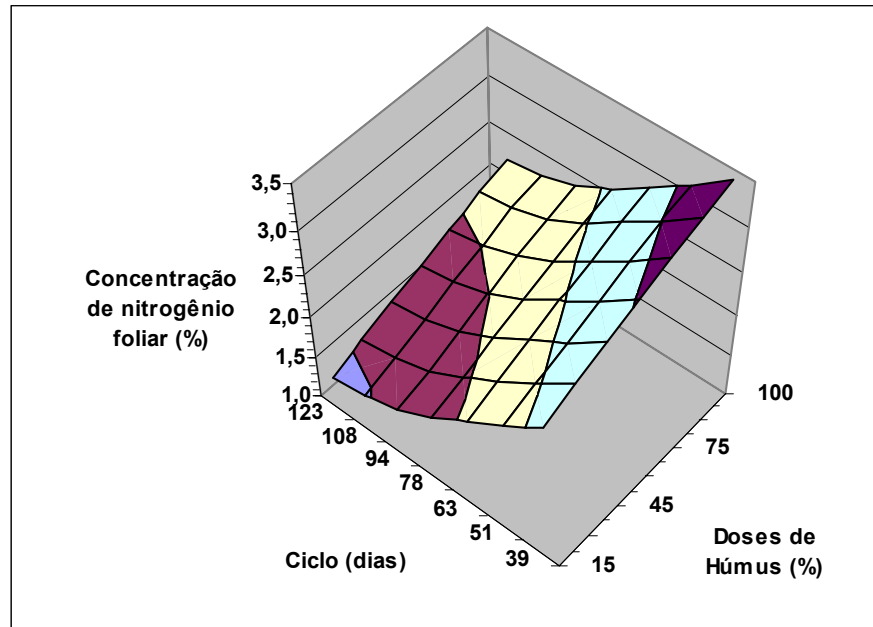


Figura 5. Estimativa da concentração de nitrogênio nas folhas de *S. trilobata* em função das doses de húmus e do ciclo.

$$\hat{y} = -0,02986 + 0,00315**D + 0,003941**C - 0,00002172*DxC \quad r^2 = 0,8040$$

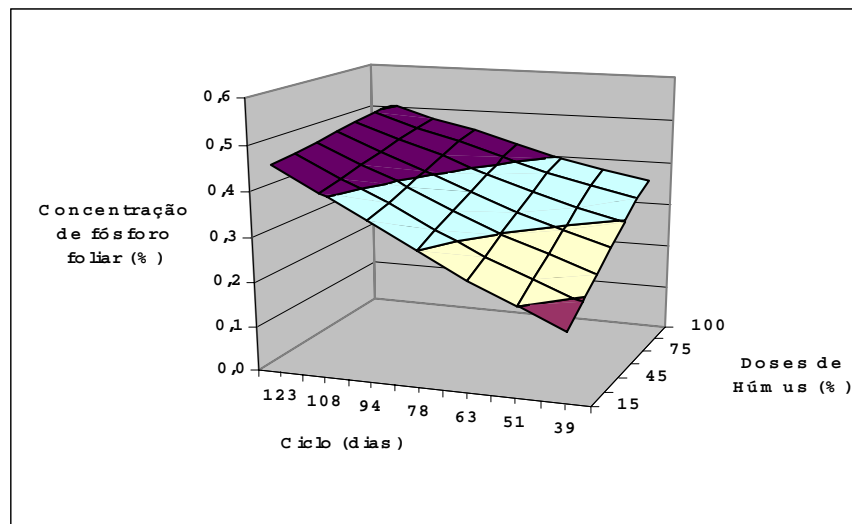


Figura 6. Estimativa da concentração de fósforo nas folhas de *S. trilobata* em função das doses de húmus e do ciclo.

A Figura 7 ilustra as concentrações de potássio em função dos tratamentos.

A concentração de potássio no tecido foliar teve efeito quadrático estimada pela equação em qualquer dose de húmus analisada, mantendo o ciclo constante. A menor concentração de potássio nas folhas foi de 0,03024% aos 123 dias com 100% de húmus no substrato; e a concentração mais alta de potássio nas folhas foi de 0,121078% com 100% de húmus aos 39 dias.

$$\hat{y} = 0,12517 + 0,000270^0D - 0,000505^*C + 0,000002463^*D^2 + 0,000002824^*C^2 - 0,000010339^{**}DxC$$
$$r^2 = 0,7330$$

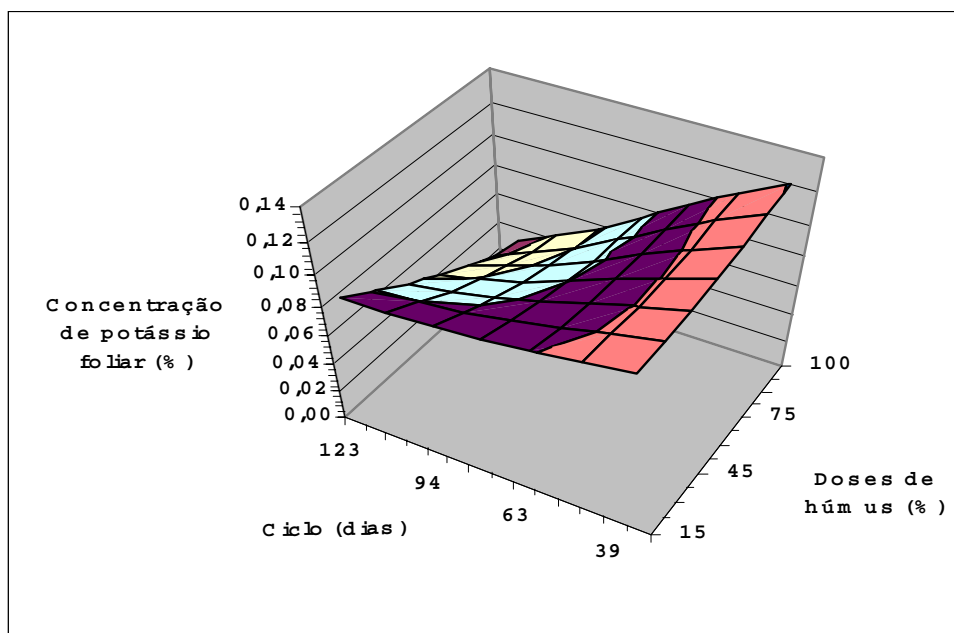


Figura 7. Estimativa da concentração de potássio nas folhas de *S. trilobata* em função das doses de húmus e do ciclo.

4.3. Análise da concentração de tanino no tecido foliar

A Figura 8 ilustra o efeito das doses de húmus e do ciclo na concentração de tanino nas folhas de *S. trilobata*. A concentração de tanino teve efeito quadrático com as doses de húmus, e efeito linear com o ciclo.

$$\hat{y} = 2,4617 - 0,03992**D + 0,004951**E + 0,000269**D^2 \quad r^2 = 0,7747$$

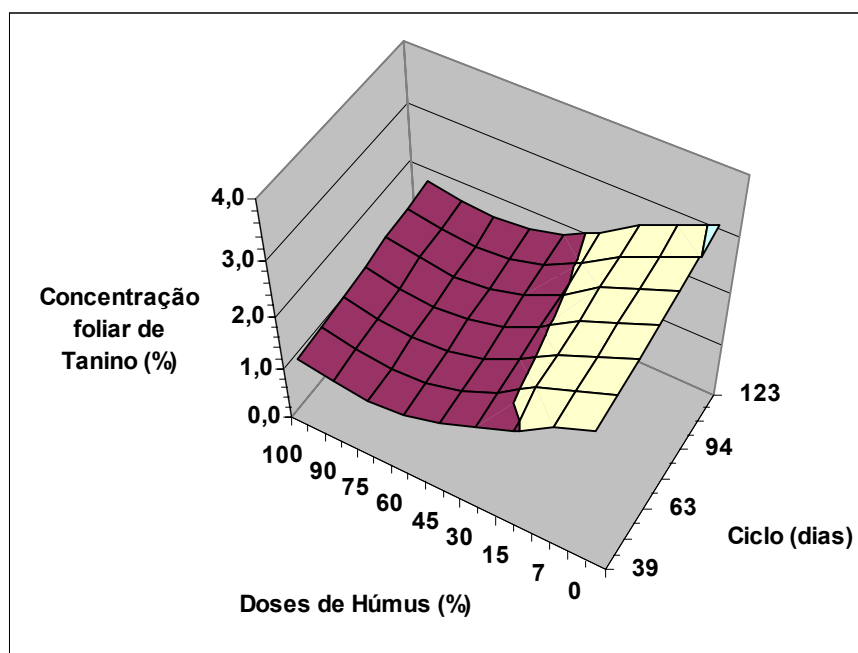


Figura 8. Estimativa da concentração de tanino nas folhas de *S. trilobata* em função das doses de húmus e do ciclo.

4.4. Análise de correlação

Na Tabela 7 encontra-se a análise de correlação de Pearson do experimento, onde avaliou o efeito da adubação orgânica e ciclo (dias) nas variáveis de crescimento e concentração de tanino em *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. Realizou-se a correlação das variáveis de crescimento, massa da matéria fresca e seca da folha (MFF, MSF), número de internódios e ramos (NE, NR), comprimento de ramos (CR) e concentrações foliares de tanino entre si.

Todas as variáveis de crescimento tiveram alta correlação positiva entre si, apresentando, contudo correlação negativa com as concentrações foliares de tanino.

Tabela 7. Estimativas dos coeficientes de correlação das variáveis de crescimento MFF, MSF, NR, NE, CR e concentrações foliares de tanino entre si em função das doses de húmus e do ciclo (60 observações)

Variável	Variável	Correlação
MFF	MSF	0,97**
MFF	NR	0,87**
MFF	NE	0,96**
MFF	CR	0,65**
MFF	Tanino	-0,53**
MSF	NR	0,87**
MSF	NE	0,98**
MSF	CR	0,73**
MSF	Tanino	-0,41**
NR	NE	0,89**
NR	CR	0,69**
NR	Tanino	-0,50**
NE	CR	0,71**
NE	Tanino	-0,40**
CR	Tanino	-0,27*

** , * , significativa a 1% e 5% pelo teste de t.

5. CONCLUSÕES

O melhor desenvolvimento da espécie *Sphagneticola triloba*, foi no intervalo de adubação orgânica de 60 a 85% e entre o ciclo de 95 e 120 dias com relação as variáveis de crescimento. Das doses 0 até 100% de húmus houve comportamento quadrático com pontos de máximos de matéria seca da raiz, número de ramos, matéria seca da parte aérea e no número de entrenós. As variáveis, comprimento de ramos e relação raiz/parte aérea teve comportamento expresso pela equação raiz quadrada das doses de húmus.

A concentração de tanino teve efeito quadrático mantendo-se fixa época.

As variáveis de crescimento correlacionaram positivamente entre si e negativamente com o teor de tanino.

LITERATURA CITADA

ALEXANDER, M. **Introducion to soil microbiology**. New York: J. Wiley, 1977. 467p.

ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMIST - A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 11 ed. Washington, D.C.: 1970. 1015p.

BICCA, A.M.O.; SIQUEIRA, D.J.; KALL, A.C.; MENEZES, F.P. Caracterização química de diferentes vermicompostos produzidos em estação quente. In: CONGRESSO BRASILEIRO, 1, e CONGRESSO GAÚCHO DE MINHOCULTURA, 3, 1999. Pelotas: UFPel, RS. Resumos... Pelotas:UFPel, 1999.p.3.

BRAMS, E. Soil organic matter and phosphorus relationships under tropical forests. **Plant Soil**, Dordrecht, v.39, p.465-468. 1973.

BROADBENT, F.E. Effects of organic matter on nitrogen and phosphorus supply to plants. In: CHEN, Y.; AVNIMELECH, Y. eds. **The role of organic matter in modern agriculture**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986. p.13-27.

CÔRREA, J.R. C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas, Curitiba: Emater-PR, 1991. 162p.

COX, P.A.; BALICK, M.J. The ethnobotanical approach to drug discovery. **Scientific American**, p.82-87. 1994.

DALAL, R.C. Soil organic phosphorus. **Adv. Agron.**, New York, v.29, p.83-113, 1977.

DAUGHTREY, Z.W.; GILLIAM, J.W.; KAMPRATH, E.J. Soil test parameters for assessing plant-available P of acid organic soils. **Soil Sci.**, Baltimore, v.115, p.438-446, 1973.

- DIEST, A. Factors affecting the availability of potassium in soils. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL POTASH INSTITUTE, 11., Bern, 1978. **Potassium research – review and trends**. Proceedings. Bern: International Potash Institute, 1979. p.75-97.
- DOBEREINER, J.; BALDANI, J.I. Bases científicas para uma agricultura biológica. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.34, n.7, p.869-881, 1981.
- ENWEZOR, W.O. Significance of the C: organic P ratio in the mineralization of soil organic phosphorus. **Soil Sci.**, Baltimore, v.103, p.62-66, 1967.
- ERNANI, P.R.; GIANELLO, C. Efeito imediato e residual de materiais orgânico, adubo mineral e calcáreo no rendimento vegetal. **R. Brás. Ci. Solo**, Campinas, v.6, p.119-124, 1982.
- FURLAN, M.R. Aspectos agronômicos em plantas medicinais. In: Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia e estudo interdisciplinar/Luiz Cláudio Di Stasi organizador. São Paulo: Editora UNESP, p.157-167, 1996.
- HENIS, Y. Soil microorganisms, soil organic matter and soil fertility. In: CHEN, Y.; AVNIMELECH, Y. **The role of organic matter in modern agriculture**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986. p.159-168.
- IGUE, K.; FUENTES, R.; BORNEMIZA, E. Mineralización de P-orgánico en suelos ácidos de Costa Rica. **Turrialba**, Coronado, v.21, p.47-52, 1971.
- JORGE, J.A.; VALADARES, J. Formas de fósforo em solos do Estado de São Paulo. **Bragantina**, Campinas, v.28, n.2, p.23-30, 1969.
- KIEHL, E.J. Fertilizantes orgânicos. 1.ed. São Paulo, Ed. Agr. Ceres, 1985. 492p.
- LOPES, A.S. Manual de fertilidade do solo, São Paulo: ANDA, POTAFOS. 1989. 153P.
- MACHADO, M.O.; GOMES, A.S.; TURATTI, A.L.; PAULETTO, E.A.; SILVEIRA JUNIOR, P. Efeito da adubação orgânica e mineral na produção de arroz irrigado e nas propriedades químicas e físicas do solo de Pelotas. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.18, n.6, p.583-591, 1983.
- MARTINEZ, A.A. Manual prático do minhocultor. Jaboticabal: FUNEP, 1990. 116 p.
- MING, L.C.; SCHEFFER, M.C.; CORRÊA JÚNIOR, C.; BARROS, I.B.I.; MATTOS, J.K.A. Plantas medicinais aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica. vol I, Universidade Estadual Paulista – Botucatu, São Paulo. 1998. 217p.
- NEVES, E.S. Plantas medicinais na saúde pública. *Silvic.* São Paulo, São Paulo, v.6-A, p.181-186, 1982.
- PARENTONI, S.N.; FRANÇA, G.E.; BAHIA FILHO, A.F.C. Avaliação dos conceitos de quantidade e intensidade de mineralização de nitrogênio para trinta solos do Rio Grande do Sul. **R. Brás. Ci. Solo**, Campinas, v.12, p.225-229, 1988.

- PAVAN, M.A.; CARAMORI, P.H.; ANDROCIOLI FILHO, A.; SCHOLZ, M.F. Manejo da cobertura do solo para formação e produção de uma lavoura cafeeira. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.21, n.2, p.187-192, 1986.
- PEARSON, R.W.; NORMAN, A.G.; HO, C. The mineralization of the organic phosphorus of various compounds in soil. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, Madison, v.6, p.168-175, 1941.
- PEIXOTO, J.R. Efeito da matéria orgânica, do superfosfato e do cloreto de potássio na percentagem de macronutrientes na matéria seca da parte aérea do maracujazeiro amarelo. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.25, n.10, p.1513-1521, 1990.
- QUIJANO, F.G. Uso de vermicomposto na nutrição e produção de duas cultivares de alface em ambientes protegido. Pelotas, RS: UFPel 1999. 106p. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, 1999.
- RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. São Paulo; Piracicaba: Ceres Potafos, 1991. p.343.
- RODRIGUES, E.F.; CASALI, V.W.D. Resposta da alface à adubação orgânica. II. Teores, conteúdos e utilização de macronutrientes em cultivares. **Revista Ceres**, Viçosa-MG, v.45, n.261, p.437-449, 1998.
- RODRIGUES, E.T.; SUMIOKA, A.T. Resposta do cará a fontes de adubação orgânica. **Hort. Bras.**, v18, julho, p.810-811, 2000.
- SAMPAIO, E.V.S.B.; NUNES, K.S.; LEMOS, E.E.P. Ciclagem de nutrientes na mata de Dois Irmãos (Recife-PE) através da queda de material vegetal. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.23, n.10, p.1055-1061, 1983.
- SANTOS, R.H.S.; CASALI, V.W.D.; CONDÉ, A.R.; MIRANDA, L.C.G. Qualidade de alface cultivada com composto orgânico. **Hort. Bras.**, v.12, n.1, maio, p.29-32, 1994.
- SENAR. Criação de minhocas e produção de húmus, Manual do participante, [s.l.] Federação da Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul. 1994. 25 p.
- SINGH, B.B.; JONES, J.P. Phosphorus sorption and desorption characteristics of soil as affected by organic residues. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, Madison, v.40, p.389-394, 1976.
- STANFORD, G.; SMITH, S.J. Nitrogen mineralization potentials of soils. **Soil Sci. Soc. Amer. Proc.**, Madison, v.36, p.465-472, 1972.
- THOMPSON, I.M.; BLACK, C.A.; ZOELLNER, J.A. Occurrence and mineralization of organic phosphorus in soils, with particular reference to associations with nitrogen, carbon, and pH. **Soil Sci.**, Baltimore, v.77, p.185-196, 1954.

CAPÍTULO 3

EFEITO DA RADIAÇÃO NO CRESCIMENTO DE PLANTAS E NA PRODUÇÃO DE TANINO DE *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

1. INTRODUÇÃO

Todo o organismo necessita perceber e processar a informação do seu ambiente visando crescer e se desenvolver otimamente. As plantas necessitam no seu senso respostas ao estímulo externo muito mais que outros organismos. Portanto, nas plantas o modelo de desenvolvimento decorre da instabilidade e visando assegurar sua sobrevivência e reprodução. Como consequência, numerosos fatores ambientais, incluindo temperatura, água, gravidade e luz podem exercer profunda influência na forma da plantas de forma individual (MORELLI e RUBERTI, 2000).

O estímulo luminoso ambiental regula a germinação das sementes, no estabelecimento das plântulas, na determinação do hábito de crescimento e na transição ao florescimento, dentre outros processos (KENDRICK e KRONENBERG, 1994).

2. REVISÃO DE LITERATURA

As plantas estão sujeitas a vários estímulos ambientais, sendo que a luz está entre os mais importantes estimuladores dos fenômenos fisiológicos, por causa da fotossíntese e das mudanças morfológicas (KAMADA et al., 1995). As plantas utilizam a energia luminosa ao realizar a fotossíntese e são estimuladas a otimizar sua captação e sincronização do desenvolvimento com as variações sazonais durante o ciclo de vida (SMITH, 1995). A luz influencia também a indução floral e a taxa de florescimento (SMITH, 1995), o crescimento celular, o movimento dos estômatos e a biossíntese de compostos fenólicos (BEGGS et al., 1986). Tem-se constatado influência da luz na síntese de óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas (LI et al., 1996).

A intensidade e a qualidade da luz determinam a velocidade do crescimento celular, a acumulação de pigmentos e a diferenciação de plastídios (ARNIM e DENG, 1996).

A luz pode ter efeitos sobre específicos órgãos ou tipos de célula e sobre células vizinhas. A luz influencia diretamente a taxa de divisão celular e o tempo da divisão, sendo o volume final das células influenciado pela luz (GABA e BLACK, 1983). Os órgãos também respondem diferentemente à luz, pois o crescimento de tecidos foliares, hipocótilo e caule são influenciados pela quantidade e qualidade da radiação (GABA e BLACK, 1983). O aumento da radiação luminosa incrementa a atividade fotossintética, fazendo crescer também a produção de hidratos de carbono e o teor de matéria seca (MS), enquanto a deficiência de radiação proporciona alongamento celular, causando estiolamento sem alteração do teor de MS (PANDURO, 1986).

Plantas crescidas em alta radiação tem morfologia foliar distinta das crescidas em baixa radiação (BARREIRO, 1992). A alta radiação causa o desenvolvimento maior do mesofilo e tecidos paliçádicos, resultando em folhas mais espessas (BOARDMAN, 1977; BARREIRO, 1992). BOARDMAN (1977), também observou que existem menos cloroplastos em seções transversais de folhas sombreadas, porém são geralmente maiores e contém mais clorofila. Folhas crescidas em baixa radiação tem mais clorofila por unidade de peso ou de volume foliar, porém o conteúdo de clorofila por unidade de superfície foliar é menor do que aquele das folhas crescidas em radiações maiores. A proporção de clorofila b/a aumenta à medida que diminui a radiação e a relação carotenóides/clorofila.

Tanto a qualidade como a quantidade de luz, são importantes nas reações das plantas ao sombreamento (SMITH, 1982). A percepção diferencial da Luz Vermelha/Vermelha-escura (V: VE ou R: FR) é importante na adaptação à sombra. Várias plântulas herbáceas, quando cultivadas em fontes de luz com radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante, porém variando V:VE, mostram respostas acentuadas aos valores baixos V:VE. Há analogia com àquelas que evitam sombra. Assim, luz normal com baixo V:VE causa os seguintes efeitos: a) aumento do pecíolo, b) redução da área foliar, c) aumento da matéria seca do caule, d) redução da formação de ramos, e e) alteração na composição de clorofila e a atividade da redutase do nitrato. A resposta mais marcante ao baixo V:Ve é acentuada e muitas vezes aumenta o alongamento do caule (CROOSKSTON, 1975).

Muitos dos processos do desenvolvimento que ocorrem como resultados dos estímulos da luz são dependentes, pelo menos em parte, da ação de fitohormônios. Por exemplo, a luz altera o nível de AIA (ácido 3-indol-acético) (BANDURSKI et al., 1997; JONES et al., 1991; BEHRINGER e DAVIES, 1992), GAs (giberelinas) (ROSS et al., 1992; FOSTES e MORGAN, 1995), ABA (ácido abscísico) (WEATHERWAX et al., 1996), citocininas (QAMURUDDIN e TILLBERG et al., 1989; KRAEPIEL et al., 1995) e etileno (KATHIRESAN, et al., 1996).

LI et al. (1996) destacaram em plantas de *Salvia officinalis* crescidas, com 45% da luz solar, altas concentrações de óleo essencial contendo mais “thujanone” e menor acumulação de cânfora, em comparação com óleo essencial de sálvia crescida em outras intensidades luminosas. Constataram, também, muito óleo essencial, com altas concentrações de timol e “myrcene”, em plantas de *Tymus vulgaris* crescidas em ambiente com 100% de luz solar. Percebeu-se que a produção de óleo essencial não estava associada

ao crescimento das plantas, mas, à atividade de enzimas catalíticas na síntese de monoterpenos.

O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito de intensidades de radiação no crescimento das plantas e nas concentrações de nitrogênio, fósforo e potássio e na produção de tanino no tecido foliar de *S. trilobata*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *S. trilobata* foram obtidas a partir de mudas cedidas pelo Grupo Entre-Folhas (UFV). As mudas foram enraizadas em bandejas de plástico, preenchidas com terra/areia. Após 30 dias, essas plantas foram transplantadas em vasos de seis litros, preenchidos com substrato constituído por solo:areia:esterco bovino curtido, na proporção 3:1:2. O experimento foi iniciado após enraizamento, aos 30 dias, quando as plantas tinham, em média, 10 cm de altura e de 3 a 4 pares de folhas. A irrigação até essa data foi diária, de acordo com necessidade.

3.1. Instalação do experimento e análise estatística

O experimento foi conduzido na casa de vegetação (descrita no capítulo anterior), em área do Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa, no período de 17-07-2001 a 03-12-2001. Em dias que não havia nuvens, a pleno sol, a radiação solar foi de $1800 \mu \text{ mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

O experimento foi instalado segundo o esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os níveis de radiação solar e nas subparcelas as épocas de coleta dos dados no delineamento inteiramente ao acaso, com duas repetições. Uma vez por semana os vasos foram revezados aleatoriamente nas bancadas. As tabelas das análises de variâncias encontram-se nas Tabelas (11A e 12A), no apêndice. Independente da interação ser significativa, ou não, foi feito estudo de regressão. Os modelos de ajuste adotados basearam-se na significância dos coeficientes da superfície de resposta; no teste de t, a

5% de probabilidade; no coeficiente de determinação e no fenômeno em estudo. Fez-se análise de correlação entre todas as variáveis de crescimento e concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio e tanino entre si. As análises foram feitas utilizando-se o programa SAEG 5,0 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas).

3.2. Tratamentos

Os tratamentos constituíram-se da combinação de três níveis de radiação e quatro épocas de amostragem (ciclo das plantas). Os níveis de radiação solar 1) 100%, 2) 52% e 3) 34% da radiação incidente dentro da casa de vegetação. As datas de amostragem ou colheita (ciclo das plantas) foram determinadas a partir do início do plantio das mudas nos vasos. Esse dia foi considerado, portanto como dia zero. As colheitas da parte aérea das plantas foram iniciadas 30 dias após essa data, sendo realizadas aos 30, 60, 90 e 120 dias. Em cada data de avaliação, foram colhidas 5 plantas por parcelas. As coletas foram feitas manualmente, cortando-se o caule rente as bordas do vaso com tesoura de poda, sempre no horário compreendido entre 7:00 e 11:00 horas. As plantas, logo que colhidas, foram colocadas separadamente em sacos de papel pardo, previamente identificado. Imediatamente as plantas foram pesadas, determinando-se a massa da matéria fresca sendo levadas à sala de secagem onde desidrataram a temperatura ambiente (25 °C) e umidade mantida em torno de 50%, por meio de desumidificador, durante uma semana. Após o período de secagem, determinou-se a massa da matéria seca. Preferiu-se secar todas as plantas nessas condições, ao invés de seca-las em estufa, onde poderia haver degradação térmica do princípio ativo das plantas.

Nas quatro épocas de coleta, foram avaliados: o crescimento por meio de medidas de comprimento dos ramos, massa da matéria fresca e seca de caule e folhas das plantas, além da massa da matéria fresca e seca da raiz na última avaliação. Em cada época foi determinada a concentração de nitrogênio, fósforo, potássio e tanino, nas folhas.

3.3. Análise quantitativa de tanino

O método de análise utilizado foi o espectrofotométrico Método Oficial de Análise da Association of Agricultural Chemist (AOAC, 1970), e as análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Mineral do Departamento de Fitotecnia UFV.

A) Extração de tanino (fenóis totais)

Cem mg da planta desidratada triturada em pó foram submetidos a três extrações consecutivas. Cada extração foi realizada com 3 mL de metanol a quente (55 °C), em frascos de 10 mL com duração de dez minutos. Após a extração, os extratos foram pipetados e filtrados com algodão sendo transferidos em frascos de 50 mL completando o volume até 10 mL, com metanol.

B) Preparação da curva-padrão

Na preparação da curva-padrão, foram adicionados em tubos de ensaio de 15 mL: solução-padrão de ácido tânico (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 mL), 7,5 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente de Folin-Denis e 1,0 mL de solução saturada de Na₂CO₃, diluindo-se a 10 mL com água. Após homogeneização e repouso da mistura por 30 minutos, foi determinada a absorbância em 760 nm, obtendo-se a curva-padrão com a absorbância em função de mg de ácido tânico/ 100mL. A concentração do ácido tânico na solução padrão foi de 25 mg ácido tânico/250 mL água.

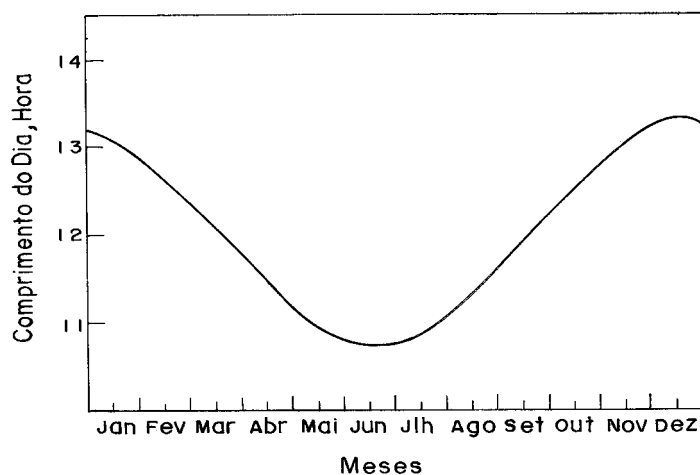


Figura 1. Evolução do comprimento do dia em Viçosa-MG.

C) Leitura em espectrofotômetro

As leituras foram feitas em espectrofotômetro de duplo feixe Hitachi U-2000, sendo realizada uma leitura por amostra. Na preparação da amostra destinada a leitura de absorbância, adicionou-se 7,5 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente Folin-Denis

e 1 mL de solução saturada de carbonato de sódio à 0,2 mL de extrato, completando-se a solução para 10 mL. Após 30 minutos em repouso, realizou-se a leitura de absorvância em 760 nm (de acordo com a curva-padrão). A concentração das amostras foi determinada em mg de ácido tânico/100 mL. Com esses valores, posteriormente calculou-se a percentagem de tanino por 100 mg de amostra de planta desidratada, unidade esta adotada na análise de variância. O modo de preparo dos reagentes encontra-se no Apêndice Tabela 8A.

Tabela 2. Características químicas do solo utilizado no experimento sobre o efeito da radiação no crescimento e rendimento de tanino em *Sphagneticola triloba* (L.) Pruski. Viçosa MG, 2003

pH	P	K	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺ + Al ³⁺
H ₂ O	-----mg/dm ³ -----			-----cmol _c /dm ³ -----			
4,92	8	468	72	1,13	0,83	0,2	2,10
	SB	CTC (t)	CTC (T)	V (%)	m (%)		
	-----cmol _c /dm ³ -----						
	3,14	3,31	5,21	60	5		

1. P e K: Extrator Mehlich.
2. H + Al: Extrator acetato de cálcio 0,5 mol/L, pH 7,0.
3. Al, Ca e Mg: Extrator KCl – 1mol/L.
4. SB = Soma de bases trocáveis.
5. CTC_t = Capacidade de troca catiônica efetiva.
6. CTC_T = Capacidade de troca catiônica em pH 7,0.
7. V = Índice de saturação de bases.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise de crescimento

O aumento da massa da matéria seca de folhas (MSF) foi linearmente crescente com o aumento dos níveis de radiação, mantendo-se a época de avaliação constante. Aos 30 dias a MSF foi 3,44g, 3,95g e 5,31g com 34%, 52% e 100% de radiação respectivamente. A diferença de MSF entre 100 % e 34 % de luz foi 54%. Aos 120 dias, esta diferença de MSF foi 18 %, passando de 10g, 14g a 12g nos níveis de radiação de 100%, 54% e 34% respectivamente (Figura 2).

A matéria seca no caule aos 30 dias passou de 1,29g a 2,88g de 34% a 100 % de radiação, sendo 123% este aumento. Aos 60 dias, este aumento foi 38%, passando de 1,61g a 2,23g na mesma variação da radiação. Aos 90 e 120 dias, houve redução no aumento da MSF de caule, quando o nível de radiação aumentou de 34% até 100% (Figura 3). Assim a sensibilidade do crescimento da espécie à radiação luminosa é variável com a idade da planta.

CARVALHO (2001), relata que a redução da radiação nas plantas de *Tanacetum parthenium*, por meio de sombreamento, não alterou significativamente o acúmulo de matéria fresca e seca. Respostas contrárias foram obtidas neste ensaio, possivelmente devido a maior adaptação de *Sphagneticola trilobata* a estas condições.

SOUZA (1998) e MARENCO e REIS (1998), verificaram redução no acúmulo de MSF em função do nível de radiação, respectivamente em plantas de *Plantago major* e *Ischaemum rugosum*.

$$\hat{y} = 34,88 - 0,06083^{NS}E + 0,0009019^{**}E^2 + 0,02834^{NS}L - 0,0004263^0 ExL \quad r^2 = 0,9228^{**}$$

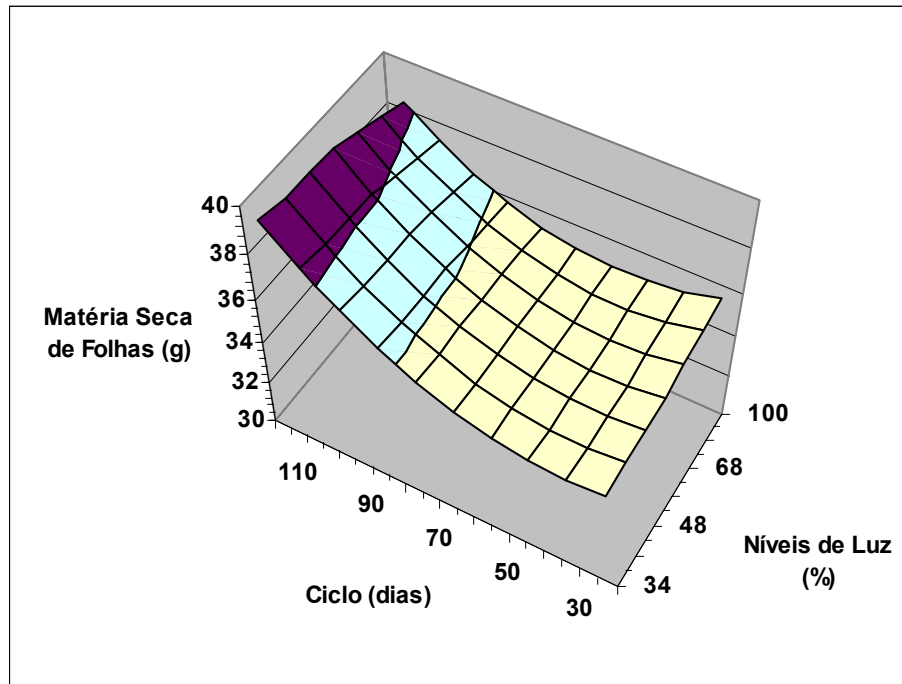


Figura 2. Efeito dos níveis de luz e ciclo na quantidade em gramas de matéria seca de folhas de *S. trilobata*. UFV, Viçosa-MG, 2001.

$$\hat{y} = 0,767 - 0,02797^{NS}E + 0,0006102^{**}E^2 + 0,03868^*L - 0,0004866^* ExL \quad r^2 = 0,9340^{**}$$

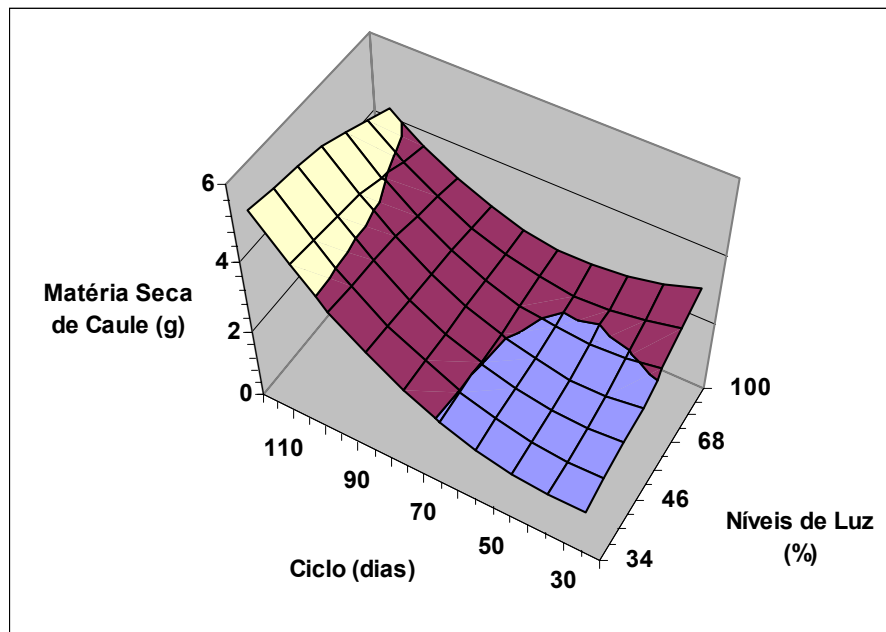


Figura 3. Efeito dos níveis de luz e ciclo na quantidade em gramas de matéria seca de caule de *S. trilobata*. UFV, Viçosa-MG, 2001.

Segundo TEI et al. (1996), o acúmulo de matéria seca resulta da radiação fotosinteticamente ativa absorvida pela folhas, da eficiência média de converção da radiação absorvida em matéria seca e da partição. Assim, em *Sphagneticola trilobata* o aumento do nível de radiação aumentou a MSF.

LI et al. (1996) relatam que em *Salvia officinalis*, a altura e comprimento dos internódios aumentaram quando o nível de luz decresceu. O comprimento e massa das folhas foram mais altos em plantas cultivadas em 100% de luz. O aumento no comprimento dos internódios de *Thymus vulgaris* sob baixas condições de luz foi similar aquele de *Salvia officinalis*.

HALVA et al. (1992b) notaram que em endro a produção de ervas estava diretamente associada com a produção de biomassa e desta forma com fotossíntese. Isto porque a produção de erva aumentou com o aumento no nível de luz.

4.2. Análise das concentrações foliares de nitrogênio, fósforo e potássio

As Figuras 4, 5 e 6 com as respectivas equações de regressão ilustram as concentrações de nitrogênio, fósforo e potássio em função do ciclo. O N e K (Figuras 4 e 6) observa-se redução linear das concentrações no tecido foliar quando a avaliação passou dos 30 a 120 dias de cultivo. O P no tecido foliar teve aumento linear no mesmo período de avaliação (Figuras 5).

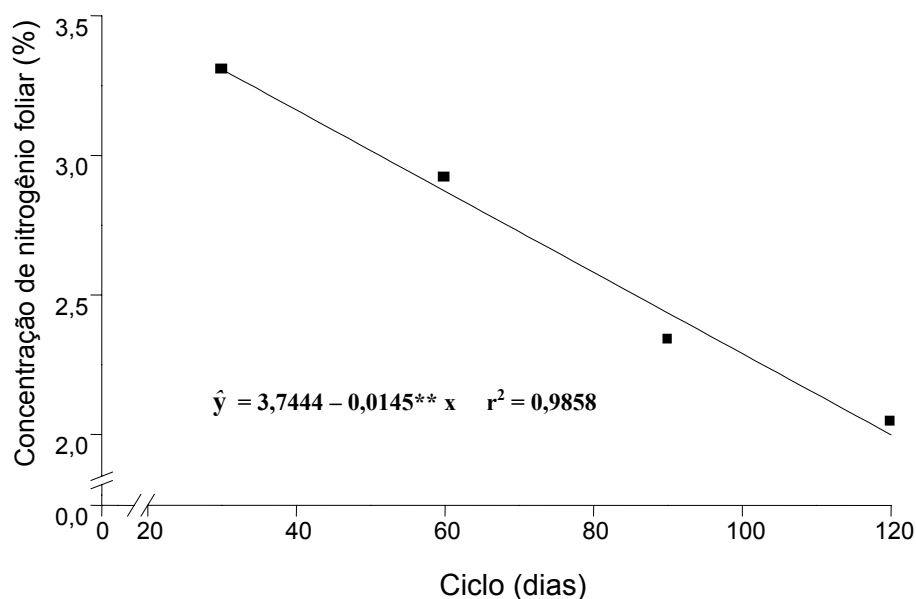


Figura 4. Concentração de nitrogênio nas folhas de *S. trilobata* em função do ciclo. UFV, Viçosa-MG, 2001.

A concentração de nitrogênio (Figura 4) no tecido foliar aos 30 dias foi 3,3%, passando a 2,0% aos 120 dias.

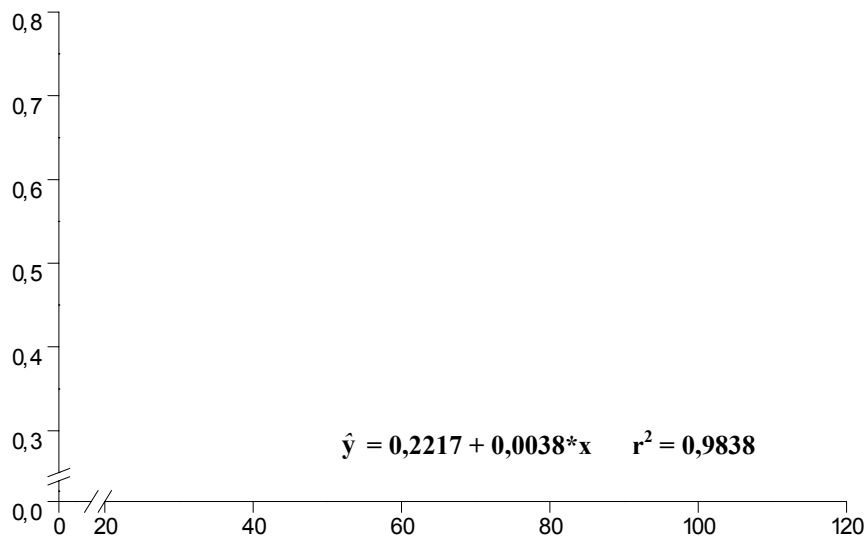


Figura 5. Concentração de fósforo nas folhas de *S. trilobata* em função do ciclo. UFV, Viçosa-MG, 2001.

Com relação ao fósforo (Figura 5), a concentração no tecido foliar aumentou de 0,33% até 0,68% entre 30 a 120 dias respectivamente. Este aumento significa 108,00%.

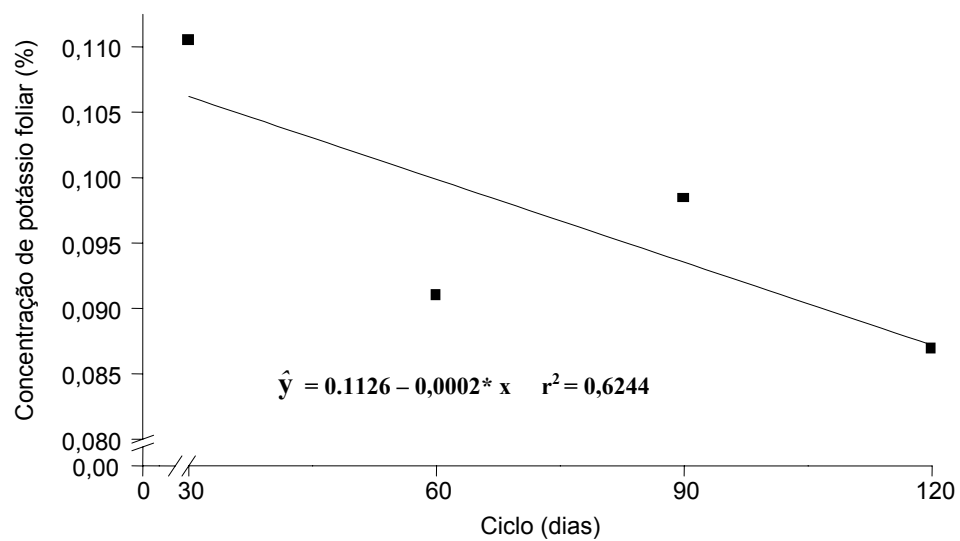


Figura 6. Concentração de potássio nas folhas de *S. trilobata* em função do ciclo. UFV, Viçosa-MG, 2001.

A concentração de potássio (Figura 6) no tecido foliar de *S. trilobata*, semelhante ao nitrogênio, foi se reduzido nos sucessivos períodos de cultivo. Aos 30 dias, a análise foliar detectou a presença de 0,11%, sendo reduzindo a 0,09% aos 120 dias. Esta redução na concentração de potássio foliar foi 22,00%.

4.3. Análise da concentração de tanino

A Figura 7 ilustra a concentração tanino em função do ciclo. A concentração de tanino, em *S. trilobata* aos 30 dias foliar era 1,09%, aumentando em 77,0% aos 120 dias, passando a 1,93%.

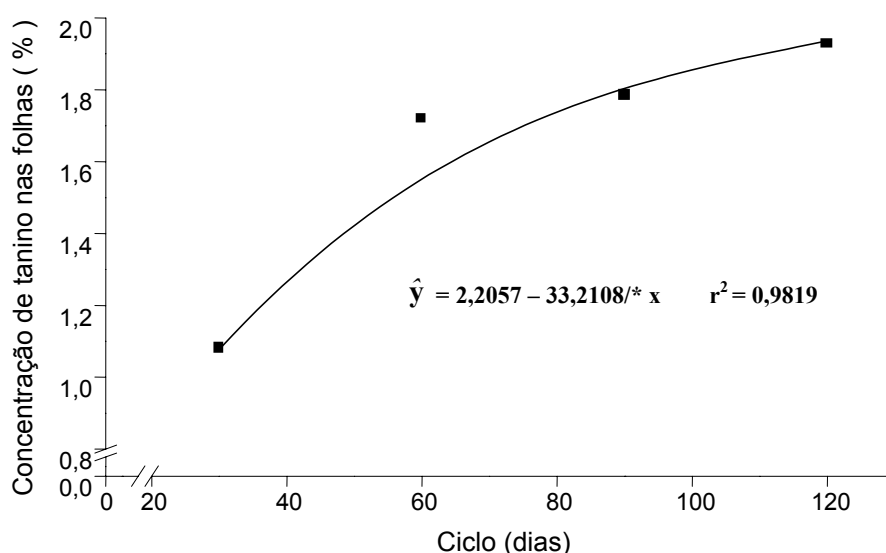


Figura 7. Concentração de tanino nas folhas de *S. trilobata* em função do ciclo. UFV, Viçosa-MG, 2001.

4.4. Análise de correlação

Na Tabela 4 encontra-se e as estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson do experimento o efeito da radiação no crescimento e rendimento de tanino em *Sphagneticola triloba* (L.) Pruski. Nesta análise correlacionaram-se entre si todas as variáveis de crescimento massa da matéria fresca e seca da folha e caule (MFF, MSF, MFC e MSC) e comprimento de ramos (CR) e as concentrações foliares de nitrogênio, fósforo, potássio e tanino

Tabela 4. Estimativas dos coeficientes de correlação das concentrações foliares de nitrogênio, fósforo, potássio e tanino e as variáveis de crescimento MFF, MSF, MFC, MSC e CR, entre si em função dos níveis de adubação orgânica e ciclo (24 observações)

Variável	Variável	Correlação
Nitrogênio	Fósforo	-0,67**
Nitrogênio	Potássio	0,87**
Nitrogênio	MFF	-0,45*
Nitrogênio	MSF	-0,57**
Nitrogênio	MFC	-0,51**
Nitrogênio	MSC	-0,60**
Nitrogênio	CR	-0,49**
Nitrogênio	Tanino	-0,81**
Fósforo	Potássio	-0,71**
Fósforo	MFF	0,38*
Fósforo	MSF	0,47*
Fósforo	MFC	0,34*
Fósforo	MSC	0,43*
Fósforo	CR	0,41*
Fósforo	Tanino	0,59**
Potássio	MFF	-0,21 ^{NS}
Potássio	MSF	-0,36*
Potássio	MFC	-0,24 ^{NS}
Potássio	MSC	-0,38*
Potássio	CR	-0,29 ^{NS}
Potássio	Tanino	-0,88**
MFF	MSF	0,94**
MFF	MFC	0,97**
MFF	MSC	0,90**
MFF	CR	0,85**
MFF	Tanino	0,03 ^{NS}
MSF	MSC	0,96**
MSF	CR	0,83**
MSF	Tanino	0,17 ^{NS}
MFC	MSC	0,95**
MFC	CR	0,85**
MFC	Tanino	0,10 ^{NS}
MSC	CR	0,78**
MSC	Tanino	0,19 ^{NS}
CR	Tanino	0,15 ^{NS}

** , * , ^{NS} , significativa a 1%, 5% e não significativo a 5% pelo teste de T.

Pela Tabela 4, observa-se alta correlação negativa entre nitrogênio e matéria seca de folha e caule. Isto indica que a redução das concentrações foliares de nitrogênio concorre no aumento da MSF e MSC respectivamente. As concentrações foliares de fósforo e potássio tiveram baixa correlação com a MSF, MSC e CR.

Em relação ao tanino, as concentrações foliares de nitrogênio, fósforo e potássio tiveram alta correlação. Sendo que nitrogênio e potássio correlacionaram-se negativamente, ou seja, com o aumento dos mesmos no tecido foliar as concentrações de tanino reduziram-se. As concentrações foliares de fósforo correlacionaram-se positivamente com as concentrações de tanino no tecido foliar.

5. CONCLUSÕES

O aumento de radiação reduziu a matéria fresca e seca de folhas e caule com redução do número de ramos e internódios de *S. trilobata*. Níveis de radiação de 34%, 52% e 100% não afetaram as concentrações foliares de nitrogênio, fósforo, potássio e tanino. As concentrações de nitrogênio e potássio só foram reduzidas em função do período de cultivo. As concentrações foliares de nitrogênio e potássio reduziram-se de 65,0% a 22,0% entre 30 e 120 dias; tanino e fósforo aumentaram suas concentrações dos 30 aos 120 dias.

LITERATURA CITADA

ARNIM, A.V.; DENG, X.W. Light control of seedling development. **Annual Review Plant Molecular Biology**, v.47, p.215-243, 1996.

ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMIST – A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 11 ed. Washington, D.C.: 1970. 1015p.

BANDURSKI, R.S.; SCHULZE, A.; COHEN, J.D. Photoregulation of the ratio of ester to free indole-3-acetic acid. **Biochem Biophys Res Commun**, v.79, p.1219-1223, 1997.

BARREIRO, R. Regulation of the photosynthetic capacity of primary bean leaves by the red:far red ratio and photosynthetic photon flux density of incident light. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v.85, p.97-101, 1992.

BEGGS, C.J.; WELLMANN, E.; GRISEBACH, H.; KENDRICK, R.E.; KRONENBERG, G.H.M. (Ed.). **Photomorphogenesis in plants**. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, p.467-499, 1986.

BEHRINGER, F.J.; DAVIES, P.J. Indole-3-acetic acid levels after phytochrome-mediated changes in the stem elongation rate of dark-and light-grown *Pisum* seedling. **Planta**, v.188, p.85-92, 1992.

BOARDMAN, N.K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, California, v.28, p.355-377, 1977.

CARVALHO, L.M. **Efeito da disponibilidade de umidade, da intensidade luminosa e da homeopatia no crescimento e conteúdo de partenolídeo de plantas de artemísia (*Tanacetum parthenium*)**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 50p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. 2001.

- CROOKSTON, R.K. et al. Response of beans to shading. **Crop. Sci.**, v.15, may-june, p.412-416, 1975.
- FOSTER, K.R.; MORGAN, P.W. Genetic regulation of development in *Sorghum bicolor*. IX the ma₃^R allele disrupts diurnal control of gibberellin biosynthesis. **Plant Physiol**, v.108, p.337-343, 1995.
- GABA, V., BLACK, M. The control of cell growth by light. In: **Encyclopedia of Plant Physiology**. New York: Springer-Verlag, 1983. p.359-400. v.16A.
- HALVA, S.; CRAKER, L.E.; SIMON, J.E.; CHARLES, D.J. Light quality, growth and essential oil in dill (*Anethum graveolens* L.). **J. Herbs, Spices and Med. Plants**. v.1, p.59-69, 1992b.
- JONES, A.M.; COCHRAN, D.S.; LAMERSON, P.M.; EVANS, M.L.; COHEN, J.D. Red light-regulated growth. I. Changes in the abundance of indoleacetic acid and a 22-kilodalton auxin-binding protein in maize mesocotyl. **Plant Physiol**, v.97, p.352-358, 1991.
- KAMADA, H.; TACHIKAWA, Y.; SAITOU, T.; HARADA, H. Effects of light and growth regulators on adventitious bud formation in horseradish (*Armoracia rusticana*). **Plant Cell Reports**, Berlin, n.14, p.611-615, 1995.
- KATHIRESAN, A.; REID, D.M.; CHINNAPPA, C.C. Light and temperature-entrained circadian regulation of actin and mRNA accumulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase in *Stellaria longipes*. **Planta**, v.199, p.329-335, 1996.
- KENDRICK, R.E.; KRONENBERG, G.H.M., eds **Photomorphogenesis in Plants**. 2. ed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1994.
- KRAEPILL, Y.; MARREC, K.; SOTTA, B.; CABOCHE, M.; MIGINIAC, E. In vitro morphogenic characteristics of phytochrome mutants in *Nicotiana plumbaginifolia* are modified and correlated to high indole-3-acetic acid levels. **Planta**, v.197, p.142-146, 1995.
- LI, Y.L.; CRACKER, L.E.; POTTER, T. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and Thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, Leuven, v.426, p.419-427, 1996.
- MORELLI, G.; RUBERTI, I. Shade avoidance responses. Driving auxin along. Lateral Routes. **Plant Physiology**, v.122, p.621-626, 2000.
- QAMURUDDIN, M.; TILLBERG, E. Rapid effects of red light on the isopentenyladenosine content in Scots pine seeds. **Plant Physiol**, v.91, p.5-8, 1989.
- ROSS, J.J.; WILLIS, C.L.; GASKIN, P.; REID, J.B. Shoot elongation in *Lathyrus elongatus* L.: gibberellins levels in light and dark-grown tall and dwarf seedlings. **Planta**, v.187, p.10-13, 1992.

SMITH, H. Light quality, photoperception, and plant strategy, **Annual Review of Plant Physiology**, California, v33, p.481-518, 1982.

SMITH, H. Physiological and ecological function within the phytochrome family. **Annual Review Plant Molecular Biology**, v.46, p.289-315, 1995.

SOUZA, M.M. **Crescimento e metabolismo secundário em duas condições de luminosidade e cultura *in vitro* de *Plantago major* L.** Viçosa, MG: UFV, 1998. 50p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. 1998.

TEI, F.; SCAIFE, A.; AIKMAN, D.P. Growth of lettuce. Onion and red beet. 1. Growth analysis. Light interception, and radiation use efficiency. **Annals of Botany**, v.78, p.633-643, 1996.

WEATHERWAX, S.C.; ONG, M.S.; DEGENHART, J.; BRAY, E.A.; TOBIN, E.M. The interaction of light and abscisic acid in the regulation of plant gene expression. **Plant Physiol**, v.111, p.363-370, 1996.

CAPÍTULO 4

EFEITO DA LUZ UV-B NO CRESCIMENTO DE PLANTAS E NA PRODUÇÃO DE TANINO EM *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

1. INTRODUÇÃO

Diversas hipóteses ecológicas, que explicam a estratégia adaptativa das plantas sugerem que a produção de metabólitos secundários está relacionada ao processo de crescimento e diferenciação das plantas regulado pelas disponibilidades de recursos ambientais (HERMES e MATTSOU, 1992; KORICHEVA et al., 1998). A alocação do carbono no crescimento ou diferenciação, pela competição por algum recurso interno de disponibilidade limitada, diminuirá a alocação do carbono no metabolismo secundário. Processos de diferenciação são, entretanto, pré-requisito no desenvolvimento total do metabolismo secundário porque produz tecidos e células nas quais os produtos secundários são formados, assim como, enzimas biossintéticas correspondentes (STRACK, 1997). Nas plantas, a alocação do carbono no metabolismo secundário tem sido mostrada determinante na disponibilidade de recursos (nutrientes, luz, concentração de CO₂) e pelo específico fatores estresse (seca, poluição do ar, UV-B radiação).

O aumento da concentração de CO₂ no ar promove o crescimento e acelera processos fisiológicos em plantas jovens porque causam aumento da disponibilidade do

carbono interno e mudanças na partição dos assimilados, metabólitos primários e secundários entre as partes da planta (raiz, caule e folhas). Também, o aumento na radiação do UV-B pode causar mudanças na alocação de carbono, uma vez que tem sido mostrado decréscimo na produção de biomassa e alteração na morfologia de plantas (SULLIVAN, 1997).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Desde os anos 70 é conhecido que a atividade humana está causando a quebra da camada de ozônio (O₃) da estratosfera. A diminuição da camada de ozônio da estratosfera causa aumento da radiação UV-B que atinge a biosfera. Esta mudança é proveniente da atividade humana que libera clorofluorcarbono ou outros antagonistas do ozônio resultando na sua diminuição. Este conhecimento tem provocado pesquisas sobre os possíveis efeitos da exposição dos organismos ao aumento da radiação do UV-B (280-315 nm). As pesquisas mostram que a exposição nesta radiação causa danos ao DNA e outras macromoléculas assim como no aparato fotossintético. Nas plantas crescidas em condições de campo no habitat natural o UV-B pode causar mudanças na morfologia e no metabolismo secundário.

Durante os primeiros estádios da evolução das plantas terrestres, algo em torno de 471×10^6 anos antes de Cristo, a concentração do ozônio na estratosfera era mais baixa que atualmente. Portanto, no primeiro estágio da vida das plantas terrestres foi confrontado com alto nível de radiação UV-B.

Visando evitar danos do UV-B, as plantas desenvolveram anteparo que consiste de compostos que absorvem UV-B dentro dos tecidos. Compostos fenólicos são os principais constituintes do anteparo ao UV-B em plantas terrestres, variando de ácidos fenólicos, em algas terrestres, aos flavonóides complexos das plantas vasculares. Em líquens apenas ácidos fenólicos estão presentes e em musgos 40-50% das espécies contem flavonóides. Estes anteparos de compostos fenólicos complexos avançaram rumo a adaptação durante a evolução, ou seja, das algas às plantas vasculares. Em

muitas espécies há relatos que o alto nível de UV-B induz aumento na síntese destes compostos que absorvem a radiação UV-B.

Em adição à capacidade de absorver UV-B, muitos destes fenólicos são multifuncionais e podem também atuar como agente antifungo e antiherbívoro. Podem atuar também como mensageiros na interação planta-ambiente (STAAIJ et al., 2002).

STAAIJ et al.(2002), analisaram o efeito do UV-B na síntese de flavonóides em três espécies de gramíneas e uma Ciperaceae. Quanto a morfologia e sistemática, as gramíneas e Ciperaceae estão estreitamente relacionadas e os flavonóides são comuns nessas espécies. Uma vez que estas espécies desenvolveram-se nos estádios posteriores da evolução das plantas, pode-se esperar que flavonóides são importantes como compostos de absorção do UV-B, quando comparado a líquens e musgos. STAAIJ et al.(2002) estudaram espécies originárias de locais com várias intensidades naturais de UV-B. Se espécies são adaptadas ao nível de UV-B elas podem desenvolver diferenças na capacidade de síntese de flavonóides diante do aumento da radiação ultravioleta.

Compostos flavonóides que absorvem luz são do grupo de metabólitos secundários aromáticos derivados da fenilalanina responsáveis pela proteção das plantas contra os efeitos deletérios da radiação UV-B. A provável ação decorre dos flavonóides acumularem nas células epidérmicas das folhas, onde podem proteger o interior da camada das células dos danos do UV-B. Além disso, a síntese destes compostos é induzida pelo UV-B em varias espécies o que é típico das respostas adaptativas. As plantas que crescem e tem induzida a síntese de flavonóides são mais tolerantes a radiação UV-B. Entretanto, outras condições ambientais que induzem a síntese de flavonóides, tal como limitação de nutrientes ou pré-tratamento com alta intensidade de luz branca, causam múltiplos efeitos fisiológicos e alterações no desenvolvimento (GOTTLIEB et al., 1996).

A radiação solar do UV-B estimula as enzimas PAL (fenilalanina-amônia-liase) e CHS (chalcona sintase) e outras enzimas da rota dos fenilpropanóides. A PAL catalisa a transformação de fenilalanina em ácido cinâmico trans, o qual conduz a formação de compostos fenólicos complexos tais como flavonóides, taninos e lignina. A evolução química destes compostos que absorvem UV-B exerceu importante papel na evolução das plantas aquáticas em direção as terrestres. A complexidade dos polifenóis tende a aumentar com a evolução de algas comuns às algas clorofíceas às briófitas as pteridófitas, à gymnospermas e às angiospermas. O alto grau de polimerização dos fenólicos é encontrado em plantas terrestres, como nos flavonóides, taninos, ligninas.

Em adição à absorção do UV-B estes compostos polifenólicos tem outras funções como alelopatia, sinal de transdução, hormônios de plantas, defesa química contra microrganismos, contra herbívoros e na estrutura de rigidez. A rigidez estrutural da lignina em plantas superiores viabiliza o transporte da água pelos vasos do xilema (ROZEMA et al., 2002).

A radiação fotossinteticamente ativa penetra efetivamente dentro do tecido do mesofilo sendo atenuada em 20 a 30% quando passa pela epiderme de algumas folhas. Os cloroplastos assim como o núcleo são as organelas sujeitas aos primeiros danos da radiação. A radiação é seletivamente filtrada removendo-se o componente do comprimento de onda curta do ultravioleta, antes de atingir os cloroplastos. Ao mesmo tempo o comprimento de onda de 400 a 700 nm é efetivamente utilizado pelo sistema fotossintético. O filtro seletivo nas folhas das plantas pode ser diferente em muitas plantas podendo haver redução na capacidade fotossintética assim como dano no ácido nucléico devido a UV-B. Este filtro seletivo é imperfeito e danos no sistema fotossintético das folhas de muitas plantas podem acontecer. Algumas radiações fotossinteticamente ativas (UV-A, violeta e azul) podem ser absorvidas pela epiderme (CALDWELL et al., 1983).

A orientação das folhas tem pouca influencia na radiação UV-B total (feixes diretos + difusos) que atinge a superfície foliar. O componente difuso, que tende a ser isotrópico, é majoritário na radiação UV-B. Pelo menos 90% da radiação ultravioleta B que atinge a superfície foliar da planta é atenuada antes de atingir o tecido do mesofilo e muito pouca radiação deste comprimento de onda penetra completamente pelo tecido no mesofilo.

Compostos que absorvem ultravioleta tal como flavonóides podem ocorrer dentro de organelas específicas como nos cloroplastos. Há compostos flavonóides e derivados fenólicos incorporados dentro da membrana cuticular ou na parede celular. Há pouca absorção do UV-B nestas estruturas uma vez que lipídeos e celulose têm pouca absorção do ultravioleta. Pode ser substancial a atenuação do UV-B nestas estruturas. Não há correlação entre espessura da epiderme e transmitância do UV-B.

A diversidade dos flavonóides nas plantas varia em função de: a) espécies, b) estágio de desenvolvimento e c) entre os tecidos da epiderme e do mesofilo da mesma folha. O conteúdo e a composição dos flavonóides são alterada pelas condições ambientais. A luz ambiental exerce influência. A síntese dos flavonóides pode ser induzida pela radiação por meio do sistema de fitocromo, e em resposta a alta intensidade da luz azul, verde e vermelha. Há indução específica dos flavonóides pela radiação UV-B

(WELLMAN, 1982). O modo pelo qual a síntese dos flavonóides pode ser induzida pela luz de diferentes comprimentos de onda é dependente não apenas da espécie em consideração, mas também de fatores, como o estágio de desenvolvimento da planta. É esperado que plantas terrestres crescendo na luz, até sem o componente UV, possuem algum flavonóide. Nos primeiros dias críticos as plântulas já possuem flavonóides.

Plantas terrestres tem sua proteção contra os raios UV-B (280-315 nm) garantida por filtro molecular constituído por produto da via pós-fenilalanínica (flavonóides, fenilpropanóides), adaptado evolutivamente ao comprimento e a intensidade desta radiação (STAFFORD, 1990). Estes metabólitos especiais absorvem fortemente na região do espectro do UV-B. Enzimas envolvidas na biossíntese de flavonóides e fenilpropanóides (fenilalanina amônia liase, chalcona sintetase) são induzidas pela radiação UV-B (BRUNS et al., 1986).

Com a diminuição do ozônio (O₃) da estratosfera, o fluxo da radiação UV-B que atinge a terra pode aumentar. Tal aumento causaria sérias conseqüências, entre as quais o aumento do risco de câncer de pele (BLUMTHELER e AMBACH, 1990). Plantas ricas em compostos fenólicos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de diversas moléstias orgânicas e tem sido relatada atividade antioxidativa, antiinflamatória e vasodilatadora, ação antialérgica, atividade contra o desenvolvimento de tumores, antiulcerogênica, atuação antiplaquetária, antimicrobiana e antivirais (OLIVEIRA, 2000).

O objetivo desse ensaio foi avaliar o efeito de intensidades de radiação UV-B no crescimento das plantas e na produção de tanino no tecido foliar de *S. trilobata*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *S. trilobata* foram obtidas a partir de mudas cedidas pelo Grupo Entre-Folhas (UFV). As mudas foram enraizadas em bandejas plásticas, com solo/areia. Após 30 dias, as plantas foram transplantadas em vasos de dois litros, preenchidos com substrato constituído por solo:areia:esterco bovino curtido, na proporção de 3:2:1. O experimento foi iniciado após enraizamento quando as plantas tinham 10 cm de altura e de 3 a 4 pares de folhas. A irrigação até essa data foi diária, de acordo com a necessidade.

3.1. Instalação do experimento e análise estatística

O experimento foi conduzido na casa de vegetação, em área do Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa, no período de 10-10-2000 a 04-11-2001. O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos; 5, 10 e 15 minutos de exposição diária a luz UV-B mais a testemunha, com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por 1 vaso (uma planta por vaso), e o ciclo de 25 dias. Foram realizadas análises de variância (Tabela 13 A) e regressão (pela técnica da superfície de resposta). Os modelos de ajuste escolhidos basearam-se na significância das equações de regressão; no teste de t a 5% de probabilidade; no coeficiente de determinação e no fenômeno em estudo. A análise estatística foi feita utilizando-se o programa SAEG 5,0 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas).

As coletas foram feitas manualmente, cortando-se o caule rente as bordas do vaso com tesoura de poda, no horário compreendido entre 7:30 e 8:30 horas. As plantas, logo que colhidas, foram colocadas separadamente em sacos de papel kraft, previamente identificado. Imediatamente, as plantas foram pesadas, determinando-se a massa da matéria fresca e levadas à sala de secagem onde desidratam à temperatura ambiente e umidade mantida em torno de 50%, por meio de desumidificador durante uma semana. Após o período de secagem, determinou-se o peso da matéria seca. Preferiu-se secar todas as plantas nessas condições, ao invés de seca-las em estufa, onde poderia haver degradação térmica do princípio ativo.

Avaliou-se o crescimento por meio do comprimento dos ramos, massa da matéria fresca total da parte aérea, número de internódios e ramos, comprimento dos ramos, número de folhas pequenas, médias e grandes e matéria seca de caule e folhas das plantas.

3.2. Análise de tanino

O método de análise utilizado foi o espectrofotométrico, descrito no capítulo 2.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apenas o número de ramos, número de folhas e matéria seca do caule foram influenciados pela radiação UV-B (Figura 1, 2 e 3).

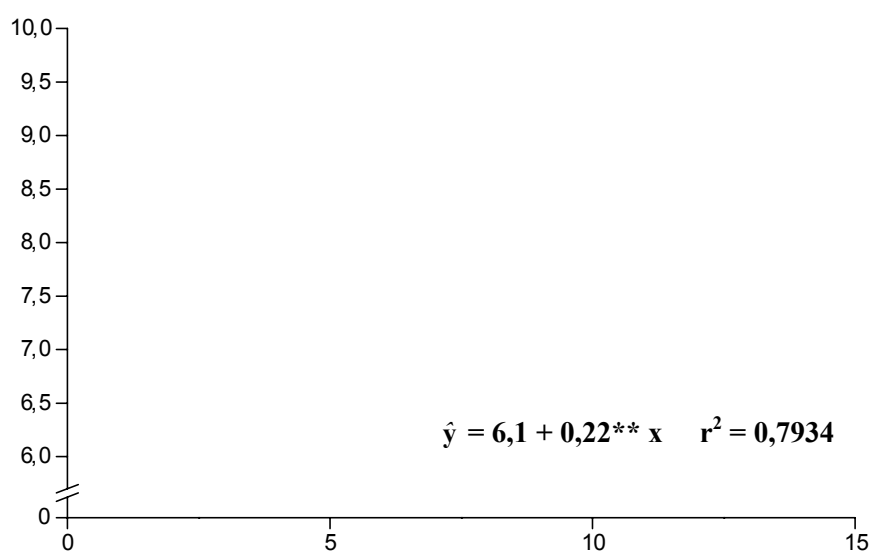


Figura 1. Número de ramos de *Sphagneticola trilobata* em função do tempo de exposição a radiação UV-B.

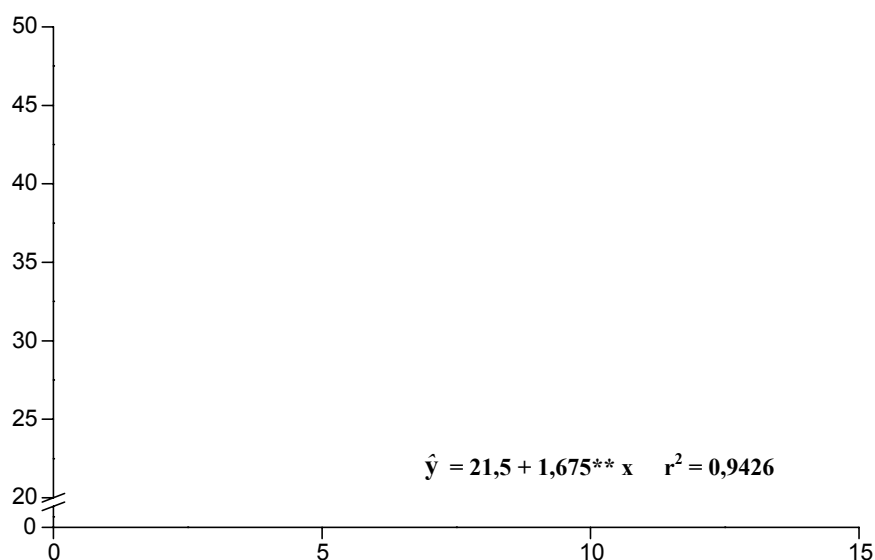


Figura 2. Número de folhas pequena de *Sphagneticola trilobata* em função do tempo de exposição a radiação UV-B.

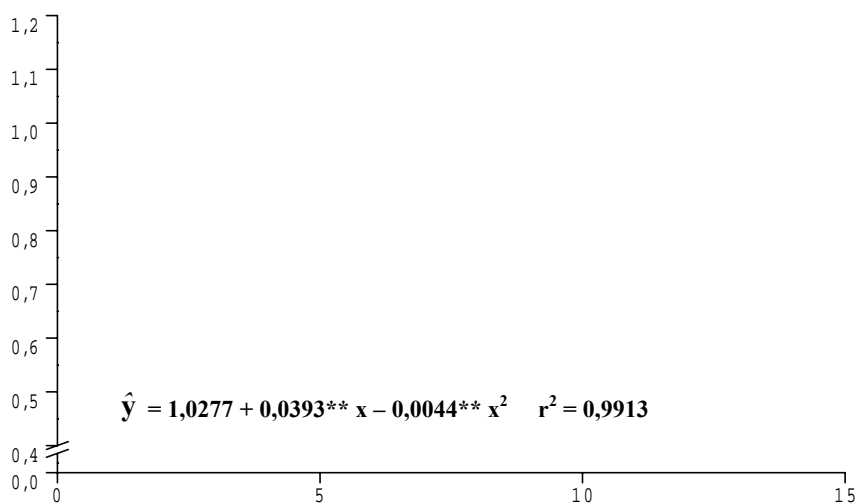


Figura 3. Matéria seca de *Sphagneticola trilobata* em função do tempo de exposição a radiação UV-B.

As variáveis, números de ramos e número de folhas pequenas (Figuras 1 e 2), tiveram comportamento linear crescente com o aumento do tempo de exposição das plantas à radiação. O número de ramos no tratamento testemunha foi 6,1 ramos e com 15 minutos de exposição diária passou a 9,4 ramos, aumentando 55%. O número de

folhas pequenas cresceu da mesma forma com o aumento do tempo de exposição à luz UV-B. No tratamento testemunha formou-se 21,5 folhas em média e no tratamento de 15 minutos de UV-B diária, o número de folhas passou a 46,62 aumentando 116,9%.

A variável matéria seca do caule, teve comportamento quadrático. O ponto (tempo de exposição) que proporcionou o máximo em grama de matéria seca acumulada do caule foi 4,46 minutos, estimados. Neste ponto, a matéria seca do caule foi 1,11g; sendo 8,46% o aumento em relação à testemunha. Qualquer exposição das plantas além deste valor (4,46 minutos), à radiação UV-B causa redução no acúmulo de matéria seca pelo caule.

LAVOLA et al. (2000) relatam que plântulas de videiro cresceram significativamente durante o período de exposição ao UV-B, aumentando a biomassa em 85% comparada ao tratamento testemunha. Também a quantidade de compostos secundários nas folhas mudou com a idade das folhas. LAVOLA et al. (2000) relatam que a radiação UV-B causou aumento na acumulação de ácido fenólico.

JORDAN (1996) e ROZEMA et al. (1997b) relatam que o UV-B induziu flavonóides que são bem conhecidos em muitas plantas.

JORDAN (1996) e COOPER-DRIVER e BHATTACHARYA (1998) suportam a proposição de que o UV-B induz em plantas apenas um ou poucos compostos específicos que são mais efetivos provendo proteção contra os efeitos da radiação UV-B.

Foi observado em *Sphagneticola trilobata* que a radiação na região do UV-B não aumentou o teor de tanino. É provável que o tanino não seja composto fenólico específico importante nesta espécie na proteção aos raios UV-B, uma vez que sob tais condições não ocorreu sua síntese. Assim, outros compostos da rota dos fenóis mais específicos podem ter sido sintetizados.

5. CONCLUSÕES

Não houve efeito significativo da exposição à luz UV-B sobre a concentração de tanino e o acúmulo de matéria seca das folhas. A luz UV-B só alterou de forma significativa o número de ramos, número de folhas pequenas e a matéria seca do caule.

LITERATURA CITADA

BLUMTHALER, M. e AMBACH, W. Indication of increasing solar ultraviolet-B radiation flux in Alpine Regions. **Science**, London, v.248, Abril, 1990.

BRUNS, B. ; HAHLBROCK, K. e SCHAFER, E. Fluence dependence of the ultraviolet-light-induced accumulation of chalcone synthase mRNA and effects of blue and far-red light in cultured parsley cells. **Planta**, Berlin, v.169, p.393-398, 1986.

CALDWELL, M.M.; ROBBERECHT, R.; FLINT, S.D. Internal filters: prospectes for UV-acclimation in higher plants. **Physiol. Plant.**, v.58, p.445-450, 1983.

COOPER-DRIVER, G.A.; BHATTACHARYA, M. Role of phenolics in plant evolution. **Phytochemistry**, v.49, p.1165-1174, 1998.

GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R. **Biodiversidade: Um Enfoque Químico-Biológico**. Rio de Janeiro: Editora UFRJ, 268p. 1996.

HERMES, D.A.; MATTSON, W.J. The dilemma of plant: To grow or defend. **Q Rev. Biol.**, v.67, p.283-335, 1992.

JORDAN, B.R. The effects of ultraviolet-B radiation on plants: A molecular perspective. **Adv. Bot. Res.**, v.22, p.97-162, 1996.

KORICHEVA, J.; LARSSON, S.; HAUKIOJA, E.; KEINANEN, M. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: Hypothesis testing by means of meta-analysis. **Oikos**, v.83, p.212-226, 1998.

LAVOLA, A. Phytochemicals of deciduous trees in relation to environmental changes. PhD Thesis, University of Joensuu. Publications in Sciences, 46. 39pp+ App. ISBN 951-708-603-2, 2000.

OLIVEIRA, T.T.; LOPES, R.M.; NAGEN, T.G.; PINTO, A.S. Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.17, p.18-22 Nov-Dez, 2000.

ROZEMA, J.; VAN DER STAAL, J.; BJORN, L.O.; CALDWELL, M. UV-B as an environmental factor in plant life: Stress and regulation. **Tree**, v.12, p.22-28. 1997b.

ROZEMA, J.; BJORN, L.O.; BORNMAN, J.F.; GABERSSEIK, A.; HADER, D.P.; TROST, T.; GERM, M.; KLISCH, M.; GRONIGER, A.; SINHA, R.P.; LEBERT, M.; HE, Y.Y.; BUFFONI-HALL, R.; BAKKER, N.V.J. STAAL, J.VAN de; MEIJKAMP, B.B. The role UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems – an experimental and functional analysis of the evolution of UV- absorbing compounds. **Journal of Photochemistry B: Biolog**, v.66, p.2-12, 2002.

STAAL, J. VAN de; BAKKER, N.V.J. de; OOSTHOEK, A.; BROEKMAN, R.; BEEM, A. VAN; STROETENGA, M.; AERTS, R.; ROZEMA, J. Flavonoid concentrations in three grass species and a sedge grown in the field and under controlled environment conditions in response to enhanced UV-B radiation. **Journal of Photochemistry B: Biolog**, v.66, p.21-29, 2002.

STRACK, D. Phenolic metabolism. In: Dey PM, Harborne JB (eds) Plant Biochemistry. Academic Press, San Diego, CA, pp. 387-416. ISBN 0-12-214674-3. 1997.

SULLIVAN, J.H. Effects of increasing UV-B radiation and atmospheric CO₂ on photosynthesis and growth: Implications for terrestrial ecosystems. **Plant Ecol.**, v.128, p.194-206, 1997.

WELLMANN, E. Regulation der Flavonoidbiosynthese durch ultraviolette Licht und Phytochrom in Zellkulturen und Keimlingen von Petersilie (*Petroselinum hortense* Hoffm.). **Ber. Dtsch Bot. Ges.** v.87, p.267-273. 1982.

CAPÍTULO 5

INFLUÊNCIA DAS EMBALAGENS E DO ARMAZENAMENTO NO CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO E NA CONCENTRAÇÃO DE TANINO DE *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

1. INTRODUÇÃO

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que em torno de 80% da população mundial utilizam-se de algum tipo de planta na busca do alívio de doença. A utilização de plantas medicinais tem inclusive recebido incentivos da própria OMS. Fatores econômicos e sociais têm colaborado no desenvolvimento de práticas de saúde que incluam plantas medicinais.

Sendo as plantas medicinais classificadas como produtos naturais, a legislação permite que sejam comercializadas livremente desde que se disponham de condições mínimas de higiene necessárias (MARTINS et al., 1994). Atualmente, observa-se a comercialização de plantas medicinais secas, sob condições higiênicas inadequadas (BACCHI, 1996).

Depois de colhidas, as plantas medicinais podem perder qualidade nas etapas sucessivas ao processamento. Entretanto, ao serem consumidas, devem estar em boas

condições de higiene. A inobservância destas condições, ocasiona a inutilização de todo lote na fase de comercialização (HERTWING, 1996).

Quando indevidamente manuseadas, corre-se o risco de afetar à saúde dos consumidores pelo fato de estarem contaminadas com fungos, por serem mal processadas ou mantidas em embalagens ou locais inadequados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Há controvérsias quanto à recomendação de se lavar as plantas medicinais como etapa anterior ao processo de secagem. Pesquisadores como TERRA (1995) e PLANTAS (1994) entendem que a lavagem das plantas antes da secagem contribuem na manutenção da qualidade do produto final. No entanto, MARTINS et al. (1994) não recomendam esta etapa no processamento de plantas medicinais.

A secagem tem como objetivo impedir a deterioração das plantas por meio da redução do teor de água, o que inativaria as enzimas alteradoras pela desidratação.

Quaisquer órgãos vegetais constituídos de folha, flor, raiz ou casca, quando recém-colhidos encontram-se com alto teor de umidade, o que aumenta as atividades das enzimas. Estas atividades compreendem oxidações, reduções, hidrólises e remoção ou adição de radicais, ou seja, alterações dos princípios ativos. Por outro lado, a redução do teor de umidade faz com que as atividades das enzimas sejam diminuídas. Quanto mais rápido o teor de umidade for reduzido menor será a perda de qualidade das plantas medicinais. Daí a necessidade de iniciar a secagem imediatamente após a colheita (MARTINS et al., 1994).

Após a secagem, a conservação das sementes, frutos, flores, folhas, caule raiz etc., dependerá da umidade residual, da embalagem e do tempo de armazenamento. Na prática, o usual é embalar quando o produto encontra-se levemente quebradiço. Outra maneira é pesar a planta ao chegar no local de secagem e nos dias consecutivos. Quando a massa for constante estará apta a ser embalada.

O teor de umidade ideal, após a secagem, nas folhas e flores deve ser 5 a 10%. Nas cascas e raízes a umidade deve situar entre 12 e 20%, em base úmida (MARTINS et al., 1994).

A temperatura e a umidade relativa do ar são os principais fatores que influenciam na qualidade fisiológica dos produtos vegetais armazenados. A umidade relativa do ar tem relação com o teor de umidade dos produtos, além de controlar a ocorrência dos processos metabólicos. A temperatura atua na velocidade dos processos bioquímicos e interfere no teor de umidade. Dessa forma, as melhores condições de manutenção da qualidade são: baixa umidade relativa do ar e baixa temperatura, porque mantém a atividade metabólica baixa (CARVALHO e NAKAGAWA, 1983; AGUIAR et al., 1993). A embalagem tem grande influência na qualidade do produto durante o armazenamento. Quando são armazenados em embalagens, se houver permuta de vapor de água com a atmosfera, os produtos armazenados podem ganhar ou perder umidade, dependendo da temperatura e pressão de vapor do meio ambiente (HARRINGTON, 1960).

O período de armazenagem deve ser o menor possível, de modo a reduzir as perdas de princípios ativos. Preferencialmente, o local deve ser escuro, arejado, seco e protegido contra o acesso de insetos, roedores ou poeira (MARTINS et al., 1994). O acondicionamento vai depender do volume e do tempo que se pretende armazenar. Maiores quantidades permitem o uso de tonéis de madeira não-aromática, que conservam o produto por muito tempo. Pequenas quantidades ficam em potes de vidro, polietileno ou polipropileno, que também permitem boa conservação por longo período. O uso de sacos de juta é recomendado nas produções maiores quando a comercialização vai ser feita em curto prazo. Em todos os casos, não deixar próximas as embalagens de espécies diferentes, principalmente as fortemente aromáticas. As embalagens não devem ser colocadas diretamente sobre o piso mas sim sobre estrados próprios ou dependuradas.

O armazenamento pode ser feito em sacos de papel kraft, fardos, vidros escuros com boca larga e tampa de cortiça, ou em pequenas caixas de papelão duro bem fechadas, colocadas em local seco e protegidas da luz e do ataque de insetos e roedores. O produto vegetal deve ser acondicionado em fragmentos grandes ou inteiras, visando retardar a decomposição do princípio ativo. A embalagem deve ser rotulada com dados de identificação da planta, local e data de coleta. O prazo de validade varia de planta a planta, no máximo por seis meses a um ano (SILVA et al., 1995).

A matéria prima a ser armazenada é previamente inspecionada quanto à presença de insetos e fungos e as inspeções devem ser frequentemente repetidas durante o armazenamento. No caso de ataque de insetos, recomenda-se a eliminação do produto pois não se aconselha o expurgo das instalações, uma vez que não há ainda agentes químicos.

O objetivo desse ensaio foi avaliar os efeitos das embalagens das condições e tempo de armazenamento no crescimento microbiológico e a concentração tanino em *S. trilobata*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Secagem das plantas

O produto seco foi obtido de plantas de *Sphagneticola trilobata* cultivada no Grupo Entre Folhas, localizado no campus da Universidade Federal de Viçosa. O plantio ocorreu no dia 07 de maio de 2001 e a colheita foi realizada 101 dias após, em 15 de agosto de 2001. Após coleta, a parte aérea das plantas foi lavada permanecendo na sombra. As folhas foram separadas dos ramos e submetidas à secagem em câmara de secagem com aparelho desumidificador, mantendo a umidade relativa do ar próxima de 48%. As folhas permaneceram nesta câmara durante 11 dias, e foram moídas.

3.2. Preparo das embalagens

Foram utilizados três tipos de embalagens: i) frasco de vidro transparente de 3 cm de diâmetro e 9 cm de altura, com tampa plástica vedada com borracha de silicone; ii) embalagens de polipropileno, dimensões de 15x18 cm, com espessura de 0,10 mm e iii) embalagens de papel metalizado opaco, dimensões de 10 x 20 cm, com espessura 6 µm (Figura 1). O produto em pó foi acondicionado nas embalagens de polipropileno selada sem vácuo. As embalagens de papel metalizados foram seladas à vácuo.

Antes do uso, as embalagens de vidro foram lavadas com água, detergente e água destilada e, em seguida, secas em estufa. As embalagens de papel metalizado e

polipropileno foram adquiridas no comércio e não foram submetidas á lavagem antes do uso.



Figura 1. Embalagens utilizadas no experimento. A) Polipropileno, B) papel metalizado e C) Vidro.

3.3. Delineamento experimental

Foi utilizado o esquema de parcela sub-dividida no delineamento inteiramente ao acaso. Nas parcelas ficaram as épocas de avaliação, nas subparcelas os tipos de embalagens, com três repetições. Vários dados tiveram valores zero, devido o não crescimento de microrganismos. Foram realizados testes Cochran e Lilliefors visando verificar as hipóteses de homogeneidade das variâncias, e normalidade e independência de erros e por esse motivo realizou-se a transformação dos dados (raiz de x). Os dados não seguiam essas pressuposições, desta forma, foi realizada apenas a análise estatística descritiva indicada pelas Tabelas de 1 a 7.

A análise estatística foi feita utilizando-se o programa SAEG 5,0 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas).

3.4. Análises realizadas no produto seco moído

3.4.1. Teor de umidade

Foi utilizada a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (PREGNOLATTO e PREGNOLATTO, 1985). Inicialmente, pesou-se a placa de petri. Em seguida, a placa destampada contendo 10 gramas da amostra vegetal foi colocada em estufa a 105 °C (estufa Fanen Modelo 002 CB) por 24 horas, quando considerou que o peso da amostra estaria constante. Após 24 horas, essa amostra foi transferida em dessecador com sílica gel por uma hora e pesada. Na determinação do teor de umidade utilizou-se o seguinte cálculo $T = (100 \times N) / A$. Sendo os dados de T expresso em resíduo seco por cento p/p da amostra. N = grama de resíduo seco e A = grama da amostra.

3.4.2. Preparo da amostra no exame microbiológico

Nas realizações das análises microbiológicas das amostras, o instrumental utilizado foi esterilizado, por calor seco, estufa a 180 °C por 2 horas, ou calor úmido em autoclave a 121 °C por 15 minutos, ou por flambagem, com bico de bunsen (MAARA, 2001). As embalagens foram desinfestadas com álcool 70% antes de serem abertas. Após a abertura todo processo de retirada da amostra e sua pesagem foram realizados próximo ao bico de busen.

Visando obter diluições sucessivas, primeiramente, preparou-se solução salina-peptonada, em cuja composição encontra-se cloreto de sódio, 8,5 g, água destilada, 100 mL, e peptona, 1 g. Depois, pesou-se 11 g de cada amostra. Em seguida, foi diluída em 99 mL da solução peptonada obtendo-se, portanto, a solução inicial correspondendo à proporcionalidade 1:10. A partir dessa primeira diluição preparou-se a segunda, com a proporcionalidade 1:100, retirando-se 11 mL da diluição inicial por 99 mL no diluente.

Após as diluições necessárias, foram pipetadas alíquotas de 0,1 mL ou 1 mL de cada diluição em placas de petri (100 x 20 mm) esterilizadas, fazendo de cada diluição placas em duplicatas (MAARA, 2001).

3.4.3. Contagem de fungos filamentosos e leveduras

Foi utilizada a metodologia proposta pelo MAARA (2001). Após realizar as diluições necessárias descritas, fundiu-se o agar DIFCO batata dextrose agar (BDA)

resfriando-o, e acrescentou-se ácido tartárico (1,4 mL de ácido para cada 100 mL de meio). Adicionou-se a cada placa 10 a 15 mL do meio, homogeneizando-se com movimento suave em forma de oito. Depois de solidificado o meio, incubou-se as placas por 5 dias em estufa a 25 °C. Os resultados foram expressos em logaritmo decimal de UFC.g⁻¹

3.4.4. Contagem de coliformes totais

Foi utilizada a metodologia proposta pelo MAARA (2001). De cada diluição, inoculou-se uma alíquota de 1 mL por placa de petri esterilizada e adicionou-se 10 a 15 mL do agar DIFCO cristal violeta-vermelho neutro-bile (VRB), previamente fundido e resfriado. Homogeneizou-se e depois de solidificado o meio, acrescentou-se mais uma camada de ágar VRB (3 a 5 mL). Solidificada essa última camada incubou-se as placas a 35-37 °C por 24 horas em estufa. Transcorridas às 24 horas foram contadas as colônias púrpuras ou vermelhas, circundadas por uma zona rosada de bile precipitada. Os resultados foram expresso em logaritmo decimal de UFC.g⁻¹

3.4.5. Contagem de bactérias aeróbias mesófilas

Foi utilizada a metodologia proposta pelo MAARA (2001). Foram pipetadas alíquotas de 1 mL de cada diluição apropriada e inoculadas em placas de petri esterilizadas. Adicionou-se a cada placa inoculada 10 a 15 mL de agar DIFCO na contagem (PCA) à temperatura de 44 a 46 °C. Homogeneizou-se com movimento suaves e logo após a solidificação do meio incubaram-se as placas a 35-37 °C por 48 horas. Os resultados foram expressos em logaritmo decimal de UFC.g⁻¹

3.4.6. Contagem de *Staphylococcus aureus*

Foi utilizada a metodologia proposta pelo MAARA (2001). Primeiramente, preparou-se a quantidade necessária de meio específico do crescimento de *S. aureus*: a cada 950 mL de ágar Baird-Parker, esterilizado e fundido à temperatura de 44 a 46 °C, acrescentou-se 3 mL de emulsão de gema de ovo (LABORCLIN, 2000). Adicionou-se, entre 10-15 mL, em cada placa a ser inoculada. Após solidificação do meio, foram inoculadas de cada diluição uma alíquota de 0,1 mL que em seguida foi espalhada com auxílio da alça de Drigalsky. As placas foram incubadas a 35-37 °C por 48 horas.

Transcorrido este tempo, foram transferidas colônias típicas, ou seja, negras, brilhantes com halo amarelo, ao caldo BHI, incubados a 35-37 °C por 24 horas.

Com o objetivo de comprovar bioquimicamente se as colônias isoladas em caldo BHI eram da espécie *Staphylococcus aureus*, utilizou-se os seguintes testes:

A) Teste da catalase

Em lâminas de vidro, previamente limpas com álcool 70%, pingou-se uma gota de peróxido de hidrogênio. Depois, retirou-se uma alça do caldo BHI e adicionou-se à peróxido de hidrogênio. O resultado é positivo para catalase quando ocorre borbulhamento. Caso contrário é negativo.

B) Teste da coagulase

Colônias de estafilococos, obtidas em meio seletivo Baird-Parker foram incubadas durante 4 e 8 h em caldo simples. Após obter-se boa turvação, inoculou-se 2-3 gotas desta cultura em 0,5 mL da suspensão recém hidratada de plasma de coelho. Cultura mais plasma de coelho foram levemente misturados no tubo, sem agitação. Os tubos foram incubados a 37 °C e observada a formação de coágulos a cada 30 minutos durante 4 h (ou até um máximo de 24 h), que caracteriza a positividade do teste (LABORCLIN, 2000).

3.4.7 Análise da concentração de tanino

O método de análise utilizado foi o espectrofotométrico Método Oficial de Análise da Association of Agricultural Chemist (AOAC, 1970), e as análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Mineral do Departamento de Fitotecnia UFV, descrita no capítulo 2.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os percentuais de umidade no produto seco obtido de folhas .

Tabela 1. Percentual de umidade e desvio padrão em extrato seco de *Sphagneticola trilobata* armazenada sob condições ambientais (20 a 25 °C) e sob refrigeração (5 °C) nas embalagens de vidro, polipropileno e papel metalizado, durante 3, 6, 9 e 12 meses

Período armazenamento	Condições ambientais 20-25 °C			Condições refrigerada 5 °C		
	vidro	polipropileno	metalizado	vidro	polipropileno	metalizado
3	10,5 ± 0,503	12,0 ± 0,200	10,9 ± 0,230	9,2 ± 0,200	10,1 ± 0,115	8,8 ± 1,039
6	10,7 ± 0,611	11,3 ± 0,462	10,7 ± 0,503	8,4 ± 1,058	9,0 ± 0,400	8,7 ± 0,115
9	11,1 ± 0,416	10,7 ± 0,115	11,1 ± 0,611	10,5 ± 0,231	10,9 ± 0,231	9,6 ± 0,346
12	14,2 ± 0,200	13,9 ± 0,643	14,4 ± 0,529	11,7 ± 1,553	12,2 ± 1,442	10,5 ± 0,702

Nas amostras do produto armazenadas sob refrigeração e acondicionadas em papel metalizado, observaram-se as menores variações no teor de umidade. Nestas embalagens, o teor de umidade que aos 3 meses de armazenamento era de 8,8% elevou-se a 9,6% e 10,5%, aos 9 e 12 meses, respectivamente. A maior alteração no teor de umidade sob refrigeração ocorreu na embalagem de polipropileno. Neste caso, o teor de umidade foi 10,1%, 9,0%, 10,9% e 12,2%, nos períodos de armazenamento de 3, 6, 9 e 12 meses, respectivamente.

O percentual de umidade do produto nas embalagens armazenado sob condições ambientais apresentou maiores alterações do que aqueles produtos mantidos sob condições de refrigeração. Nas condições ambientais, independente da embalagem utilizada,

o teor de umidade sempre esteve em média acima de 10%, os maiores valores atingindo 14,2% e 14,4% nas embalagens de vidro e papel metalizado, aos 12 meses de armazenamento, respectivamente.

A Tabela 2 mostra as contagens de fungos filamentosos e leveduras no produto seco e moído, expressas em UFC.g⁻¹.

Tabela 2. Média e desvio padrão do logarítmo decimal do número de UFC/g de fungos filamentosos e leveduras em extrato seco de *Sphagneticola trilobata* armazenada sob condições ambientais (20 a 25 °C) e sob refrigeração (5 °C) nas embalagens de vidro, polipropileno e papel metalizado, durante 3, 6, 9 e 12 meses

Período armazenamento	Condições ambientais 20-25 °C			Condições refrigerada 5 °C		
	vidro	polipropileno	metalizado	vidro	polipropileno	metalizado
3	4,5 ± 0,9	2,4 ± 0,2	2,5 ± 0,3	4,9 ± 0,1	5,4 ± 0,3	5,5 ± 0,4
6	3,1 ± 0,7	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,5	6,2 ± 0,2	3,8 ± 0,1	3,9 ± 0,8
9	2,0 ± 0,5	2,2 ± 0,7	1,8 ± 0,1	5,0 ± 0,1	4,5 ± 0,6	5,0 ± 0,1
12	1,7 ± 0,2	2,3 ± 0,6	1,6 ± 0,2	5,3 ± 0,3	4,8 ± 0,1	5,3 ± 0,2

O número de fungos filamentosos e leveduras no produto apresentou variações durante o período de armazenamento. Constata-se tendência de diminuição do número desses microrganismos no produto armazenado sob condições ambientes acondicionado em embalagens de vidro e papel metalizado. Outra observação importante é o fato de que o produto em condições refrigeradas apresentou maiores contagens do que na temperatura ambiente, independente da embalagem ou do período de armazenamento. No entanto, nota-se a tendência de manutenção do número dos microrganismos no produto durante o período de armazenamento.

A Tabela 3 mostra a evolução do número de coliformes totais no produto seco de folhas durante o período do de armazenamento.

O resultado foi, na maioria das vezes, semelhante àqueles encontrados em fungos filamentosos e leveduras. Assim, as contagens de coliformes totais apresentaram tendência de decréscimo, com algumas oscilações, quando armazenadas sob condições ambientais acondicionadas em embalagens de polipropileno ou papel metalizadas. As contagens desses microrganismos aumentaram no produto sob condições refrigeradas em todas as embalagens utilizadas após o período de incubação. Também, os números de coliformes totais foram maiores quando o produto foi armazenado sob refrigeração independente da embalagem ou período analisado.

Tabela 3. Média e desvio padrão do logaritmo decimal do número de UFC/g de coliformes totais em extrato seco de *Sphagneticola trilobata* armazenada sob condições ambientais (20 a 25 °C) e sob refrigeração (5 °C) nas embalagens de vidro, polipropileno e papel metalizado, durante 3, 6, 9 e 12 meses

Período armazenamento	Condições ambientais 20-25 °C			Condições refrigerada 5 °C		
	vidro	polipropileno	metalizado	vidro	polipropileno	metalizado
3	3,3 ± 0,3	2,0 ± 0,5	3,9 ± 1,2	4,7 ± 0,2	3,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0
6	3,7 ± 0,1	3,5 ± 0,7	3,2 ± 1,0	4,2 ± 2,8	6,0 ± 0,6	5,2 ± 1,1
9	4,1 ± 0,3	1,8 ± 1,2	3,5 ± 0,7	6,0 ± 0,6	4,1 ± 0,3	4,6 ± 1,5
12	2,2 ± 0,9	2,3 ± 0,8	3,2 ± 0,3	6,0 ± 0,2	4,1 ± 1,1	6,1 ± 0,2

A Tabela 4 mostra o número de bactérias aeróbicas mesófilas no produto seco, em função das condições de armazenamento, período e tipos de embalagens.

Tabela 4. Média e desvio padrão do logaritmo decimal do número de UFC/g de bactérias aeróbicas mesófilas em extrato seco de *Sphagneticola trilobata* armazenada sob condições ambientais (20 a 25 °C) e sob refrigeração (5 °C) nas embalagens de vidro, polipropileno e papel metalizado, durante 3, 6, 9 e 12 meses

Período armazenamento	Condições ambientais 20-25 °C			Condições refrigerada 5 °C		
	vidro	polipropileno	metalizado	vidro	polipropileno	metalizado
3	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,1	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0	5,5 ± 0,8	5,1 ± 0,2
6	4,5 ± 0,3	4,7 ± 0,2	4,6 ± 0,1	5,7 ± 1,1	6,4 ± 0,2	5,6 ± 1,2
9	4,6 ± 0,3	4,7 ± 0,0	4,9 ± 0,1	5,4 ± 0,4	5,0 ± 0,8	5,9 ± 0,5
12	4,8 ± 0,2	4,7 ± 0,2	4,7 ± 0,2	6,2 ± 0,1	5,2 ± 1,1	6,3 ± 0,3

Os resultados mostram que não houve variação nas contagens de mesófilos aeróbios no produto armazenado à temperatura ambiente, independente do tipo de embalagem ou do período armazenado. O número deste grupo microbiano situou-se na ordem de 10^5 UFC.g⁻¹. Já no produto armazenado sob refrigeração verifica-se aumento da ordem de um ciclo logarítmico quando o produto foi acondicionado nas embalagens vidro e em papel metalizado. As contagens inicialmente na ordem de 10^5 UFC.g⁻¹ aumentou em 10^6 UFC.g⁻¹ no final do período de armazenamento.

A Tabela 5 mostra as contagens de *Staphylococcus spp* no produto seco sob as condições de armazenamento e embalagens durante o período avaliado

Tabela 5. Média e desvio padrão do logaritmo decimal do número de UFC/g de *Staphylococcus* em extrato seco de *Sphagneticola trilobata* armazenada sob condições ambientais (20 a 25 °C) e sob refrigeração (5 °C) nas embalagens de vidro, polipropileno e papel metalizado, durante 3, 6, 9 e 12 meses

Período armazenamento	Condições ambientais 20-25 °C			Condições refrigerada 5 °C		
	vidro	polipropileno	metalizado	vidro	polipropileno	metalizado
3	2,1 ± 0,2	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0
6	2,2 ± 0,2	2,0 ± 0,0	2,4 ± 0,1	2,8 ± 0,8	2,1 ± 0,2	2,8 ± 0,5
9	2,6 ± 0,6	3,0 ± 0,8	2,7 ± 0,2	4,1 ± 0,3	3,1 ± 0,5	2,8 ± 0,8
12	3,0 ± 0,4	2,7 ± 0,3	3,5 ± 0,6	3,4 ± 0,6	3,7 ± 0,2	3,8 ± 0,7

Deve-se ressaltar que nesta Tabela encontram-se as contagens de colônias que cresceram no meio seletivo Baird-Parker agar, apresentando-se negras pela redução do telurito de potássio e que produziram lecitinase, observada pela precipitado branco com halo transparente em volta das colônias. Isto significa que as contagens se referem ao gênero *Staphylococcus* e não à espécie *S. aureus*. Os resultados indicam que houve aumento do número de microrganismos deste gênero bacteriano no produto em todas as condições de armazenamento, independente do tipo de embalagem, ao final do armazenamento. Em média, o aumento destes microrganismos foi de 10 vezes no armazenamento em condições ambientais e de 100 vezes sob refrigeração.

A Tabela 6 resume o teste de catalase que permite a confirmação ou não da presença de *Staphylococcus aureus*.

Tabela 6. Média e desvio padrão do logaritmo decimal do número de UFC/g de *Staphylococcus* (catalase) em extrato seco de *S. trilobata* armazenada sob condições ambientais (20 a 25 °C) e sob refrigeração (5 °C) nas embalagens de vidro, polipropileno e papel metalizado, durante 3, 6, 9 e 12 meses

Período armazenamento	Condições ambientais 20-25 °C			Condições refrigerada 5 °C		
	vidro	polipropileno	metalizado	vidro	polipropileno	metalizado
3	< 2,0 ± 0,0	< 2,0 ± 0,0	< 2,0 ± 0,0	< 2,0 ± 0,0	< 2,0 ± 0,0	< 2,0 ± 0,0
6	1,8 ± 0,3	< 2,0 ± 0,0	1,9 ± 0,1	< 2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	1,7 ± 0,3
9	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,3	2,0 ± 0,0	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,0
12	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,5	1,9 ± 0,2	1,8 ± 0,2

Dos microrganismos isolados no meio Baird-Parker ágar, apenas pequeno percentual foi positivo no teste de catalase e nenhum isolado foi positivo no teste de coagulase, indicando não se tratar de *S. aureus*. Pode-se, assim, estimar que o número

de *S. aureus* nas amostras independente da condição e período de armazenamento estava abaixo de 10^2 UFC.g⁻¹.

A Tabela 7 indica o efeito das embalagens, ambiente e tempo de armazenamento sobre a degradação de tanino. Sob refrigeração, houve maior preservação de tanino do que o armazenamento sob condições ambientais.

Tabela 7. Média e desvio padrão da concentração de tanino no extrato seco de *S. trilobata* armazenada sob condições ambientais (20 a 25 °C) e sob refrigeração (5 °C) nas embalagens de vidro, polipropileno e papel metalizado, durante 3, 6, 9 e 12 meses. Médias e desvio padrão

Período armazenamento	Condições ambientais 20-25 °C			Condições refrigerada 5 °C		
	vidro	polipropileno	metalizado	vidro	polipropileno	metalizado
3	1,088 ± 0,085	1,035 ± 0,020	1,352 ± 0,033	1,140 ± 0,071	1,178 ± 0,097	1,340 ± 0,018
6	1,065 ± 0,065	0,975 ± 0,009	1,195 ± 0,010	1,097 ± 0,104	1,170 ± 0,028	1,129 ± 0,073
9	1,025 ± 0,057	0,947 ± 0,007	1,086 ± 0,052	1,237 ± 0,037	1,182 ± 0,072	1,352 ± 0,039
12	0,977 ± 0,072	0,977 ± 0,060	1,162 ± 0,019	1,240 ± 0,009	1,263 ± 0,150	1,638 ± 0,500

Sob refrigeração, a concentração de tanino nas embalagens e período de armazenamento ficou entre 1,10 e 1,64%, com média, acima de 1%. A embalagem de papel metalizado preservou melhor a concentração de tanino durante o período de armazenamento. Ao final de 3, 6, 9 e 12 meses, nesta embalagem, as concentrações de tanino foram, respectivamente, 1,34; 1,13, 1,35 e 1,64%. A maior preservação da concentração de tanino no produto em pó, ocorrido aos 12 meses, representa 49% a mais de tanino em relação a embalagem de vidro aos 6 meses, aquela que menos preservou a concentração de tanino. Em condições ambientais, a concentração de tanino foi maior aos 3 meses na embalagem de papel metalizado com 1,35%, que correspondeu a 42% acima da menor concentração encontrado nas embalagens de polipropileno, aos 6 meses de armazenamento, com 0,97%.

5. CONCLUSÕES

Sugere-se que o produto seco e moído preparado a partir de folhas de *Sphagneticola trilobata* seja armazenado sob refrigeração (5 °C) e embalagens de papel metalizado. Nestas condições, houve a preservação da cor do produto, o percentual de umidade foi menor, a concentração de tanino maior e as contagens médias de fungos filamentosos e leveduras (cerca de 10^5 UFC.g⁻¹), mesófilos aeróbios (entre 10^5 e 10^6 UFC.g⁻¹) e *Staphylococcus aureus* ($<10^2$ UFC.g⁻¹) encontram-se dentro de valores aceitáveis. No entanto, deve-se preocupar com as condições higiênicas do produto seco e moído já que a contagem de coliformes totais foi elevada.

LITERATURA CITADA

AS PLANTAS nossas amigas. 2. ed. Laranjeiras do Sul: Sind. do Trabalhadores Rurais de Laranjeiras do Sul, 1995. 20p.

ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMIST - A.O.A.C. **Official methods of analysis.** 11 ed. Washington, D.C.: 1970. 1015p.

BACCHI, E.M. Controle de qualidade de fitoterápicos. In: DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência.** Botucatu, SP: UNESP, 1996. p.169-186.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Semente: Ciência e Tecnologia e Produção.** Fundação Cargil. 2^a ed. Campinas, 1983. 429p.

HARRINGTON, J.F. Drying, storing and packing seed to maintain germination and vigor. **Seedsmen's Dig.**, v.4, n.1, p16-68, 1960.

HERTWIG, I.F.V. **Plantas aromáticas e medicinais.** São Paulo, Editora Ícone, 1986.

LABORCLIN. **COAGU – Plasma LB.** Pinhais: Laborclin Produtos para Laboratórios, [200-?]. Bula de remédio.

MAARA, Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária: Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos. 1991-1992.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M. et al. **Plantas medicinais.** Imprensa Universitária – Viçosa, UFV, 1994.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATO, N.P. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** Editora do Instituto Adolfo Lutz, vol. 1, 3^o ed, São Paulo, SP, 1985, p.25.

PLANTAS: saúde para o povo. Curitiba: Centro Popular de Saúde – YANTEN/Mov. Popular de Mulheres do Paraná, 1994. 66p.

SILVA, I.; FRANCO, S.L.; MOLINARI, S.L.; CONEGERO, C.I.; MIRANDA, M.H. **Organismo Humano e Utilização de Plantas Medicinais.** Cascavel: Assoeste, 1995, 203p.

TERRA, Água e Chá. Vitória: Gráfica Ita, 1995. 311p.

CAPÍTULO 6

TESTE BIOLÓGICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski EM COELHOS DIABÉTICOS

1. INTRODUÇÃO

A doença Diabetes mellitus é tão antiga quanto a própria humanidade, tendo sido mencionada em documentos médicos egípcios por volta de 1500 a.C. Apesar disso, no que diz respeito ao seu mecanismo etiopatogênico, o diabetes continua desafiando os pesquisadores. Admite-se o diabetes como doença condicionada geneticamente, associada a fatores ambientais que desempenham papel relevante na expressão clínica da doença (ARDUÍNO, 1980).

O diabetes acomete hoje milhões de pessoas em todo mundo. Nos Estados Unidos ocupam o quinto lugar entre as maiores causas de morte por doenças (ENSMINGER et al., 1994). No Brasil, a síndrome diabética é importante causa de morbidade e mortalidade em vários grupos etários da população, devendo ser encarada até como problema de saúde pública (FOSS, 1989).

Segundo a OMS as formas clínicas de diabetes consideradas clássicas são Diabetes Mellitus Insulino-Dependente (DMID) ou Tipo I, que é caracterizado pela

deficiência da síntese da insulina pelo pâncreas acometendo principalmente crianças e jovens; e o Diabetes não Insulino-Dependente (DMNID) ou Tipo II, que é a forma mais freqüente do diabetes estimado em 85-90% do total de todos os casos. O aparecimento da doença é decorrente da deficiência da ação de insulina devido a alterações na superfície celular ou em seu interior. Existem ainda outros tipos de diabetes, tais como o diabetes relacionado com a má nutrição, o diabetes gestacional, diabetes associado a condições específicas e síndromes além da tolerância à glicose.

Portanto o assunto é destaque na atualidade por ser considerado um dos problemas mais importantes de saúde pública.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico

O conhecimento do diabetes é muito antigo. Os egípcios (1500 a.C.) o descreveram associado com a passagem de muita urina. Celsus (30 a.C. a 50 d.C.) reconheceu a doença, porém, somente após dois séculos, Aretaeus da Capadócia lhe deu o nome de diabetes e fez a primeira descrição clínica. - ...”derretimento da carne e membros em urina” (ARDUÍNO, 1980).

Do século III d.C. ao VI d.C., na China, Japão e Índia, foi descrita a condição com poliúria e urina doce. Nos Vedas, livros sagrados da Índia, há essa descrição. Vê-se, pois, que a informação atribuída a Willis, em 1674, como se a urina fosse embebida com mel e açúcar, nada tinha de inédita. O nome Diabetes mellitus foi assim estabelecido (mellitus significa mel) (ARDUÍNO, 1980).

Após um século, Dobson demonstrou que a doença era causada pelo açúcar. O avanço no conhecimento do diabetes permaneceu quase que inalterado até a metade do século XIX (ARDUÍNO, 1980).

Langerhans descreveu as ilhotas do pâncreas em 1869. Cientistas alemães, von Mering e Minkowski, retiraram pâncreas de cão e provocaram diabetes (ARDUÍNO, 1980).

No final do século XX, Opie, americano, notou que as células beta das ilhotas pancreáticas estavam alteradas em seres humanos que haviam falecido com a doença (ARDUÍNO, 1980).

Em 1921, um jovem cirurgião, Frederick Banting, e seu assistente, Charles Best, trabalhando em Toronto, injetaram extrato ativo de pâncreas em cão diabético e observaram queda de glicose no sangue. No mesmo ano, Collins injetou aquele extrato, pela primeira vez, em um menino diabético, conseguindo controlar a glicemia. Identificaram assim a insulina (termo derivado do latim *insula* que significa ilha) (ARDUÍNO, 1980).

A partir de 1950, iniciaram-se grandes e rápidos avanços. Frederick Sanger decifrou a estrutura molecular da insulina. Entre 1950 a 1960, surgiram as sulfoniluréias e, em 1960, obteve-se a síntese completa da insulina (ARDUÍNO, 1980).

Nos últimos anos, iniciou-se a extração de contaminantes de insulina durante o processo de fabricação e obteve-se a insulina monocomponente, mais pura (ARDUÍNO, 1980).

Recentemente, pela modificação de um só aminoácido da insulina de suino, conseguiu-se a insulina humana semi-sintética (ARDUÍNO, 1980).

Ainda mais recentemente, com o desenvolvimento da bioengenharia genética, conseguiu-se, pela técnica de DNA recombinante, obter-se insulina sintetizada por bactérias e leveduras. É a insulina mais moderna, denominada humana sintética ou simplesmente humana, idêntica à produzida pelo homem (ARDUÍNO, 1980).

Ultimamente, também pela técnica de DNA recombinante e alterando-se dois aminoácidos (lisina e prolina) da insulina humana, obteve-se um análogo da insulina humana (lispro), com ação ultra-rápida e mais semelhante à ação da insulina produzida pelo pâncreas normal do que as anteriores (ARDUÍNO, 1980).

O melhor conhecimento dos fatores desencadeantes de diabetes do adulto (tipo 2), bem como a confirmação da importância da resistência periférica à insulina no aparecimento clínico do diabetes, fez com que novos medicamentos de uso oral fossem melhor estudados (i.e., metformina) ou novas drogas surgissem (por exemplo, acarbose e toglitazona). A metformina e a toglitazona atuam na melhora da ação da insulina, e a acarbose, na redução da digestão e consequente absorção de amido e açúcar pelo intestino (ARDUÍNO, 1980).

O Diabetes mellitus distribui-se por todos os países do mundo. Do total de casos de diabetes, 90% são do Tipo 2 (não-dependentes de insulina), 5 a 10% são do Tipo 1 (dependentes de insulina) e 2% de tipo secundário ou associados a outras doenças. Sua prevalência (número de casos existentes em determinada população), no entanto, é variável. Nos Estados Unidos, por exemplo, atinge 5% da população e o número

aumenta 6% ao ano, isto é, a cada 15 anos o número de diabéticos dobra (ARDUÍNO, 1980).

No Brasil, foi estimada a diabetes em 7,6% da população entre 30 e 69 anos, sendo que quase metade desconhece. A ocorrência é a mesma em homens e mulheres. Das pessoas entre 50 a 59 anos 12,7% são diabéticos; naquelas entre 60 a 69 anos 17,4% são diabéticas e essa percentagem se eleva a 26% em idosos próximo a 85 anos (ARDUÍNO, 1980).

2.2. O uso de plantas medicinais no tratamento do *Diabetes mellitus*

As plantas medicinais são importante fonte de drogas potencialmente terapêuticas (COX e BALICK, 1994). Diversos estudos têm demonstrado a utilização de plantas medicinais no controle do Diabetes mellitus em muitos países. Esse fato tem causado aumento no número de pesquisas direcionadas à validação das propriedades antidiabéticas, as quais são empiricamente atribuídas a várias plantas. Com isso, pesquisas visando isolamento, purificação, identificação e estudos dos mecanismos de ação das substâncias responsáveis pela atividade hipoglicemiante estão sendo realizadas (RAMOS et al., 1995).

Algumas das plantas (Tabela 1) utilizadas pela população como “fármacos antidiabéticos” já fazem parte do hábito alimentar. Esse fato une dois fatores básicos no controle do diabetes: alimentação e medicamentos.

2.3. O pâncreas

A glândula retroperitoneal, denominada pâncreas está localizada entre a parede posterior da cavidade abdominal e o estômago, medindo aproximadamente 20 cm, como ilustrado na Figura 1. No pâncreas a “cabeça” está localizada na concavidade da curva formada pelo duodeno. O “corpo” é a parte principal da glândula, sendo a “cauda”, porção delgada que se estende pela cavidade abdominal até o baço. A glândula é tanto endócrina quanto exócrina (WEISS e GREEP, 1981).

Sob o ponto de vista histológico, o pâncreas se diferencia entre pâncreas exócrino, correspondente aos ácinos, e o pâncreas endócrino, que corresponde às ilhotas de Langerhans. Divide-se em lóbulos por septos de tecidos conjuntivo e, dentro desses lóbulos, os ácinos estão agrupados de maneira irregular. O ácino pancreático tem

Tabela 1. Plantas medicinais utilizadas no tratamento do *Diabetes mellitus*

Família	Nome Botânico	Referências
Asclepiadaceae	<i>Gongronema latifolium</i>	UGOCHUKWU e BABADY, 2002
Asteraceae	<i>Sphagneticola trilobata</i> Pruski.	HOWARD et al., 1990
Cactaceae	<i>Opuntia streptacantha</i>	IBÁÑEZ-CAMACHO et al., 1983
Cucurbitaceae	<i>Luffa tuberosa</i> (Roxb.)	KAMESWARARAO et al., 2003
Cucurbitaceae	<i>Azadirachata indica</i> A. Juss	MOSSA et al., 1987
Cucurbitaceae	<i>Coccinia indica</i> Wight	KUMAR et al., 1993
Cupressaceae	<i>Juniperus communis</i> L.	MEDINA, GAMEZ e JIMÉNEZ, 1994
Gentianaceae	<i>Swertia japonica</i>	BASNET, KADOTA e SHIMIZU, 1994
Labiatae	<i>Ocimum sanctum</i>	CHATTOPADHYAY, 1993
Labiatae	<i>Salvia fruticosa</i> Mill.	PERFUMI, ARNOLD e TACCONI, 1991
Leguminosae	<i>Caesalpinia sappan</i> L.	KIM, KIM e KHIL, 1995
Leguminosae	<i>Trifolium foenum graecum</i>	ALI, KHAN e HASSAN, 1995
Leguminosae	<i>Bauhinia forficata</i> Link	SILVA et al., 2002
Liliaceae	<i>Allium cepa</i> L.	KUMARI e AUGUSTI, 1995
Liliaceae	<i>Allium sativum</i> L.	SHEELA, KUMUD e AUGUSTI, 1995
Liliaceae	<i>Aloe Vera</i>	KOO, 1994
Liliaceae	<i>Polygonatum officinale</i>	KATO e MIURA, 1994
Liliaceae	<i>Polygonatum falcutum</i>	KATO, MIURA e YANO, 1994
Liliaceae	<i>Aloe barbadensis</i> Miller	AJABNOOR, 1990
Myrtaceae	<i>Eugenia jambolana</i>	SHARMA et al., 2003
Oleaceae	<i>Olea europeae</i> L.	GONZALEZ, ZARZUELO e GAMEZ, 1991
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	SILVA e PEREIRA, 1982
Rhamnacea	<i>Zizyphus spina-christ</i>	GLOMBITZA, MAHRAN e MIRHOM 1994
Solanaceae	<i>Solanum lycocarpum</i> St. Hill	SOARES, 1995
Zingiberaceae	<i>Alpinia galanga</i>	AKHTAR, KHAN e MALIK, 2002

estrutura arredondada, constituída por células epiteliais que produzem as enzimas digestivas. As células da parede do ducto, no interior do ácino, são denominadas centroacinosas e são essas células as responsáveis por drenar o ácino. As células acinosas possuem citoplasma basal que se cora bem pela hematoxilina ou corantes básicos, e sua porção apical cora-se pela eosina. As ilhotas de Langerhans coradas pela hematoxilina-eosina são o grupo de células de coloração pálida, circundadas pelos ácinos, de coloração mais intensa. Pelo método de Mallory-Azan, é possível identificar três tipos celulares denominadas α , β , e δ . As células das ilhotas produzem dois hormônios principais: insulina e glucagon. A somatostatina, produzidas pelas células- δ , parece funcionar localmente como agente parácrino, inibindo a produção dos hormônios pelas células α e β (ROSS et al., 1993).

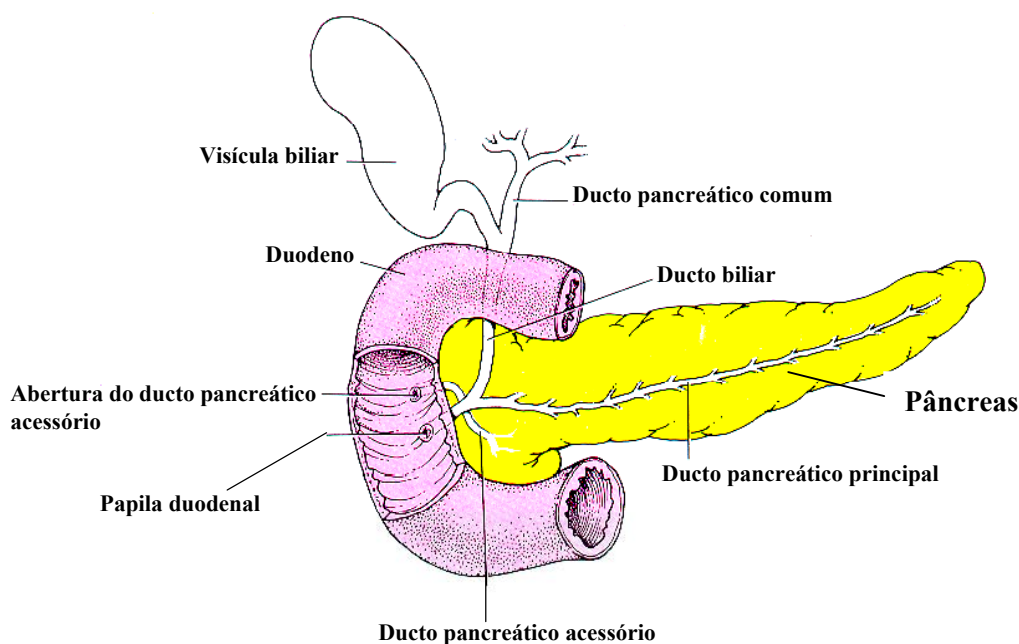


Figura 1. Glândula pâncreas. Adaptado de (ROSS et al., 1993).

O pâncreas se desenvolve no embrião humano a partir de um segmento do tubo intestinal. Nessa fase, o pâncreas é dividido em porção dorsal e ventral. A porção dorsal cresce muito mais rapidamente e dá origem à cauda, ao corpo e a parte da cabeça do pâncreas do adulto, e o pâncreas ventral contribui com a parte restante da cabeça (WESS e GREEP, 1981).

BAETENS et al. (1979) relataram que, em ratos, o pâncreas tem formato irregular, é alongado estendendo-se entre o duodeno e o baço. O órgão é drenado por no mínimo dois ductos excretórios principais, os quais se ligam ao ducto biliar em vários níveis. No desenvolvimento completo desse órgão, o pâncreas mantém o seu próprio ducto; mas no rato, além desse, muitos ductos acessórios lançam seus produtos de secreção diretamente no ducto biliar. A diferença que existe entre as células endócrinas das ilhotas da região inferior da cabeça, e aquelas do restante do pâncreas podem ser explicadas pela perspectiva do desenvolvimento desse órgão, uma vez que, nos mamíferos, o pâncreas adulto é formado pela fusão dos dois lobos pancreáticos, o dorsal e o ventral. As ilhotas dorsais são ricas em grânulos secretores de glucagon e insulina e pobres em polipeptídeo pancreático; já as ilhotas ventrais são ricas na secreção de polipeptídeo pancreático e pobre na secreção de glucagon.

2.4. Mecanismo de ação da insulina

As ilhotas de Langerhans se distribuem difusamente pelo pâncreas e representam apenas 1 a 2% de seu peso. Podem ser consideradas “miniórgão”, que regula a homeostasia de nutrientes. As ilhotas desempenham essa função por meio da secreção de pelo menos três hormônios: insulina, o glucagon e a somatostatina. As células das ilhotas respondem rapidamente a mudanças no suprimento de glicose, bem como no de aminoácidos, corpos cetônicos e ácidos graxos. Cada hormônio das ilhotas é secretado por um tipo celular distinto. Assim, as células A (ou α) secretam glucagon, enquanto as células B (ou β) secretam insulina, e as células D (ou δ), somatostatina. As células produtoras de glucagon e somatostatina tendem a circundar as células secretoras de insulina, com localização mais central. Cerca de 60% das células são do tipo B, 25% do tipo A, e 10% do tipo D (SMITH et al., 1988).

A insulina é proteína com peso molecular de 5808 Kilodalton (kD), constituída por duas cadeias polipeptídicas, unidas entre si por ligações dissulfeto. Quando ocorre clivagem das duas cadeias, perde-se a atividade funcional da cadeia de insulina. A molécula de insulina possui meia vida plasmática média de apenas 6 minutos (GUYTON, 1977).

A glutatona-insulina-transhidrogenase, encontrada no fígado e, em menor grau, em outros tecidos, tem a capacidade de inativar a insulina. Essa enzima catalisa a clivagem das ligações dissulfeto da insulina, pelo intercâmbio de sulfidrila-dissulfeto com glutatona reduzida, com conseqüente clivagem da insulina nas cadeias A e B, que ao ficarem livres tornam-se sensíveis a protease denominada insulinase. Essa enzima não pode hidrolisar a insulina intacta, sendo a sua ação limitada às subunidades insulínicas (SMITH et al., 1988).

A insulina é sintetizada pelas células- β das ilhotas de Langerhans no pâncreas, pelo retículo endoplasmático rugoso, em formas precursoras inativas denominadas pré-proinsulina, e a proinsulina, que é formada de uma única cadeia polipeptídica constituída pela ligação em sua estrutura da cadeia de insulina e do peptídeo C (SMITH et al., 1988). Este último é produzido pelas células F que estão presentes em pequena quantidade nas ilhotas, mas abundantes no parênquima exócrino do pâncreas (BASKIN et al., 1984), sendo conservado com a insulina nos grânulos secretórios. Esses grânulos maduros se fundem à membrana plasmática liberando, por meio do processo

de excitose, além da insulina, peptídeo C, proinsulina e outros compostos chamados de intermediários.

A insulina é secretada nas células- β das ilhotas, por processo complexo. As funções dos grânulos com a membrana plasmática da célula requerem Ca^{+2} cujo fornecimento depende de energia. A taxa de secreção da insulina é determinada, principalmente, pela concentração da glicose no sangue. Quando o nível de açúcar sanguíneo aumenta, a insulina é secretada em maior velocidade. Este nível aumentado da insulina acelera a entrada da glicose do sangue no fígado e músculo, onde é prontamente convertida em glicogênio. Em seguida há queda na concentração da glicose sanguínea ao nível normal, o qual provoca diminuição na secreção da insulina até valor normal. Desta forma há inter-relação retroalimentada, bem ajustada, entre a velocidade de secreção da insulina e a concentração da glicose sanguínea.

As ações biológicas da insulina são iniciadas pela ligação do hormônio aos receptores, que consistem de glicoproteínas localizadas nas membranas plasmáticas das células responsivas, e podem ser divididas em duas categorias principais. O primeiro grupo de resposta é observado em nível da membrana plasmática. Essas respostas incluem o estímulo dos sistemas de transporte da superfície celular na glicose, em vários íons e vários aminoácidos. O sistema de transporte da glicose é estereoespecífico e funciona por difusão facilitada. Ocorre estimulação máxima do sistema dentro de 20 a 30 segundos após a exposição de células adiposas à insulina. Como o receptor e o efetor se encontram na membrana plasmática, é provável que alguma modificação conformacional no receptor produza mudança do transportador de glicose, de modo a aumentar o processo de transporte do açúcar (SMITH et al., 1988).

O controle coordenado da velocidade de secreção dos dois hormônios, isto é, insulina e glucagon, é feito pela ação recíproca de vários fatores. As células das ilhotas percebem alterações no suprimento de combustíveis metabólicos, tais como D-glicose, L-aminoácidos, ácidos graxos e corpos cetônicos, às quais respondem rapidamente. Do ponto de vista fisiológico, as ilhotas secretam insulina, especialmente após as refeições, o que tende a evitar o desenvolvimento de hiperglicemia. Um dos importantes aspectos desse mecanismo é o sistema de sinalização da enteroinsulina, envolvendo componentes hormonais e neurais. Assim, os sinais hormonais que surgem no trato gastrointestinal superior com o processo de digestão da glicose sensibilizam as células- β das ilhotas, de modo que a resposta da insulina aos níveis crescentes de glicemia é aumentada. Nesse sistema, o principal hormônio gastrointestinal ativo é o GIP (peptídeo inibitório gástrico

B), embora outros hormônios, tais como gastrina, secretina e colecistocinina-pancreozimina, possam estar também envolvidos (SMITH et al., 1988).

Segundo REAVEN (1995), talvez a mais importante consideração a ser feita é que a habilidade da insulina em estimular a absorção de glicose varia entre indivíduos. Na tentativa de manter a concentração normal de glicose plasmática entre 80 a 140 mg/dL, as células- β do pâncreas se esforçarão secretando toda a quantidade de insulina requerida visando esse processo. Quanto mais resistente é o indivíduo à distribuição de glicose mediada por insulina, maior será o grau de hiperinsulinemia compensatória. Se as células- β não podem sustentar este esforço, a concentração da glicose plasmática começará a aumentar. Uma vez que a glicose plasmática começa a aumentar e a insulina plasmática a diminuir, outros processos metabólicos acontecerão, envolvendo o fígado e tecido adiposo, que, então, trabalham acentuadamente na redução da hiperglicemia de jejum. Embora as conseqüências da combinação da resistência à insulina e a ausência de função secretória das células- β serem claramente desastrosas, a capacidade de indivíduos insulino-resistentes de manter normal ou perto do normal a tolerância à glicose pela secreção de grandes quantidades de insulina, é bastante benigna.

2.5. Mecanismo de ação do aloxano na indução do *Diabetes mellitus*

O aloxano (2,4,5,6-tetraoxoexaidropirimidina monoidratado) (MORDESS e ROSSINI, 1981), derivado da pirimidina, tem sido largamente utilizado como agente diabetogênico desde a descoberta de sua relativa citotoxicidade específica nas células- β do pâncreas.

De acordo com GORRAY et al. (1986), na indução de Diabetes mellitus por aloxano, as células- β do pâncreas são destruídas com a necrose de liquefação, o que resulta, após período de aproximadamente cinco dias, em: (a) severa e persistente redução da insulina sérica; (b) redução das frações de células- β no pâncreas e nas ilhotas; (c) moderada cetonúria e (d) perda de peso.

2.6. Metabolismo no diabetes

Várias desordens metabólicas ocorrem em indivíduos com diabetes, manifestando-se por hiperfagia, glicosúria, proteólise aumentada, cetose e acidose, com ou sem hiperlipidemia (IYER et al., 1992). Em coelhos diabéticos houve aumento de lipídios

mediada por macrófagos, injúria endotelial e aumento progressivo de dano da aorta (RICHARDSON et al., 1995).

No seu grau mais diminuto, só será percebida por meio de teste de sobrecarga glicídica mas, posteriormente, instala-se hiperglicemia de jejum. Quando o nível de glicose ultrapassa a concentração sanguínea de 160 mg/dL, a capacidade de reabsorção tubular máxima nessa dose é ultrapassada (WHITE et al., 1973). Surge, então, a glicosúria. Sendo a glicose substância osmoticamente ativa, sua excreção pela urina acarreta a perda concomitante de água, com aumento do volume urinário – poliúria. Isto leva a desidratação do tipo hipertônico, que provoca sede e conseqüente aumento da ingestão hídrica – polidipsia. Esta ingestão pode contrabalançar as perdas, estabelecendo-se novo estado de equilíbrio. Entretanto, principalmente em indivíduos idosos, cujo mecanismo de estímulo da sede é inadequado, ou devido ao próprio ritmo das perdas, pode ocorrer a seguinte série de eventos: desidratação acentuada do sistema nervoso central (SNC), com obnubilação, torpor e coma. A este tipo de alteração da consciência ocasionando por uma desidratação do SNC, decorrente do aumento da concentração de substância osmoticamente ativa no sangue, no caso a glicose, denomina-se como hiperosmolar hiperglicêmico não-cetótico (MILECH, 1976; DANOWSKY, 1971).

Entretanto, a sequência de eventos pode assumir outra característica. Deficiência mais acentuada e duradoura de insulina possibilita a eclosão de lipólise maciça, com liberação de ácidos graxos livres e glicerol na corrente sanguínea. O glicerol é utilizado pelo fígado como substrato na gliconeogênese, através de sua fosforilação pela enzima glicerolquinase (WHITE et al., 1979). Os ácidos graxos originam grande quantidade de corpos cetônicos (ácidos B-hidroxibutírico, ácido acetil-acético e acetona). A acetona seria eliminada pela urina e pela respiração, dando origem ao hálito cetônico (BRADLEY, 1971).

A superprodução hepática de ácidos B-hidroxibutírico e acetil-acético é primariamente responsável pela acidose, já que se trata de ácidos orgânicos fortes, que se dissociam completamente no pH corporal (pK 3,8) (KREISBERG, 1978). Face à invasão dos líquidos orgânicos por esses ácidos, os mecanismos gerais de defesa contra a acidose são acionados: tamponamento no sangue por reação com o bicarbonato de sódio, aumento da eliminação renal de ácidos por meio da produção de cloreto de amônio e excreção de fosfato ácido de sódio, além de compensação respiratória, com aumento da eliminação de CO₂ pelos pulmões. Entretanto, a produção excessiva de

ácidos pode sobrepujar as defesas do organismo, sobrevivendo então estado de acidose (GOLDBERGER, 1965). Por ser causado pela entrada excessiva de corpos cetônicos na circulação, esse quadro de sintomas recebeu o nome de ceto-acidose.

Atualmente, existem evidências concretas de que, além da superprodução, na ceto-acidose diabética ocorre inadequada utilização dos corpos cetônicos pelos tecidos periféricos (KREISBERG, 1978; BALASSE e HAVEL, 1971; RUDERMAN e GOODMAN, 1974). Além disso, há outras alterações metabólicas associadas a esse distúrbio, como: a) o nível elevado de corpos cetônicos em animais submetidos a jejum diminui a liberação de alanina pelo músculo, e as baixas concentrações desse aminoácido em indivíduos com ceto-acidose poderiam ser devidas não somente a extração hepática aumentada, mas também a liberação muscular diminuída (SHERWIN et al., 1975; FELIG et al., 1970); b) a alteração do metabolismo periférico dos corpos cetônicos interfere com a regeneração de bicarbonato que ocorre normalmente, face à utilização tecidual destas substâncias, dificultando a correção da acidose (KREISBERG, 1978).

Ao se estabelecer a acidose, surgem náuseas e vômitos, agravando a perda de água, sódio e cloro. O potássio deixa a célula, cai na corrente sanguínea, sendo eliminado pelos rins. Da combinação acidose-desidratação, tem-se o quadro da ceto-acidose: náuseas, vômitos, hálito cetônico, respiração de Kussmaul, hipotensão, taquicardia, obnubilação, topor e coma (BRADLEY, 1971).

Esse quadro de sintomas ocorre simultaneamente com o coma hiperosmolar causado pela presença de hiperglicemia. Pode-se considerar que ambos os eventos são o espectro da mesma etiologia, isto é, ação ineficaz da insulina.

Outros sintomas e sinais estão freqüentemente presentes no Diabetes mellitus descompensado, tais como emagrecimento, astenia, distúrbios visuais e polifagia (STAUFFACHER e RENOLD, 1971; MARKS e KRALL, 1971).

O emagrecimento é causado pelo catabolismo das proteínas e da gordura do tecido adiposo. A perda ponderal é agravada pela desidratação concomitante, e a astenia está relacionada à destruição muscular, perda de sódio e de potássio.

Os distúrbios visuais de refração nessa fase aguda são determinados por alterações osmóticas que ocorrem no globo ocular e desaparecem alguns dias após ter sido alcançado o controle metabólico adequado (MARKS e KRALL, 1971).

A incidência de polifagia durante os períodos de descompensação metabólica do Diabetes mellitus é inferior à dos outros dois sintomas clássicos – poliúria e polidipsia (MARKS e KRALL, 1971).

O diabetes altera a atividade da enzima $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, o tônus vascular, o metabolismo de carboidratos, estando também associada à peroxidação de lipídios e à geração de radicais livres.

2.7. Bioquímica do sangue: substâncias não eletrolíticas

a) Glicose

Em condições normais, a concentração de glicose no sangue mantém-se dentro de limites bastante estreitos. Isso se deve à intervenção do mecanismo regulador hormonal extremamente sensível, cujos principais integrantes são representados, pela insulina (agente hipoglicemiante) e, pelos hormônios adrenocorticais, pré-hipofisários, adrenalina e glucocórtico (agentes hiperglicemiantes). Em condições patológicas pode ocorrer desequilíbrio desse sistema de ajuste, ou ser submetido a condições que ultrapassem suas possibilidades reguladoras, do que resultará elevação ou abaixamento do nível sanguíneo de glicose. A determinação da glicemia assume então interesse diagnóstico (TRINDER, 1969).

Numerosos são os métodos de dosagem da glicose, que podem ser distribuídos em três grupos:

Métodos Baseados no Poder Redutor da Glicose. Os oxidantes mais empregados são os íons cúpricos e ferrocianeto, ambos em meio alcalino. Os patologistas clínicos dão preferência aos métodos que utilizam soluções cuproalcalinas. Nestes, a glicose reduz o cobre da forma cúprica (Cu^{2+}) à cuprosa (Cu^+). O aparecimento de cor é conseguido pela oxidação do fosfomolibdato no método de Folin-Wu, ou do arsenomolibdato no método de Somogy-Nelson. Tal coloração se presta à comparação (colorimétrico ou fotométrico) com a que é produzida pela solução padrão de glicose tratada de modo idêntico (TRINDER, 1969).

Desses dois métodos, o de Somogy-Nelson é o mais recomendável, por vários motivos: a) no filtrado desproteinizado de Folin-Wu aparecem substâncias redutoras diferentes da glicose, responsáveis por valores aproximadamente 20 mg/dL mais elevados do que a concentração verdadeira (o que não ocorre no método de Somogy-Nelson);

b) a cor produzida com o arsenomolibdato é mais estável e sensível do que a obtida com o fosfomolibdato; c) os resultados obtidos com o método de Somogy-Nelson coincidem com os do método da glicose-oxidase (TRINDER, 1969).

O método baseado na redução do ferricianeto a ferrocianeto é adotado nos processos automáticos.

Método Enzimático. Neste método, a glicose é oxidada pela ação da glicose-oxidase a ácido glicônico, com formação de H_2O_2 . Em presença de peroxidase, a água oxigenada é cindida em água e O_2 . Este oxigênio oxida certas substâncias (como a O-dianisidina), dando o composto corado que pode ser medido fotometricamente. Este método é específico da glicose, sendo considerado como o determinador da glicose verdadeira (TRINDER, 1969).

Outros métodos. Incluem-se aqui os que se baseiam na reação direta entre a glicose e substâncias orgânicas diversas, como a anilina, antrona e O-toluidina. A mais utilizada é esta última, que proporciona resultados muito aproximados aos obtidos pelo método enzimático (TRINDER, 1969).

Quando se avalia a glicemia, é importante que se saiba qual o método adotado e a amostra utilizada (sangue venoso total, plasma, soro ou sangue capilar). Isto porque os valores considerados como normais variam. Em jejum e dosados no plasma (ou soro) são cerca de 15% mais elevados do que no sangue venoso total. Os valores deste equivalem aos do sangue capilar, quando em jejum. Métodos que usam o soro têm a vantagem de serem mais apropriados ao auto-analisador (método do ferricianeto de Hoffman), ao contrário dos que usam o plasma, cujo fibrinogênio precipita e coagula. Entretanto, se o soro for separado apenas deixando o sangue total coagular e retraindo, a glicólise diminuirá em 30 a 40% o teor de glicose dosado, mesmo se usado o auto-analisador. No método do soro, a amostra deve ser refrigerada até que coagule e, então, ser imediatamente centrifugada, a fim de se evitarem resultados falsamente baixos. Os métodos que utilizam plasma teriam como vantagem o fato de refletirem mais corretamente a absorção, produção e captação periférica da glicose do que os que utilizam o sangue total, pela ausência do “espaço morto” representado pelas hemácias; assim, independeriam do valor do hematócrito, como ocorre com os de sangue total, em que a presença de anemia condiciona teor de glicose mais elevado, isto é, 3 a 4 mg por 10% de queda do hematócrito e vice-versa (SIEST et al., 1981).

O Diabetes mellitus representa, sem comparação, a principal causa de hiperglicemia. A glicemia em jejum igual ou superior a 140 mg/100 mL (Folin-Wu) ou

120 mg/100 mL (açúcar verdadeiro) é suficiente na confirmação do diagnóstico de diabetes mellitus. Valores entre 120 e 140 mg (Folin-Wu) e 100 a 120 (açúcar verdadeiro) são de interpretação duvidosa, exigindo a prova de tolerância à glicose. Entre outras causas de hiperglicemia, pode-se citar o hiperpituitarismo, síndrome de Cushing, feocromocitoma, doença de Von Gierke (hiperglicemia pós-prandial), traumatismo cranianos, tumores cerebrais, acidentes vasculocerebrais, hiperglicemia fisiológica (excitação psíquica, esforço muscular), hiperglicemia de urgência (choque asfíxia, intervenções cirúrgicas) (SIEST et al., 1981).

b) Uréia

A uréia é a principal forma de excreção do nitrogênio proveniente do catabolismo protéico. Forma-se no fígado a partir dos grupos NH_2 (amoniaco) liberados pela desaminação dos aminoácidos (ciclo da ornitina). Sua dosagem constitui o recurso mais utilizado na avaliação grosseira do estado de funcionamento renal. Antigamente, utilizava-se a técnica gasométrica comparativa de Yvon, na qual o teor de uréia era deduzido do volume de N desprendido por determinado volume de sangue submetido a ação do hipobromito de sódio. Atualmente, empregam-se duas técnicas como diacetilmonoxamina e com a enzima uréase (KASSIRER, 1971).

Na avaliação do estado de funcionamento renal é comum solicitar-se a dosagem de uréia juntamente com a de creatina. O aumento da creatinina no sangue é mais tardio do que a uréia, tendo maior valor prognóstico. As dosagens de uréia no soro ou plasma são muito menos sensíveis, como provas de função renal, do que os testes de depuração; a taxa de uréia pode manter-se dentro dos limites normais até que a depuração da uréia ou da creatina se tenha reduzido a menos de 50% (KASSIRER, 1971).

c) Creatinina

A creatinina é eliminada do plasma por filtração glomerular e não é reabsorvida nos túbulos em grau significativo. Por isso sua velocidade de depuração é mais elevada do que a da uréia, cuja reabsorção nos túbulos atinge, em condições normais, a 40% do que é filtrado nos glomérulos. Além disso, quando os níveis de creatinina no plasma ultrapassam seu valor normal, o rim pode eliminar essa substância por excreção tubular ativa. Por conseguinte, as elevações da taxa de creatinina no sangue são, em geral, mais tardias do que as de uréia (O'LEARY et al., 1992).

d) Proteínas plasmáticas

As proteínas são essenciais, constituídas de moléculas extremamente volumosas formadas de longas cadeias de aminoácidos unidas entre si por ligações peptídicas, isto é, resultantes do enlace do grupo carboxílico de um aminoácido ao grupo amínico de outro. Com cerca de apenas 20 aminoácidos, ao todo, o organismo consegue sintetizar grande número de proteínas, das quais só no plasma sanguíneo do homem existe mais de uma vintena (grupo de vinte), com funções próprias (PETERS, 1968).

Nem todas as proteínas contêm todos os aminoácidos, mas pode-se supor a média de 500 unidades de aminoácidos na formação de uma molécula protéica. Toda substância que contenha duas ou mais ligações peptídicas dará a chamada reação de biureto, que pode ser usada, portanto, como prova geral das proteínas. O biureto é obtido pelo aquecimento da uréia. Há condensação de duas moléculas dessa substância na formação de uma molécula de biureto, na qual existem duas ligações peptídicas. Em presença de álcali forte e de traços de iões cúpricos, o biureto e as proteínas dão coloração violeta, que varia entre proteínas, mas que é inteiramente característica como reação de grupo. As proteínas podem ser dosadas por reação idêntica à do biureto (PETERS, 1968).

A determinação da taxa de proteína total do plasma e de suas frações tem importância clínica pois a concentração protéica total nesse líquido orgânico é responsável pela pressão coloidosmótica e as variações observadas nas diversas frações podem refletir doenças específicas e trazer valiosos subsídios no diagnóstico. O doseamento das proteínas totais e suas frações albumina e globulinas pode ser feito por métodos químicos, tais como o do biureto de Gornal, Bardawill e David (modificado por Weichselbaun) e o de Greenberg (modificado por Kingsley). De acordo com o primeiro método, as taxas normais são as seguintes (PETERS, 1968):

Proteínas totais.....	6,5 – 7,7 g / 100 mL
Albumina.....	3,9 – 4,6 g / 100mL
Globulinas.....	2,3 – 3,5 g / 100 mL

e) Albuminas

A albumina, cuja síntese se dá no fígado, desempenha funções biológicas diversas, entre as quais se incluem a ligação e o transporte de numerosas substâncias,

tais como os íons metálicos, aminoácidos, hormônios, ácidos graxos, bilirrubina, enzimas, drogas e metabólitos ou produtos tóxicos. Exerce igualmente papel vital na preservação e na distribuição de água nos três compartimentos corporais (DRUPT, 1974). Seu peso molecular é 68.000 daltons, o que significa ser a menor dentre as mais importantes moléculas protéicas. Em consequência disso, tende a se perder pela urina sempre que ocorre dano nos glomérulos renais. A hipoalbuminemia é a condição altamente inespecífica e acompanha numerosas doenças (DRUPT, 1974).

f) Lipídios Plasmáticos

Em decorrência das inequívocas relações patogênicas que foram evidenciadas entre a hiperlipidemia e a incidência de arteriosclerose, ganhou interesse clínico o estudo dos lipídios plasmáticos e a dosagem dessas substâncias no sangue. Por causa das diversas variedades de lipídios, tornou-se insuficiente a simples dosagem dos lipídios totais no plasma, sendo indispensável, pelo menos nos casos patológicos, a determinação das várias frações lipídicas plasmáticas (FLEGG, 1973).

Os lipídios e as lipoproteínas podem ser determinados por vários métodos laboratoriais. Os resultados desses métodos não têm completa correspondência e são expressos, além disso, de modos diversos, o que dificulta o entendimento de sua significação. Assim, expressões como alfa₁-lipoproteína, colesterol esterificado, fosfolipídios, lipoproteínas de alta e baixa densidade e muitas outras, ficam desordenadas dificultando a interpretação do “lipidograma” (FLEGG, 1973).

Os lipídios são substâncias orgânicas formadas por vários compostos, cuja principal característica consiste da insolubilidade na água e solubilidade no benzeno, éter, clorofórmio e outros chamados “solventes de gordura”. Os lipídios mais abundantes no plasma são: colesterol, gorduras neutras (triglicérides) e fosfolipídios. Existem ainda pequenas quantidades de ácidos graxos livres, glicolipídios, bem como quantidades mínimas de hormônios e vitaminas de natureza lipídica. Os teores normais dos principais lipídios plasmáticos são indicados no Tabela 2 (FLEGG, 1973).

As gorduras neutras ou triglicéridios são ésteres de ácidos graxos com glicerol (propanotriol). Os três ácidos graxos podem ser iguais entre si ou diferentes. Pode-se hidrolisar os triglicéridios por meio de ácidos ou bases fortes ou por meio de enzimas (lípsases) (FLEGG, 1973).

Tabela 2. Principais lipídios do plasma (em jejum)

Substância	Concentração (mg / 100 mL)
Lipídios totais	385-675 (530)
Graxas neutras	0-260 (140)
Ácidos graxos não esterificados	8-31 (26)
Fosfolipídios	110-250 (165)
Colesterol	140-260 (200)
Ácidos graxos totais	110-485 (300)

As cifras entre parêntesis representam valores médios.

O colesterol está no grupo de substâncias orgânicas complexas pertencentes à classe de lipídios, conhecidas como esteróis. É produzido principalmente no fígado a partir do acetato, sendo transformado em ácidos biliares, que são eliminados na bile. O colesterol pode formar ésteres com grande variedade de ácidos graxos, e normalmente dois terços do total existem nessa forma no plasma (BUCOLO e DAVID, 1973).

Existem inúmeros métodos de dosagem do colesterol. Dentre os mais empregados, o de Laffler e McDougalde, que com o isopropanol precipita as proteínas séricas e extrai o colesterol total; sobre uma alíquota de extrato claro, junta-se o reagente cloreto de ferro-ácido acético e ácido sulfúrico, formando-se o composto colorido avaliado fotocolorimetricamente (BUCOLO e DAVID, 1973).

Na dosagem dos triglicerídios, os métodos mais precisos são os cromatográficos, mas os químicos são mais simples de serem executados. Dentre os mais empregados, o Fletcher, os triglicerídios séricos são extraídos pelo isopropanol, após fosfátidos, glicose e pigmentos biliares terem sido adsorvidos pela mistura de extração. O glicerol liberado pela saponificação dos triglicerídios é oxidado a formaldeído, que reage com acetilacetona, formando-se o derivado amarelo, que é avaliado no espectrofotômetro ou no fotocolorímetro com filtro azul (BUCOLO e DAVID, 1973).

A interpretação das anormalidades do lipidograma com fins clínicos devem as hiperlipidemias ser consideradas como: a) primárias e b) secundárias a outras doenças. As primárias incluem principalmente as anormalidades provocadas por fatores alimentares ou ambientais, bem como as hiperlipoproteínas essenciais ou familiares. Pode-se admitir que a maior parte das hiperlipidemias seja de origem alimentar ou ambiental, aceitando-se, porém, a possibilidade de que há influência genética responsável pela individualidade e respostas diferentes a idênticos estímulos alimentares ou ambientais. As hiperlipidemias secundárias são devidas a: Diabetes mellitus, ingestão de álcool

(mesmo pequena quantidades), pancreatites, hipotireoidismo, síndrome nefrótica, tesaurismose glicogênica, hipercalemia idiopática da infância, globulina plasmática anormais (mieloma múltiplo, crioglobulinemia), gravidez ou uso de anovulatórios (cede aos dois ou três meses da gravidez) hepatopatia obstrutiva e os homens enfartados do miocárdio ou que aumentaram 4,5 kg ou mais depois de terem atingido a idade madura, bem como as mulheres obesas ou as pessoas de ambos os sexos com gota, exibem teores de glicéridos mais elevados do que os controles normais da mesma idade (BUCOLO e DAVID, 1973).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa. Utilizaram-se coelhos adultos, machos, da raça Albino Nova Zelândia. Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais, em temperatura ambiente e receberam água e 120 g.dia⁻¹ da ração de reprodução e crescimento Coelhil R[®], Socil Guyomarc'H ind. e Com. Ltda.

Após uma semana de adaptação, todos os coelhos receberam a suspensão de aloxano (5%) (Alloxan Sigma[®]), em NaCl 0,9% injetada intravenosa na artéria marginal da orelha, utilizando-se seringas descartáveis de 5 mL, com agulhas hipodérmicas. Após a aplicação foi fornecida solução de sacarose, substituindo água pura, evitando possíveis desmaios.

Os extratos foram obtidos a partir de folhas de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. As plantas logo que colhidas foram separadas folhas dos ramos, e levadas à sala de secagem, do Departamento de Fitotecnia. Nesta sala as folhas desidrataram-se à temperatura ambiente (em torno de 25 °C) e umidade mantida em torno de 48%, por meio de desumidificador por uma semana. Após a secagem foram preparados os extratos, na proporção de 400 g de folhas desidratadas e moídas para cada 3 litros de álcool cereais, que ficaram mergulhadas por uma semana, sendo que todo dia os fracos becker contendo a solução eram agitados pela manhã. Após uma semana, o extrato foi filtrado a vácuo e levado ao evaporador rotativo, destilando-se o álcool. O extrato assim

obtido, foi colocado em placa de petri, onde recebeu nitrogênio líquido e levado ao liofilizador por 3 dias. Aos final dos 3 dias, foram confeccionadas cápsulas de comprimido de 40, 100, 200 e 400 mg sendo 180 comprimidos de cada.

Na determinação de glicose, triacilgliceróis, colesterol, creatinina, albumina, proteínas totais e uréia, coletaram-se 5 mL de sangue, por meio da incisão do plexo capilar abaixo do olho, a qual foi feita com a extremidade cortante de tubo capilar utilizando normalmente na determinação de hematócrito. O sangue foi centrifugado a 7100 x g, por 15 min., e o soro sobrenadante foi submetido ao analisador multiparamétrico automático Alizé®.

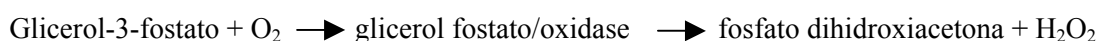
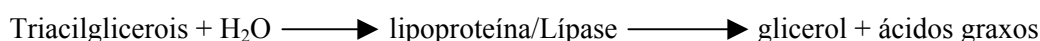
Foram realizadas análises dos extratos etanólicos das folhas, caule e flores quanto a presença de ácido caurenóico e luteólina.

3.1. Modo de determinação dos constituintes do sangue

Triacilgliceróis - método de determinação dos trigliceróis, teste enzimático colorimétrico.

Princípio de ação

Metodologia: enzimático – Trinder (1969), a determinação enzimática dos triacilgliceróis foi feita de acordo com as seguintes reações:

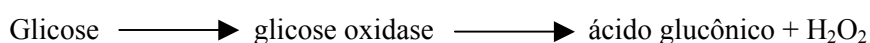


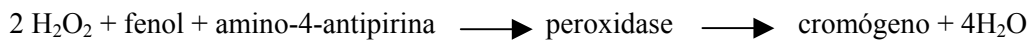
O H_2O_2 , 4 aminoantipirina e p-clorofenol, na presença da peroxidase dá origem a um composto de cor cereja cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de triacilgliceróis.

Glicose - determinação enzimática da glicose

Princípio

A glicose presente nas amostras é dosada segundo o esquema seguinte:

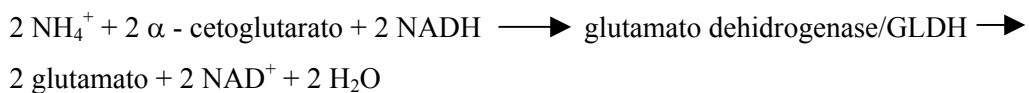
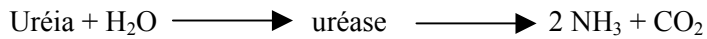




Uréia – determinação cinética da uréia

Princípio

A determinação da uréia de acordo com o seguinte esquema:



Proteína total

Princípio – determinação colorimétrica da proteína total baseada no princípio de reação do biureto (sal de cobre em meio alcalino).

Albumina

Princípio – determinação colorimétrica da albumina sérica usando bromocresol verde (BCG) a pH 4,2.

A determinação colorimétrica do colesterol total baseia-se na transformação do colesterol esterificado em colesterol e ácidos graxos, mediado pela enzima colesterol esterase. O colesterol formado é oxidado pela colesterol oxidase em colesten-4-ona-3, liberando água oxigenada que juntamente com o fenol e amino 4 antipirina, pela ação da peroxidase, são transformadas no cromógeno que absorve em 500 nm.

A determinação dos triacilgliceróis séricos foi enzimática. A lipase degrada os triacilgliceróis em glicerol e ácidos graxos. O glicerol obtido reage com ATP, em presença da glicerolquinase, formando glicerol-3-fosfato e ADP. O glicerol-3-fosfato é oxidado a dihidroxiacetona-fosfato, pelo glicerol-3-fosfato oxidase, liberando água oxigenada. Esta juntamente com paraclorofenol e amino 4 antipirina, em presença da peroxidase, transforma-se no cromógeno que absorve em 505 nm.

Foram considerados diabéticos os coelhos com glicemia (nível de glicose sanguínea) igual ou superior a 180 mg.dL^{-1} , acompanhada de sintomas característicos de diabetes como poliúria, polidipsia, menor ganho, ou mesmo perda de peso.

3.2. Modo de determinação do ácido caurenóico na planta

O método utilizado foi a cromatografia de camada delgada (CCD). Na realização deste trabalho, foram pesados 2 gramas de cada amostra, sendo estas macerada estaticamente (em repouso) com acetona (50 mL) por 4 dias. Após este período, o solvente foi evaporado, a amostra foi seca até peso constante no dessecador. O extrato foi então analisado em CCD, a fim de comparar a presença de ácido caurenóico.

3.3. Análise estatística

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica localizado à Vila Ganetti casa 26, na Universidade Federal de Viçosa, no período de 02-01-2003 a 14-02-2003.

O experimento foi instalado em esquema parcela subdividida, tendo nas parcelas os extratos e nas subparcelas os tempos no delineamento inteiramente ao acaso. As doses dos extratos foram (0, 40, 100, 200 e 400 mg) e as épocas de coleta dos dados (7 e 31 dias) com 6 repetições, cada coelho constituiu uma unidade experimental.. Os dados foram interpretados por meio da análise de variância e regressão. Os dados de época de coleta as médias foram comparados utilizando-se o teste de F adotando-se o nível de 5% de probabilidade. No fator dose os modelos foram escolhidos baseados na significância do coeficiente de regressão. As análises foram feitas utilizando-se o programa SAEG 5,0 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 encontra-se o resumo da análise de variância dos constituintes do sangue de coelhos diabéticos, tratados com extratos etanólicos de folhas de *S. trilobata* por 31 dias e analisados aos 7 e 31 dias. Observa-se que não houve efeito significativo dos extratos em nenhum dos constituintes do sangue. Apenas o fator tempo afetou significativamente o peso, creatinina e proteína à 1% de probabilidade pelo teste F e a 5% de probabilidade a concentração de glicose no sangue. Também pelo teste de F a 5% de probabilidade houve diferença significativa da interação entre as doses de extratos e o tempo na concentração de triacilgliceróis.

Os animais ganharam maior peso aos 31 dias em relação aos 7 dias de análise em qualquer das doses de extratos (Tabela 4).

Tabela 3. Resumo da análise de variância dos constituintes do sangue de coelhos diabéticos tratados com extratos etanólicos foliares de *S. trilobata* nos tempos 7 e 31 dias

FV	G.L.	Quadrado médio e significância						
		Peso	Glicose	Creatinina	Proteína	Colesterol	Albumina	Triacilgliceróis
Extrato (E)	3	0,1350 ^{NS}	23311,7563 ^{NS}	0,0114 ^{NS}	149,7039*	21375,0130 ^{NS}	0,1502 ^{NS}	4785,3541 ^{NS}
Resíduo (a)	16	0,0741	8457,2047	0,0452	42,7227	10413,2995	0,1216	2665,2379
Tempo (T)	1	9,0133**	33543,9002*	4,0833**	215,0533**	36813,3019 ^{NS}	0,0169 ^{NS}	10328,2669 ^{NS}
E x T	3	0,0328 ^{NS}	14369,8702 ^{NS}	0,0205 ^{NS}	28,6939 ^{NS}	20165,3763 ^{NS}	0,0574 ^{NS}	16206,8669*
Resíduo (b)	16	0,0354	6735,1152	0,0217	22,0847	11461,6237 ^{NS}	0,0963	3670,6969
Média geral		2,18	181,84	1,59	61,14	123,57	4,84	101,69
CV (%) a		12,47	50,57	13,33	10,69	82,58	7,20	50,76
CV (%) b		8,62	45,13	9,24	7,69	86,64	6,41	59,58

** , * , ^{NS} ; indica significância a 1%, 5% de probabilidade pelo teste F e não significância.

Tabela 4. Médias das variáveis peso, glicose, creatina, proteína, colesterol, albumina e triacilgliceróis em função das doses de extratos etanólicos de *Sphagneticola trilobata* com os respectivos tempos

Constituintes	Tempo (dias)		
	Dose	7 (dias)	31 (dias)
Peso (kg)	0	1,54 b	2,54 a
	40	1,73 b	2,48 a
	100	1,77 b	2,60 a
	200	1,67 b	2,55 a
	400	1,83 b	2,83 a
Glicose (mg/dL)	0	139,90 b	291,34 a
	40	136,77 a	153,00 a
	100	145,57 a	141,45 a
	200	290,10 a	166,63 b
	400	260,68 a	160,55 b
Creatina (mg/dL)	0	1,22 b	1,78 a
	40	1,27 b	1,85 a
	100	1,28 b	1,98 a
	200	1,33 b	1,87 a
	400	1,33 b	1,85 a
Proteínas (g/dL)	0	57,14 b	63,42 a
	40	58,62 b	65,40 a
	100	60,32 b	66,32 a
	200	63,38 a	63,25 a
	400	53,78 a	58,07 a
Colesterol (mg/dL)	0	74,78 a	92,34 a
	40	97,53 a	103,67 a
	100	76,42 a	81,78 a
	200	257,95 a	90,37 b
	400	173,17 a	107,70 a
Albumina (g/dL)	0	4,70 a	5,08 a
	40	4,77 a	4,83 a
	100	4,98 a	5,03 a
	200	4,72 a	4,90 a
	400	4,83 a	4,68 a
Triacilgliceróis (mg/dL)	0	54,96 b	130,72 a
	40	65,18 b	108,33 a
	100	73,08 a	91,65 a
	200	62,92 b	179,88 a
	400	146,90 a	85,57 b

Médias entre linhas, seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O ganho de peso é sintoma típico do diabetes (MIYAKE et al., 1998), no presente estudo, o ganho de peso dos animais foi na faixa de 30% a 35%. Diabetes induzidos por aloxano em ratos induz a hiperfagia (PENG et al., 1975).

A concentração de glicose foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$) nas doses de extratos de 200 e 400 mg/kg aos 31 dias, nas duas doses citadas houve redução da taxa de glicose. Nos animais tratados com 200 mg do extrato, aos 7 dias a taxa de glicose era de 290,10 mg/dL reduzindo-se a 74%, passando a 166,63 mg/dL e estando abaixo do limite de 180 mg/dL considerado como animais normais. Nos animais

tratados com 400 mg/kg de peso do extrato a concentração de glicose passou de 260,68 mg/dL a 160,55 mg/dL, sendo esta redução de 62% (Tabela 6).

Provavelmente o efeito do extrato de *S. trilobata* decorreu do sinergismo de alguns compostos do extrato. O composto presente na fração hidroalcoólica que poderia estar exercendo o efeito anti-hiperglicemiante, seria o ácido caurenóico, um diterpeno cujos efeitos analgésicos foram anteriormente determinados (WADDOO, 1992; BLOCK, 1998a; BLOCK, 1998b).

De acordo com os resultados obtidos por SHARMA et al. (2003) coelhos com diabetes severa após 90 minutos de tratamento tiveram reduções na concentração de glicose 260,4 mg/dL para 210,0 mg/dL, redução de 0,77% na tratamento com 50 mg/kg do extrato etanólico de *Eugenia jambolana*. No tratamento com 100 mg/kg do extrato a redução na concentração de glicose foi 255,8 mg/dL para 181,6 mg/dL sendo esta redução de 41% e no tratamento em que 200 mg/kg do extrato etanólico do extrato a redução na do glicose foi 269,4 mg/dL para 191,8 mg/dL sendo 40% esta redução. Pode-se observar que a variação em extrato teve a mesma variação nas duas concentrações maiores.

SHARMA et al. (2003) relata que em coelhos tratados com 100 mg/kg de extratos etanólicos de sementes de *Eugenia jambolana*, os animais com moderada diabetes apresentavam concentrações de insulina de 35,2 μ u/mL e os animais diabéticos 19,5 μ u/mL e depois do tratamento os animais doentes tiveram aumento significativo ($P < 0,001$) passando a 25,8 μ u/mL, sendo este aumento na concentração de insulina de 32,8%. Já os animais com diabetes severa, apresentavam concentração de insulina antes do tratamento de 16,3 μ u/mL e o controle de 34,5 μ u/mL, após o tratamento os diabéticos tiveram aumento significativo ($P < 0,001$) passando a 20,7 μ u/mL sendo este aumento de 26,9%.

De acordo com SHARMA et al. (2003) o tratamento com extrato etanólico das sementes de *Eugenia jambolana* em coelhos diabéticos previne a alteração no conteúdo do glicogênio dos músculos mas não os normaliza no tratamento em 15 dias. Esta prevenção da depleção do glicogênio no fígado e músculo é possível devido ao estímulo da liberação da insulina das células- β (LOLITKAR e RAO, 1966). Possivelmente fitoterápicos como *S. trilobata* possuem mecanismo de ação como o observado acima, o que justificaria a redução no nível da glicemia.

SILVA et al. (2002) relatam que os extratos n-butanol de *Bauhinia forficata* Link abaixaram a concentração de glicose em ratos normalglicêmicos. No tempo zero, ratos que tinham a concentração de glicose de 101,0 mg/dL abaixaram a concentração para 94,8 mg/dL em 2 horas de tratamento com 400 mg/kg do extrato e em 3 horas a concentração atingiu 118,1 mg/dL. No tratamento com 500 mg/kg do extrato, a concentração de glicose passou de 96,8 mg/dL no tempo zero para 88,4 mg/dL e 93,0 mg/dL as 2 e 3 horas respectivamente após o tratamento. No tratamento com 600 mg/kg do extrato a glicemia passou de 131,5 mg/dL no tempo zero à 103,5 mg/dL e 122,7 mg/dL respectivamente após 2 e 3 horas de tratamento. Com 800 mg/kg do extrato a concentração de glicose no sangue passou de 119,0 mg/dL no tempo zero a 107,0 mg/dL e 120,8 mg/dL respectivamente após 2 e 3 horas de tratamento.

Segundo SHALEV, 1999, o efeito hipoglicêmico em ratos normais pode ser devido a potenciação da liberação da insulina das células- β , para a ação dos receptores de insulina ou inibição da reabsorção da glicose nos túbulos proximal dos rins.

A taxa de creatinina foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$) ao 31 dias em relação aos 7 dias de análise, em qualquer das doses de extratos (Tabela 6). Portanto os extratos não reduziram o nível de creatinina, uma vez que o aumento se deve à hiperglicemia aloxanizada.

São comuns valores elevados de uréia, creatinina e ácido úrico na diabetes, mesmo na ausência de insuficiência renal (ALMEIDA, 1997), pois sua concentração plasmática é interpretada como taxa de filtração glomerular (MILLER, 1986) e na diabetes, há catabolismo protéico (ALMEIDA, 1997).

A taxa de proteína foi estatisticamente alterada apenas em relação as doses 40 mg e 100 mg do extrato, sendo que em ambas as doses houve aumento da taxa de proteína aos 31 dias de análise em relação aos 7 dias (Tabela 6).

A taxa de colesterol foi alterada estatisticamente apenas em relação à dose 200 mg do extrato entre os animais analisados os 7 e 31 dias. Aos 7 dias, os animais tinham a taxa média de colesterol de 257,95 mg/dL havendo redução média de 185% passando a 90,37 mg/dL (Tabela 6).

Muitos extratos de plantas têm mostrado significante atividade antioxidante (NAGARAJAN et al., 1987; JAIN e SHARMA, 1967; ANJALI e MANOJ, 1995). Antioxidantes exercem importante papel contra danos de espécie de oxigênio reativo (LOLLINGER, 1981). A atividade de radical do oxigênio livre pode iniciar a peroxidação de lipídeos, o qual pode estimular a glicosilação de proteínas, inativação de

enzimas e alteração na estrutura e função do colágeno, e outras membranas (BOYNES, 1991). É possível assim que a redução na concentração de colesterol observado em coelhos tratados com extratos de *S. trilobata* possa ter ação antioxidativa (Tabela 6).

KAMESWARARAO et al. (2003) relatam em ratos diabéticos induzidos por aloxano, o aumento da glicose no sangue é acompanhado pelo aumento no colesterol do soro, triacilglicerol (TG), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e decréscimo na lipoproteína de alta densidade (HDL). KAMESWARARAO et al. (2003) relatam que no tratamento de ratos hiperglicêmicos com frutos de *Momordica cymbalaria* o colesterol foi reduzido em 33%, TG em 69%, LDL em 55% e VLDL em 69% e melhorando o HDL em 70%. É bem conhecido que o nível de controle da glicemia é o principal determinante do nível no soro de VLDL e TG (MARKK, 1995). A normalização do nível de glicose no sangue resulta em significativa redução no nível de colesterol no plasma, triacilgliceróis, ácidos graxos e apoproteína no plasma (KEDAR e CHAKRABARTI, 1982).

O nível de albumina não foi alterado em qualquer das doses dos extratos aos 7 e 31 de análise (Tabela 6).

Em pacientes diabéticos, os capilares tornam-se mais permeáveis à albumina. O uso de Daflon 500[®], uma fração de flavonóides contendo 90% de diosmina e 10% de hesperidina, reverteu esse problema em 55% dos pacientes tratados (VALENSI et al., 1996). Segundo MURTIASHAW et al. (1983) ocorre diminuição da síntese de albumina em ratos diabéticos. Apesar disso, esses autores observaram que a concentração de albumina plasmática manteve-se, mesmo após 10 dias da aplicação, em 75 mg.kg⁻¹ de estreptozotocina em ratos. A explicação sugerida foi a redução na taxa de degradação e no volume de distribuição corporal total. A massa de albumina no corpo foi reduzida por contração em 25% dos compartimentos vasculares e extravasculares.

A taxa de triacilgliceróis não diferiu estatisticamente entre as análises feitas aos 7 e 31 dias nos animais que receberam 100 mg/kg do extrato do extrato se *S. trilobata* (Tabela 6). Os tratamentos com extratos nas doses de 40 e 200 mg/kg não foram efetivos na redução das concentrações de triacilgliceróis no sangue, pois tiveram aumento médio no nível de triacilgliceróis de 58% e 186%. E aos animais que receberam 400 mg de extrato tiveram redução média no nível de triacilgliceróis de 72%.

A ocorrência de níveis elevados de triacilgliceróis em coelhos da raça da Nova Zelândia devido à aplicação de aloxano foi observado também por HUANG et al. (1993) e por RIBEIRO (2001). Essa alta concentração de triacilgliceróis no sangue

deve-se ao fato de a droga ter provocado a destruição de células- β do pâncreas (BONDY, 1969). Essas células são responsáveis pela produção do hormônio insulina (KRALL, 1983; LEHNINGER, 2000; LUCÍRIO e WUSTHOF, 2000), e a destruição dessas células no pâncreas resulta em severa e persistente redução da insulina sérica (GORRAY et al., 1986). Conseqüentemente, ocorrem alterações na atividade da enzima lipase lipoprotéica. Ela é responsável pela hidrólise dos triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol, influenciando a captação de triacilgliceróis no sangue pelo tecido adiposo (HOWARD, 1987). Na falta de insulina ou na ineficácia desta, a atividade da lipase fica comprometida, ocasionando acúmulo de triacilgliceróis no sangue (MAHAN e KRAUSE, 1994).

JAHROMI e RAY (1993) verificaram redução considerável do nível de triacilgliceróis provocada pelo flavonóides liquiritigenina, em animais experimentais com hipertrigliceridemia. Já SUDHEESH et al. (1997) verificaram que os flavonoides extraídos da fruta *Solanum melongena*, conhecida popularmente com berinjela, eram eficientes no combate à hiperlipidemia, quando administrados em ratos hiperlipidêmicos, numa dosagem de 1 mg/100 g de peso corporal/dia. BOK et al. (1999), estudando os efeitos da mistura de dois flavonóides (naringina + hesperidina) em ratos machos, verificaram redução considerável no nível de triacilgliceróis do fígado.

A redução dos níveis elevados de triacilgliceróis em diabéticos é importante, uma vez que nesses doentes o metabolismo da glicose e dos triacilgliceróis é bastante alterado. Indivíduos diabéticos possuem níveis muito reduzidos do hormônio insulina. Este hormônio auxilia a captura de ácidos graxos livre, na corrente sanguínea, pelo tecido adiposo. Na falta da insulina, os ácidos graxos livres se acumulam na corrente sanguínea. A falta de insulina influencia a ocorrência da hipertrigliceridemia (MAHAN e KRAUSE, 1994), que aumenta o risco de ocorrência de doença arterial coronária. Essas doenças coronárias são as principais responsáveis pelas mortes dos indivíduos portadores de diabetes (PYORAL et al., 1987; STAMLER et al., 1993).

Independente da interação ser ou não significativa, foi feito estudo de regressão das variáveis devido o interesse (Tabela 5).

Observa-se que aos sete dias não houve alteração no peso dos animais devido as diferentes doses de extratos. Entretanto, aos 31 dias houve aumento de peso linearmente a cada dose de extrato fornecido aos animais. Na dose 40 mg o peso estimado pela equação de regressão foi 2,49 kg e com 400 mg houve aumento do peso da ordem de 0,32 gramas passando a 2,81 em média (Tabela 5).

Tabela 5. Equação de regressão do peso, proteína e colesterol de coelhos diabéticos tratados com 40, 100, 200 e 400 mg do extrato foliar de *Sphagneticola trilobata*

(7 dias)	Peso (kg)	31 (dias)
$\hat{y} = 1,7500 \text{ kg}$	$\hat{y} = 2,4524 + 0,0009* \text{ doses}$	$r^2 = 0,85$
(7 dias)	Glicose (mg/dL)	31 (dias)
$\hat{y} = 55,6470 + 1,5864* \text{ doses} - 0,0027^0 \text{ doses}^2$	$\hat{y} = 155,4075$	$r^2 = 0,85$
(7 dias)	Proteína (g/dL)	31 (dias)
$\hat{y} = 55,321 + 0,0794^0 \text{ doses} - 0,0002* \text{ doses}^2$	$\hat{y} = 67,436 - 0,0226* \text{ doses}$	$r^2 = 0,98$ $r^2 = 0,93$
(7 dias)	Colesterol (mg/dL)	31 (dias)
$\hat{y} = - 2,7874 + 1,7832* \text{ doses} - 0,0033* \text{ doses}$	$\hat{y} = 95,8800$	$r^2 = 0,66$

Aos 7 dias a proteína no sangue dos animais teve comportamento quadrático. Pela estimativa da equação de regressão o máximo de proteína foi com 198,5 mg de extrato. Com a dose 198,5 mg de extrato, ponto de máximo, o teor de proteína no sangue foi 63,20 g/dL. Aos 31 dias a taxa de proteína no sangue dos animais teve comportamento linear decrescentes com as sucessivas doses de extratos de 40mg a 400 mg. Com a dose 40 mg do extrato vegetal foi estimado o teor médio 66,53 g/dL de proteína no sangue, com a dose 400 mg de extrato houve redução do nível de proteína de 14% em média passando a 58,4 g/dL.

Aos 7 dias o nível de colesterol teve comportamento quadrático em função das doses de extratos etanólico de *S. trilobata*. Pela estimativa da equação de regressão, o nível de colesterol subiu até a dose 270,18 mg do extrato etanólico de *S. trilobata*. Com esta dose, ponto de máximo, o nível de colesterol chegou a 240,24 mg/dL caindo após doses superiores de extratos. Entretanto, aos 31 dias não houve alteração do nível de colesterol no sangue dos animais em função das doses de extratos (Figura 2).

O nível de creatinina e albumina sanguíneo não foram alterados aos 7 e 31 dias pelos extratos hidroalcoólico foliares de *S. trilobata* nas doses fornecidas ao animais.

Alguns autores (GOMBITZA et al., 1994; BASNET et al., 1994) demonstraram a existência de glicosídeo triterpenóide em algumas plantas medicinais. Esse composto seria responsável pelo aumento da utilização de glicose em animais diabéticos. Também HE et al. (1994), pesquisando a presença de compostos antimicrobianos em *Solanum nigrescens*, identificou o mesmo glicosídeo.

A Figura 2 ilustra a concentração de glicose sanguíneas dos animais hiperglicêmicos aos 7 e 31 dias após as doses dos extratos de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski (mg/kg).

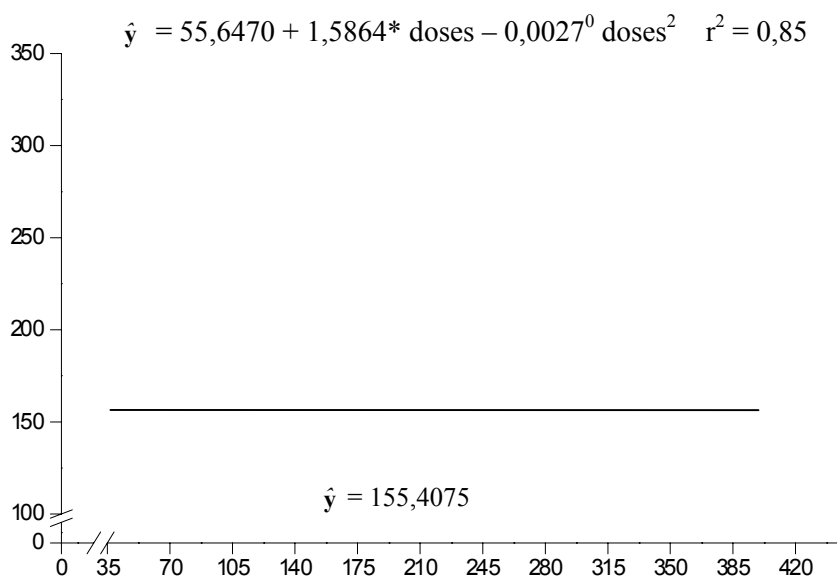


Figura 2. Concentração de glicose em animais diabéticos em função da doses do extrato de *S. trilobata* aos 7 (linha tracejada) e 31 dias (linha sólida).

Aos 7 dias o nível de glicemia teve comportamento quadrático em função das doses de extratos de *S. trilobata*. Pela estimativa da equação de regressão, o nível de glicemia subiu até a dose de extrato de 293,78 mg. Com esta dose, ponto de máximo, o nível de glicose chegou a 288,67 mg/dL caindo após doses superiores do extrato. Entretanto, aos 31 dias não houve alteração do nível de glicose no sangue dos animais devido as doses de extratos (Figura 3).

AJABNOOR (1990) relata que *Aloe barbadensis* Miller (syn.: *A. Vera* L.) possui potente atividade antidiabética, reduzindo a glicose do plasma de ratos jejuando. Em camundongos que apresentavam diabetes induzidas por aloxano, no controle da glicemia que era de 430 mg/dL após 3 dias foi a 433 mg/dL aos 4 dias 432 mg/dL e aos 5 dias 433 mg/dL. Em animais utilizando a droga glibenclamida era antes da administração 430 mg/dL foi a 315 mg/dL, 316 mg/dL e 350 mg/dL respectivamente aos 3, 4 e 5 dias. No mesmo período utilizando-se 500 mg/kg do extrato de *Aloe barbadensis* a

glicemia foi de 430 mg/dL antes do tratamento a 298 mg/dL, 292 mg/dL e 285 mg/dL respectivamente aos 3, 4 e 5 dias. Já o princípio amargo desta planta a glicemia que era de 430 mg/dL antes do tratamento foi a 334 mg/dL, 260 mg/dL e 238 mg/dL respectivamente aos 3, 4 e 5 dias.

Segundo LEBOVITZ, 1978; HSU, 1979, a tolbutamida e glibencalmida são efetivas apenas em casos de destruição parcial das células- β pelo aloxano. Outros mecanismos, como mudanças no receptor de ligação da insulina, e supressão da insulinase são também possíveis.

Na Figura 3 consta o cromatograma de ácido caurenóico dos extratos etanólico do caule, folha e flor.

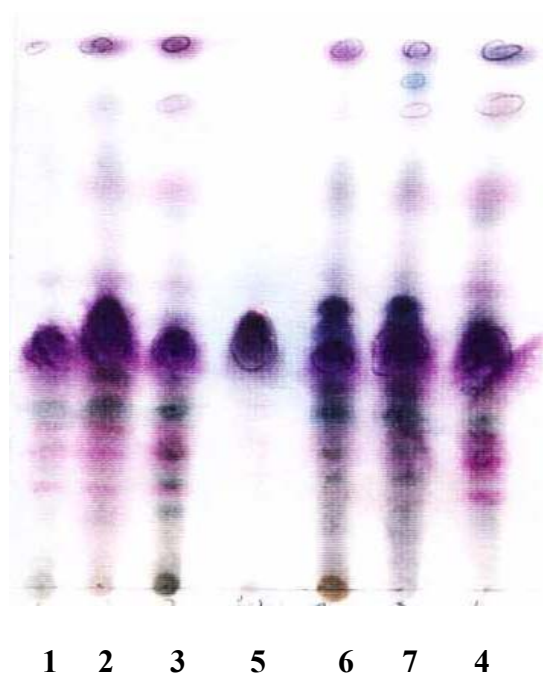


Figura 3. Cromatograma de ácido caurenóico. 1, 2, e 3 extratos etanólico respectivamente do caule, folha e flor e 6, 7 e 4 extratos hexânico do caule, folha e flor. 5 padrão de ácido caurenóico. Eluente hexano/ acetona 8:2 e revelador anisladeído sulfúrico.

Pela Figura 3 pode-se observar a presença de ácido caurenóico nos três órgãos da planta, tanto nos extratos etanólico como hexânico.

5. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o extrato bruto etanólico de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski reduziu o nível de açúcar no sangue de coelhos diabéticos. Os animais diabéticos que foram submetidos aos tratamentos com 200 e 400 mg/kg da fração etanólica de *S. trilobata* tiveram redução na colesterolemia e na concentração de triacilgliceróis. Foi verificada a presença no extrato etanólico e hexânico de *S. trilobata* do diterpeno ácido caurenóico pela CCD.

LITERATURA CITADA

AJABNOOR , M.A. Effect of Aloes on blood glucose levels in normal and alloxan diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.28, n.2, fev., p.215-220, 1990.

AKHTAR, M.S.; KHAN, M.A.; MALIK, M.T. Hypoglycaemic activity of *Alpinia galanga*, rhizome and its extracts in rabbits. **Fitoterapia**, v.73, p.623-628, 2002.

ALI, L.; KHAN, A.K.A.; HASSAN, Z. et al., characterization of the hypoglycemic effects to *Trigonella foenum graecum* seed. **Planta Medica**, New York, v.61, p.358-360, 1995.

ALMEIDA, H.G.G. **Diabetes mellitus: uma abordagem simplificada para profissionais de saúde**. Ed . Henriqueta Galvanin Guidio de Almeida, São Paulo: Atheneu, 1997, 95p.

ARDUÍNO, F. **Diabetes mellitus**. 3.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1980. 413p.

BAETENS, D.; LAGAE, F.M.; PERRELET, Endocrine pâncreas: three-dimensional reconstruction shows two types of islets of Langerhans. **Science**, v.206, n.4424, p.1323-1324, 1979.

BALASSE, E.O.; HAVEL, R.J. Evidence for and effect of insulin on the peripheral utilization of ketone bodies in dogs. **Am. J. Clin. Invest.**, v.50, p.801, 1971.

BASKIN, D.G. et al. Immunocytochemical identification of cells containing insulin, glucagons, somastotatin, and pancreatic polypeptide in the islets of Langerhans of the guinea pig pancreas with light and electron microscopy. **The Anatomical Record**, v.208, p.567-578, 1984.

- BASNET, P.; KADOTA, S.; SHIMIZU, M. et al. Bellidifolin: a potent hypoglycemic agent in Streptozotocin – induced diabetic rats from *Swertia japonica*. **Planta Medica**, New York, v.60, n.6, p.501-602, 1994.
- BOK, S.H.; LEE, S.H.; PARK, Y.B.; BAE, K.H.; SON, K.H.; JEONG, T.S.; CHOL, M.S. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-e-metil-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **J. Nutrient.**, v.129, p.1182-1185, 1999.
- BONDY, P.K. Disorders of carbohydrate metabolism. In: **Ducan's-diseases of metabolism**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1969. p.225-267.
- BRADLEY, R.F. Diabetic ketoacidosis and coma. In: MARBLE, A.; WHITE, P.; BRADLEY, R.F.; KRALL, L.P., ed. **Joslin's diabetes mellitus**. 11. ed. Filadélfia, Lea & Febiger, p.861, 1971.
- COX, P.A.; BALICK, M.J. The ethnobotanical approach to drug discovery. **Scientific American**, p.82-87, 1994.
- DANOWSKY, T.S. Non ketotic coma and diabetes mellitus. **Med. Clin. N. Am.**, v.55, p.913, 1971.
- DRUPT, F. **Pharm. Biol.**, v.9, p.777, 1974.
- ENSMINGER, A. H. et al. **Diabetes melitus: foods and nutrition encyclopedia** London: RCC, 1994. p.555-575.
- FELIG, P.; MARLISS, E.; OHMAN, J.L.; CAHILL, G.F. Plasma aminoacid levels in diabetic ketoacidosis. **Diabetes**, v.19, p.727, 1970.
- FLEGG, H.M. **Ann. Clin. Biochem.**, v.10, p.79-84, 1973.
- FOSS, M.C. Diabetes no Brasil. Recent on the role of sugar in the modern diet. São Paulo: s.ed., 1989.
- GLOMBITZA, K.W.; MAHRAN, G.H.; MIRHOM, Y.W. et al. Hipoglycemic and antihiperglycemic effects of *Zizyphus spina-christ* in rats. **Planta Médica**, New York, v.60, n.3, p.197-296, 1994.
- GLOMBITZA, K.W. et al. Hipoglycemic and antihiperglycemic effects of *Zizyphus spina-christ* in rats. **Planta Médica**, New York, v.60, n.3, p.197-296, 1994.
- GOLDBERGER, E. A prime of water, electrolytes and acid-syndromes. Filadélfia, Lea & Febiger, p.133, 1965.
- GONZALEZ, M.; ZARZUELO, A., GAMEZ, M.J. et al. Hypoglycemic activity of olive leaf. **Planta Medica**, New York, v.58, n.6, p.485-574, 1991.
- GORRAY, K.C.; BASKIN, D.G.; BRODSKY, Response of pancreatic B cells to alloxan and streptozotocin in the guinea pig. **Pancreas**, New York, v.1, p.130-138, 1986.

GUYTON, A. C. **Tratado de fisiología médica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1977. p.753-763.

HE, X.G.; MOCEK, U.; FLOSS, H.G. et al. An antifungal compoud from *Solanum nigrescens*. **Journal of Ethnopharmacology**, Chicago, v.43, p.173-177, 1994.

HOWARD, B.V. Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. **J. Lipid Res.**, v.28, p.613-628,1987.

HSU, C.Y.; BROKKER, G.; PEACH, M.J.; WESTFALL, T.C. Inhibitions of catecholamine release by tolbutamide and sulphonylureas. **Science**, v.187, p.1086-1086, 1979.

HUANG, H.C.; WENG, Y.I.; LEE, C.R.; JAN, T.R.; CHEN, Y.L.; LEE, Y.T. Protection by scoparone against the alterations of plasma lipoproteins, vascular morphology and vascular reactivity in hyperlipidaemic diabetic rabbit. **Br. J. Pharmacol**, v.110, p.1508-1514, 1993.

IBANEZ-CAMACHO, R.; MECKES-LOZOYA, M.; MELADO-CAMPOS, V. The hypogluceemic effects of *Opuntia streptacantha* studied in different animal experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v.7, p.175-181, 1983.

IYER, U.M.; MEHTA, N.C.; MANI, I.; MANI, U.V. Studies on the effect of dry Sundakai (*Solanum torvum*) powder supplementation on lipid prolife, glycated proteins and amino acids in non-insulin dependent diabetic patients. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.42, p.175-182, 1992.

JAHROMI, M.A.F.; RAY, A.B. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Pterocarpus marsupium*. **Journal of Natural Productes**, Índia, v.56, n.7, p.989-994, 1993.

KAMESWARARAO, B.; KESAVULU, M.M.; APPARAO, C. Evoluation of antidiabetic effect of *Momordica cymbalaria* fruit in alloxan-diabetic rats. **Fitoterapia**, v.74, p.7-13, 2003.

KASSIRER, J.P. **New Eng. J. Med.**, v.285, p.385, 1971.

KATO, A.; MIURA, T.; YANO, H. et al. Supressive effects of polygonati rizoma on hepatic glucose output, GLT2 m RNA expresión and its protein content in rat liver. **Endocrine Journal**, v.41, n.2, p.139-144, 1994.

KATO, A.; MIURA, T. Hypoglicemic action of the rhizomes of *Polygonatm officinale* in normal and diabetic mice. **Planta Medica**, New York, v.60, n.3, p.197-296, 1994.

KEDAR, P.; CHAKRABARTI, C.M. **Indian J. Exp. Biol.**, v.20, p.232-235, 1982.

KIM, Y.M.; KIM, S.G.; KHIL, L.Y. et al. Brasilin stimulates the glucose transport in 3t3-L1 cells. **Planta Medica**, New York, v.61, p.297-301, 1995.

KOO, M.W.L. Aloe Vera: antiulcer and antidiabetc effects. **Journal of Phytotherapy Research**, v.8, p.461-464, 1994.

- KRALL, L.P. **Manual do diabete de Joslin**. 11 ed. São Paulo: Livraria Roca, 1983. 32p.
- KREISBERG, R.A. Diabetic Ketoacidosis. New concepts and trends im pathogenesis and treatment. **Ann. Int. Med.**, v.88, p.681, 1978.
- KUMAR, G.P.; SUDHEESH, S.; VIJAYALAKSHMI, N.R. Hypoglycaemic effect of *Coccinia indica* mechanism of action. **Planta Medica**, v.59, p.330-332, 1993.
- KUMARI, K.; AUGUSTI, K.T. Antidiabetc effects of S-Methylcysteine Sulphoxide on Alloxan diabetes. **Planta Medica**, New York, v.61, p.72-74, 1995.
- LEBOVITZ, H.E.; FEINGLOS, M.N. Sulfonylurea drugs: Mechanism of action and therapeutic usefulness. **Diabetes Care**, v.1, p.189-198, 1978.
- LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2000. 839p.
- LOLITKAR, M.M.; RAO, M.R.R. Pharmacology of hypoglycaemic principle isolated from the fruits of *Charantia purpurea* Linn. **Indian Journal of Medical Research**. v.28, n.5, p.129-133, 1966.
- LUCÍRIO, I.D.; WUSTHOF, R. A epidemia do sangue doce. **Super Interessante**, v.14, n.1, p.31-34, 2000.
- MAHAN, L.K.; KRAUSE, M.T.A. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 8.ed. São Paulo: Roca, 1994. 957p.
- MARKS, H.H.; KRALL, L.P. Onset, course, prognosis and mortality in diabetes mellitus. In: MARBLE, A.; WHITE, P.; BRADLEY, K.F.; KRALL, L.P., ed, **Joslin's diabetes mellitus**. 11. ed. Filadélfia, Lea & Febiger, p.209, 1971.
- MEDINA, F.S.; GAMEZ, M.J.; JIMENEZ, I. et al. A. Hypoglicemic activity of juniper "berries". **Planta Medica**, New York, v.60, n.3, p.197-200, 1994.
- MILECH, A. Fisiopatologia da cto-acidose diabética. In: TEIXEIRA, A.G.F., ed. **Comas e Urgências em Diabetes**. Salvador, p.16, 1976.
- MIYAKE, Y.; YAMAMOTO, K.; TSUJIHARA, N.; OSAWA, T. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. **Lipids**, v.33 n.7, p.689-695, 1998.
- MORDESS, J.P.; ROSSINI, A.A. Animal models of diabetes. **The American Journal of Medicine**, v.70, p.353-360, 1991.
- MOSSA, J.S.; AL-YAHYA, M.A.; AL-MESHAL, I.A. **Medicinal Plants of Saudi Arabia**, vol.1. King Saud University Libraries, Riyadh, pp.54, 286. 1987.
- MURTIASHAW, M.; BAYNES, J.W.; THORPE, S.R. Albumin catabolism in diabetic rats. **Archieves of Biochemistry and Biophysics**, v. 225, n.1, p.256-262, 1983.
- O'LEARY, N.; PEMBROKE, A.; DUGGAN, F.F. **Clinical Chemistry**, v.38, p.1749-1751, 1992.

PERFUMI, M.; ARNOLD, N.; TACCONI, R. Hypoglycemic activity of *Salvia fruticosa* Mill. from Cyprus. **Journal of Ethnopharmacology**, Chicago, v.34, p.135-140, 1991.

PETERS, T. **Clim. Chem.**, v.14, p.1147, 1968.

PYORAL, K.; LAAKSO, M.; UUSITUPA, M. Diabetes and atherosclerosis. An epidemiological view. **Diabetes Metab. Rev.**, v.3, p.463-528, 1987.

RAMOS, R.R.; SAENZ, J.L.F.; AGUILAR, F.J.A. Anti-hiperglycemic effects of some edible plants. **Journa of Ethnopharmacology**, Chicago, v.48, p.25-32, 1995.

RICHARDSON, M.; HADCOCK, S.J.; HATTON, B.D.; WINOCOUR, P.D.; HATTON, M.W. Proteoglycan alterations in the aortic intima-media of alloxan-diabetic rabbits: an ultrastructural and biochemical study. **Experimental and Molecular Pathology**, v.62, n.3, p.145-159, 1995.

ROSS, M.H.; REITH, E.J.; ROMRELL, L.J. **Histologia: texto e atlas**. 2.ed. São Paulo: Panamericana, 1993. 907p.

RUDERMAN, N.B.; GOODMAN, M.N. Inhibition of muscle acetoacetate utilization during diabetic ketoacidosis. **Am. J. Physiol.**, v.226, p.136, 1974.

SHALEV, A. Hope for insulin mimetic oral antidiabetic drugs. **European Journal of Endocrinology**. v.141, p.561-562, 1999.

SHARMA, S.B., NASIR, A., PRABHU, K.M.; MURTHY, P.S.; DEV, G. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology**. v.85, p.201-206, 2003.

SHERWIN, R.S.; HENDLER, R.G.; FELIG, P. Effect of ketone infusions on aminoacid and nitrogen metabolism in man. **J. Clin. Invest.**, v.55, n.1, p.382, 1975.

SIEST, G.; HENNY, J.; SCHIELE, F. **Intrepretation des examens de laboratoire**. Karger ed., 1981, p206-223.

SILVA, F.R.M.B.; SZPOGANIEZ, B.; PIZZOLATTI, M.G.; WILLRICH, M.A.V.; SOUSA, E. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v.83, p.33-37, 2002.

SMITH, E.L.; HILL, R.L.; LEHMAN, I.R. **Principles of biochemistry: mammalian**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988, 619p.

STAUFFACHER, W.; RENOLD, A.E. Pathophysiology of diabetes mellitus. In: MARBLE, A.; WHITE, P.; BRADLEY, R.F.; KRALL, L.P., ed. **Joslin's diabetes mellitus**. 11. ed. Filadélfia, Lea & Febiger, p.35, 1971.

TRINDER P. **Ann. Clin. Biochem.** v.6, p. 24, 1969.

UGOCHUKWU, N.H.; BABADY, N.E. Antioxidant effects of *Gongronema latifolium* in hepatocytes of rat models of non-insulin dependent diabetes mellitus. **Fitoterapia**, v.73, p.612-618, 2002.

VALENSI, P.E.; BEHAR, A.; CHAMPVALLINS, M.M.; ATTALAH, A.; BOULAKIA, F.C.; ATTALI, J.R. Effects of purified micronized flavonoid fraction on capillary filtration in diabetic patients. **Diabetic Medicine**, v.13, p.882-888, 1996.

WEISS, L.; GREEP, R.O. **Histologia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. 1016p.

WHITE, A.; HANDLER, P.; SMITH, E.L Renal function and the composition of urine. In: KOGAKUSHA, **Principles of Biochemistry**. 5. ed. New York, McGraw-Hill Book Co., p.542, 1979.

WOLFF, S.P.; DEAN, R.T. Glucose autoxidation and protein modification. **Journal of Biochemistry**, v.245, p.243-250, 1987.

CAPÍTULO 7

EFEITO DA HOMEOPATIA NA CONCENTRAÇÃO DE TANINO DE *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

1. INTRODUÇÃO

Todo agente que atua no organismo receberá reação deste, em resposta, com maior ou menor intensidade, de acordo com suas possibilidades biológicas, e seu maior ou menor grau de equilíbrio da Energia Vital, assim como da intensidade dos agentes agressores (SCHEMBRI, 1976). O organismo reage bioquimicamente se os agentes de agressão tiverem densidade quantitativa maior, ou energeticamente se a ação agressiva for de natureza energética, qualitativa (SCHEMBRI, 1976).

Para os homeopatas, a boa saúde é o resultado do equilíbrio entre a mente e o corpo, o qual é mantido por uma “Força Vital” que regula a capacidade do corpo humano de se curar a si próprio. Segundo a doutrina do vitalismo, todos os seres vivos possuem uma força particular, para além dos seus estados físicos e químicos, que dá origem aos fenômenos vitais, e até a matéria inanimada pode conter vitalidade. Hahnemann aplicou essa doutrina tanto ao corpo humano como às substâncias aparentemente inertes e pertencentes a todos os reinos da matéria. A força vital de todas as plantas, minerais ou animais podia, pois, ser aproveitada para produzir um medicamento

poderoso quando “potencializado”. Hahnemann considerava que a doença resultava de um desequilíbrio interno que afetava a força vital do corpo humano, perturbando assim a sua harmonia. Quando essa força vital é pressionada ou enfraquecida por esse desequilíbrio, pode desenvolver-se a doença. Ao estimular a capacidade do corpo de se curar a si próprio para combater o desequilíbrio, a força vital produz sintomas. Estes podem manifestar-se externamente, por meio de febre ou erupções cutâneas, ou sob a forma de estados psicológicos ou emocionais, como a vontade de chorar ou a irritabilidade. Um medicamento eficaz terá de ajudar a força vital a repor o equilíbrio interno, o que fará desaparecer os sintomas originados pelo desequilíbrio, e esse é, afinal, o objetivo dos homeopatas. Hahnemann adaptou o princípio de *similia similibus curentur*, ou “curar o semelhante pelo semelhante”, enunciado pela primeira vez no século V a.C., por Hipócrates. De acordo com o princípio de curar o semelhante pelo semelhante, também conhecido por Lei da Similaridade, substâncias capazes de provocar certos sintomas num corpo até então saudável podem curar esses mesmos sintomas num indivíduo doente. Por exemplo, a beladona seria usada para curar a escarlatina, visto que os sintomas de envenenamento pela beladona são semelhantes aos da escarlatina. Com as suas “provas” de remédios, Hahnemann procurou determinar o conjunto de sintomas, ou quadro clínico, produzido pela ingestão de uma substância. Se o quadro clínico se aproximava do conjunto de sintomas produzidos pela doença, ou pelo desequilíbrio, num indivíduo, esse remédio era o indicado para estimular a força vital a tratar o problema. O segredo era, pois e continua a ser, para a homeopatia clássica – determinar qual o remédio que melhor corresponde ao quadro clínico do doente. Muitas das substâncias com as quais se fazem remédios são muito potentes ou mesmo tóxicas. Na preparação dos seus remédios, Hahnemann empregava-as em doses muito pequenas, mas, para sua consternação, os doentes sofriam de efeitos secundários, ou “agravamentos”, como ele lhes chamava. Desenvolveu uma técnica chamada “potencialização”, que consistia em diluir e agitar vigorosamente o medicamento, ou bate-lo contra uma superfície dura durante a preparação. Essa agitação violenta, que Hahnemann chamava “sucussão”, tornava o medicamento mais eficaz, apesar de muito diluído. Para surpresa de Hahnemann, as suas investigações mostraram que substâncias extremamente diluídas, mas dotadas da energia turbulenta conferida pela “potencialização”, tornavam-se muito mais eficazes do que as diluídas normalmente, produzindo um efeito rápido, suave e, sobretudo duradouro. Assim, os homeopatas deveriam receitar doses infinitesimais e completamente seguras (LOCKIE, 2000).

Quando o organismo é exposto a algum estímulo, seja morbífico ou benéfico, a primeira ação que se verifica é a alteração do grau de vibração no plano dinâmico. Dentre os muitos estímulos rotineiros aos quais estamos expostos constantemente, o plano dinâmico é o mais capaz de responder e se ajustar sem nenhum efeito notável nos níveis mental, emocional ou físico (VITHOULKAS, 1980).

Se, no entanto, a força do estímulo for mais forte do que a força vital, o mecanismo de defesa é chamado a agir contrapor-se ao estímulo. Caso contrário, qualquer estímulo poderoso alteraria o estado de todo o organismo, sem defesa, e a morte se daria rapidamente. Há limiares abaixo do qual o plano dinâmico dos indivíduos opera os estímulos sem mudanças visíveis e acima do qual o mecanismo de defesa gera processos que são percebidos pelo indivíduo como sintomas em um ou mais níveis (VITHOULKAS, 1980).

Antes que os verdadeiros sintomas se desenvolvam, há o período latente, durante o qual o mecanismo de defesa começa a se ajustar ao efeito do estímulo. A mudança do plano dinâmico, naturalmente, é instantânea, mas pode passar por vários períodos de tempo antes que o mecanismo de defesa gere sintomas que se expressam no nível físico, emocional ou mental. Dependendo das circunstâncias, esse período latente pode ser de horas, dias, semanas ou até de meses (VITHOULKAS, 1980).

Distinguem-se, desse modo, as reações do organismo: aos medicamentos químicos inoculados, à ação dos antígenos nas vacinações, aos agentes morbígenos nas doenças e, por fim, às interferências medicamentosas energéticas, dinamizadas durante os experimentos em organismos sadios (SCHEMBRI, 1976).

2. REVISÃO DE LITERATURA

A homeopatia é considerada ciência. Foi sistematizada pelo médico Samuel Hahnemann visando todos os seres vivos. Foi estudada primeiro na medicina humana depois na Veterinária e Zootecnia e atualmente na Agricultura. Há resistências, por razões pessoais, grupais e de maior escalão (econômicos e intelectuais) contra o crescimento da ciência da homeopatia na agricultura. A homeopatia é cosmopolita sendo procedimento popular. A homeopatia não é propriedade nem exclusividade médica (CASALI, 2000).

2.1. Os princípios da homeopatia

A homeopatia se fundamenta em quatro princípios básicos: similitude, experimentação em organismo sadio, doses mínimas e medicamento único.

A) Princípio da similitude

No princípio da similitude ou do semelhante, semelhante cura semelhante, e foi ditado por Hahnemann, em 1796, antes declarado por Paracelso e Hipócrates (COUTINHO, 1993).

Toda substância que possua a capacidade de expressar sintomas, de qualquer ordem, no organismo sadio, será capaz de curar, em doses adequadas, o organismo enfermo com os mesmos sintomas (MORENO, 1999b).

O organismo dispõe de recursos próprios para livrar-se, espontaneamente, de estados mórbidos que começam a implantar-se nele, porém, com o persistentes hábitos agressivos, pensamentos e desejos desarmônicos, a enfermidade se agrava, superando o limiar de tolerância do organismo e do poder de auto cura. Surgem então os sintomas ou as sensações desagradáveis seguidas da busca de recursos terapêuticos com finalidade de livrar-se dos efeitos dos próprios atos (SCHEMBRI, 1976).

B) Experimentação em organismo sadio

As primeiras experiências foram feitas por Hahnemann em si próprio, ingerindo periodicamente doses de quina pura. Aos poucos começaram a surgir sintomas que simularam verdadeiras crises de malária: calafrios, sudorese, ruborização das faces, febre com intermitência, etc., sem qualquer participação ativa do micróbio da malária, o *Plasmodium*. Observou que suas suposições se confirmavam durante as repetidas experiências com quina. Hahnemann, experimentando muitas outras substâncias, confirmou a presença constante do mecanismo de reação do organismo quando submetido à ação dessas mesmas substâncias, produzindo sempre sintomas artificiais, com características patogênicas distintas (MORENO, 1999b).

Hahnemann concluiu que a “quina cura a malária porque é capaz de produzir sintomas semelhantes aos da malária” ou seja, causa a malária artificial em organismos saudáveis. Ele, seus amigos e muitos outros estudiosos, submeteram-se às experimentações, o que possibilitou a publicação, no ano de 1796, do “Ensaio sobre o novo princípio para achar as virtudes curativas das substâncias medicinais”. Foi estabelecido desta forma o Segundo Princípio Homeopático: Experimento em Organismo São” (MORENO, 1999b).

C) Doses mínimas

Atualmente, não há dúvidas sobre o poder das doses mínimas homeopáticas, pois a Ciência vive a Era da Energia. Além disto, muitos medicamentos não homeopáticos são utilizados em doses mínimas, mesmo no combate a grandes males. Como exemplo todas as vacinas, a diluição do Flúor na proporção aproximada de 1 ppm (1 parte por milhão) na calcificação dentária; a ação do cobre na diluição de 1 ppt (1 parte por trilhão), (o cobre é metal insolúvel mas após a quarta trituração já se torna

solúvel) correspondendo à sétima diluição homeopática, capaz de estimular a glicose muscular (transformação da glicose no organismo). No Manual da Farmacologia Experimental, de autoria de diversos cientistas renomados da Alemanha, há citação da experiência com Nitrato de Prata (*Argentum nitricum*) diluído de 1 para 100.000.000, correspondendo à quarta centesimal homeopática – capaz de matar estafilococos. A tiroxina diluída na proporção de 1 para 10 quatrilhões (oitava diluição homeopática), estimula o metabolismo orgânico, isto é, conjunto das reações físico-químicas capaz de transformar os alimentos em energia essencial à vida, energia essa que se transmuta em trabalho e desempenho das atribuições humanas (KENT, 1996).

Conclui-se que a Homeopatia funciona, essencialmente, em níveis de energia, com pleno ajuste à Era da Energia, o que torna doses mínimas (soluções não moleculares) tema de atualidade científica (KENT, 1996).

Quando se faz o tratamento de algum doente ou se processam as pesquisas patogénicas (experimentação em organismos sadios) o mecanismo se realiza por reações bioenergéticas, diferenciando-se do mecanismo bioquímico que se verifica quando são administradas doses ponderais ou maciças, segundo a Escola Clássica de Medicina (KENT, 1996).

Da diluição, que é a redução do número de moléculas de qualquer substância em determinado volume de diluente, Hahnemann passou ao outro método de preparação de medicamentos: o de transformação da matéria pelo aumento de seu poder energético que ele denominou dinamização. O medicamento-substância transforma-se em medicamento-energia. Diz Hahnemann: “essa mudança notável nas qualidades dos corpos naturais desenvolvem os poderes dinâmicos, latentes, até agora despercebidos, como se tivessem adormecidos, ocultos...”. E prossegue: “... essa dinamização se obtém por ação mecânica, por trituração ou agitação de suas menores partículas, utilizando-se veículo indiferente ou inerte. Esta lei física, fisiopatogênica da natureza, não havia sido descoberta antes de meu tempo ...” (KENT, 1996).

D) Medicamento único

Segundo Hahnemann, os medicamentos só devem ser administrados isoladamente, um de cada vez, por ser mais racional e de acordo com a natureza e, principalmente, por ser impossível “prever como duas ou mais substâncias medicinais poderiam, conjugadas, mutuamente alterar e obstar as ações de cada uma no

organismo”. Um único medicamento produz sintomas na experimentação, resultado da interação da sua força medicinal com a força vital de cada experimentador. Os sintomas são efeitos de jogo de forças conhecidas, de modo que a resultante é facilmente percebida e identificada. Mas se aplicada a mais de um medicamento, a resultante será imprevisível, incontrolável e não haverá meios de se avaliar os efeitos no organismo (MORENO, 1999b).

2.2. Pesquisa sobre homeopatia nas plantas

A homeopatia é a ciência das preparações não-moleculares, das diluições infinitesimais e das soluções altamente diluídas e dinamizadas, sendo considerada ciência da área informacional (visão biocibernética). As preparações homeopáticas agem em substratos de células animais, altera o ciclo de carrapatos, lagartas, formigas, pulgões; equilibra o número de indivíduos das populações de insetos; interfere com o sistema de identificação de insetos-praga; promove a descontaminação de culturas de tecidos vegetais, dentre inúmeros efeitos importantes fora da medicina humana. A homeopatia atua nos organismos vivos de modo natural, como se fosse intrínseca aos sistemas vivos e ao Princípio Vital dos organismos. Ainda, a homeopatia atua respeitando e estimulando os mecanismos de reparo (cura) promovendo equilíbrio e homeostase (CASALI, 2003).

Testando diversos preparados homeopáticos na dinamização CH200 com relação à inibição do crescimento e produção de aflatoxina pelo fungo *Aspergillus parasiticus*, SINHA e SING (1983) obtiveram 100% de eficiência com o preparado *Sulphur*, enquanto *Graphites*, *Silicea*, *Dulcamara* e *Baptisia* atingiram 48 e 65%. KHANNA e CHANDRA (1976) estudaram os efeitos das dinamizações 1 a 200, de sete preparados homeopáticos, sobre a podridão dos frutos de tomate causados por *Fusarium roseum*. Os frutos de tomate foram inoculados com esporos germinativos do fungo e deixados incubar por oito dias. Após este período, foram feitas avaliações que indicaram inibição de 100% do crescimento pelo preparado *Arsenicum album*, na dinamização CH1 e *Kali iodatum* CH149.

FAZOLIN et. al. (1999), após a aplicação de preparados homeopáticos em *Cerotoma tingomarianus*, (Coleóptera: Chrysomelidae), inseto desfolhador e principal praga da cultura do feijoeiro no Estado do Acre, obtiveram resultados de não preferência no consumo destes insetos quanto às plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L. cv.

Carioquinha) tratadas com algumas preparações homeopáticas. Foi evidenciado o potencial de utilização de tais preparados no manejo integrado de adultos de *C. tingomarianus* em campo (FAZOLIN et. al.1999).

Muitas experiências com homeopatia em vegetais vêm sendo realizadas por agricultores de vários pontos do Brasil, e mesmo de outros países, como Inglaterra e Cuba, com resultados positivos em relação ao aumento da resistência a parasitas e doenças, tolerância a condições físicas impróprias, florescimento, quebra de dormência de sementes e produção de mudas saudáveis (ARENALES, 1998).

Segundo CASTRO (1999a), a análise da origem dos desequilíbrios nos vegetais determina o tratamento homeopático das plantas e a escolha da preparação homeopática com base na patogênese é o caminho a longo prazo de modo a não correr o risco da restrição ao isoterápico. Ainda que a planta possua riquíssimos mecanismos de homeostase, via síntese bioquímica de compostos do metabolismo secundário, os sintomas físicos são considerados mais fáceis nos diagnósticos e na aplicação do princípio da semelhança. Exemplo claro foi relatado por CASTRO (1999) no uso da solução homeopática *Silicea* em plantas com crescimento estiolado ou atacado de míldio no inverno além do uso nas florações precoces e contra fungos em geral. ARENALES (1998) cita o uso da preparação homeopática *Carbo vegetabilis* nas ocorrências de geada, o uso do nosódio em formigas saúva e lagarta do coqueiro (ANDRADE, 2000).

Há citações na bibliografia sobre a pesquisa do preparado homeopático denominado *Lachesis* em fumo que 24 horas após a aplicação reduziu à metade o número de partículas de vírus nos fragmentos de folhas. Essa pesquisa demonstra também que o preparado homeopático é ativo em fragmentos de tecidos vegetais vivos e que a vitalidade presente responde ao estímulo ou informação da homeopatia ou preparado homeopático (CASALI, 2002).

Outro modo de ação da homeopatia foi revelado nas pesquisas com tomate quando os frutos que receberam *Kali iodatum* e *Thuya* não permitiram a instalação de *Fusarium roseum*, fungo causador de doença nos frutos. A homeopatia preveniu o ataque e estabelecimento de fungos fitopatogênicos (ANDRADE, 2000).

Destaque deve ser concedido à ação inibidora contra fungos, da homeopatia *Sulphur* em produtos armazenados que continham vitalidade pois eram grãos integrais, com o embrião. *Silicea* e *Dulcamara* também causaram inibição no crescimento de fungos eliminando 90% do micélio comparado à testemunha. Considerando-se que a ciência da Homeopatia tem revelado ser o equilíbrio das diversidades a face mais

importante da vitalidade coletiva, a escolha das substâncias, pela lei da semelhança, deve priorizar aquelas que preservam os agentes causadores originais antes da vulnerabilidade do organismo ter aberto espaço aos invasores (CASALI, 2002).

3. MATERIAL E METODOS

Foram conduzidos três experimentos onde foram testados os efeitos de preparados homeopáticos em plantas da espécie *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski.

Plantas de *S. trilobata* foram obtidas a partir de mudas já enraizadas cedidas pelo Grupo Entre-Folhas (UFV). As mudas foram plantadas em vasos de 2 litros, preenchidos com substrato constituído por solo:adubo orgânico (húmus de minhoca) na proporção de 3:1. Após uma semana foi iniciado o tratamento. As análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa SAS 8,0 (System of Analyses Statistics).

3.1. Ensaio preliminar: Efeito da posição das folhas na concentração de tanino

Com o intuito de se avaliar a concentração de tanino em folhas de diferentes posições no ramo, foram colhidos ramos com 6 pares de folhas cada. Os tratamentos constituíram-se das 6 posições dos pares de folhas nos ramos, realizando-se 5 repetições, totalizando 30 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi constituída de 2 ramos por planta, sendo que os valores utilizados nas análises estatísticas foram obtidos da soma dos resultados provenientes de pares de folhas correspondentes dos 2 ramos colhidos por planta.

3.2. Primeiro Experimento: efeito do preparado homeopático *Sulphur*

Os tratamentos constituíram-se de dois fatores: aplicação do preparado homeopático CH3 *Sulphur* (apenas no primeiro dia) e da época de coleta de folhas basais e apicais. Foram 4 regimes de aplicação: a) aplicação as 7 horas; b) 7, 12 e 17 horas; c) 7,

9, 12, 15 e 17 horas; d) 7, 8, 9, 11, 13, 15 e 17 horas. Utilizou-se três testemunhas: e) testemunha (sem aplicação de água); f) aplicações de água às 7, 12 e 17 horas e g) aplicações de água às 7, 8, 9, 11, 13, 15 e 17 horas. As épocas de colheita foram: 1, 3, 5, 7 e 9 dias após a aplicação da homeopatia. O preparado homeopático foi aplicado via água na diluição 20 gotas/L de água, vertendo-se 10 mL por vaso. No tratamento testemunha verteu-se 10 mL por vaso de água usada na diluição do *Sulphur* CH3.

3.3. Segundo Experimento: efeito de quatro preparados homeopáticos em *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

Este experimento constou de dois ensaios: No primeiro foi a combinação de quatro preparados homeopáticos e 5 regimes de aplicação. O segundo ensaio constituiu-se da combinação de uma aplicação (**regime a**) apenas às 7 horas, duas testemunhas e dois tipos de folhas (PP).

No primeiro ensaio foi utilizado o esquema fatorial no delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições. Os tratamentos constaram da combinação de quatro preparados homeopáticos na dinamização (CH₃): a) *Sulphur*, b) *Graphites*, c) *Apis mellifica* e d) *Staphysagria*; e seis regimes de aplicação: 1) 7 horas, 2) 7 e 12 horas, 3) 7, 12 e 17 horas, 4) 7, 9, 12 e 17 horas, 5) 7, 9, 12, 15 e 17 horas, 6) 7, 9, 11, 12, 15 e 17 horas. A diluição foi 20 gotas/L de água. Foram coletadas apenas folhas apicais.

No segundo ensaio, foi utilizado o esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado com dois fatores: preparados homeopáticos e dois tipos de folhas (PP). Foram 4 preparados homeopáticos e duas testemunhas. Os tipos de folhas foram: apicais (AP) e basais (BP). Os quatro preparados homeopáticos foram: a) *Sulphur*, b) *Graphites*, c) *Apis mellifica* e d) *Staphysagria*, na dinamização (CH₃), e as duas testemunhas foram: T₁ – água dinamizada e T₂ – sem aplicação de água. No tratamento T₁ verteu-se 10 mL de água dinamizada CH₃. A diluição foi 20 gotas/L de água

3.4. Análise do tanino

O tanino foi analisado em amostras das folhas apicais e basais.

O método de análise utilizado foi o espectrofotométrico, Método Oficial de Análise da Association of Agricultural Chemist (AOAC, 1970), e as análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Mineral do Departamento de Fitotecnia UFV, descrito no capítulo 2.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Ensaio preliminar

A Tabela 1 contém o resumo da análise de variância da concentração de tanino ao longo dos seis pares de folhas (desde basais até apicais) de plantas de *S. trilobata*.

Tabela 1. Resumo da análise de variância da concentração de tanino em seis posições de folhas de *S. trilobata*

FV	G.L.	Quadrado médio
Posição da folhas nos ramos	5	11,2657**
Resíduo	24	1,0746
C.V.		32,757
Média geral		3,5

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

A análise de variância, indica que houve diferença ($P < 0,01$) na concentração de tanino entre pares de folhas localizadas nas posições do ramo, a 1% de probabilidade pelo teste de F. A Figura 1 representa a variação de tanino nas folhas ao longo dos ramos.

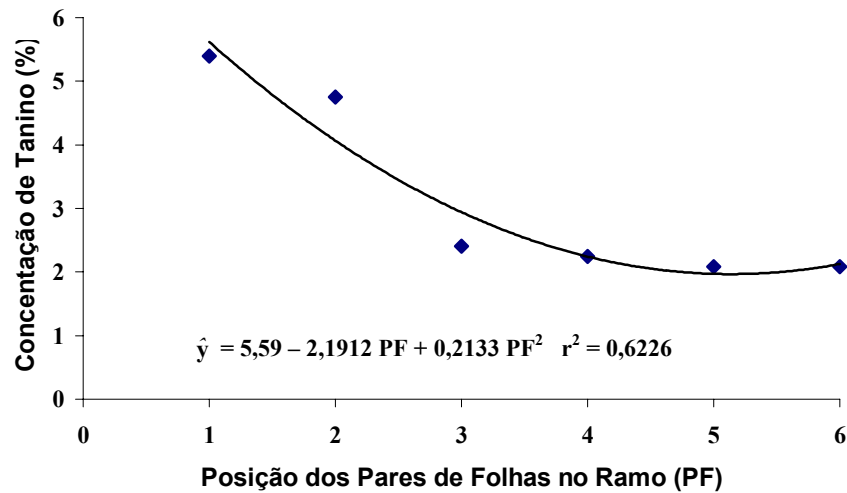


Figura 1. Concentração de tanino ao longo dos 6 pares de folhas no ramo de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. O número 1, indica o primeiro par de folha (folha do ápice), e o 6, indica o sexto par de folha (folha da base).

Assim, observa-se que a concentração de tanino decresceu ao longo dos ramos, sendo maior a concentração nas folhas do ápice.

A concentração de tanino ao longo dos ramos teve comportamento quadrático, com a concentração mínima de tanino estimada pela equação de regressão no par de folhas número 5. Ou seja, do primeiro par de folhas até o quinto par a concentração de tanino decresceu e a partir deste quinto par de folhas a concentração de tanino voltou a crescer. Neste par de folhas número 5, teve a menor concentração de tanino que foi 1,97%.

4.2. Primeiro experimento

A Tabela 2 resume a análise de variância da concentração de tanino de plantas de *S. trilobata* tratadas com homeopatia *Sulphur* CH3 em 5 épocas de colheita (avaliação).

Pelo teste F a 5% de probabilidade, observa-se que o tratamento homeopático só alterou significativamente ($P < 0,05$) a concentração de tanino nas folhas basais. A época de colheita alterou significativamente ($P < 0,01$) a concentração de tanino nas folhas apicais. Na escolha do modelo de regressão que explica a variação na concentração de tanino, ajustou-se a equação linear nas aplicações de homeopatia e uma

quadrática na época de colheita. Entretanto, as equações de regressão explicavam apenas 20 e 19% do efeito da homeopatia e época de colheita sobre a concentração de tanino. Fez-se desta maneira o teste de Tukey das média de concentrações de tanino em função das aplicações de homeopatia nas folhas basais e época de colheita que se encontra na Tabela 3.

Tabela 2. Resumo da análise de variância da concentração de tanino nas plantas de *S. trilobata* tratadas com a homeopatia *Sulphur* CH3

F.V.	G.L.	Quadrado médio	
		Folhas basais	Folhas apicais
Homeopatia (H)	6	0,36583*	0,08738 ^{NS}
Colheita (C)	4	0,22072 ^{NS}	1,5126**
H x C	24	0,09343 ^{NS}	0,17866 ^{NS}
Resíduo	105	0,14705	0,14508
C.V. (%)		27,89	20,02

** , * ^{NS}, indicam significância a 1%, 5% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 3. Médias da concentração de tanino nas folhas basais de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski em função das aplicações da homeopatia *Sulphur* CH₃

Fator	Médias (%)	Comparações
a) <i>Sulphur</i> CH ₃ (7 horas)	1,5966	A
b) <i>Sulphur</i> CH ₃ (7, 12 e 17 horas)	1,4775	AB
c) <i>Sulphur</i> CH ₃ (7, 9, 12, 15 e 17 horas)	1,4355	AB
d) <i>Sulphur</i> CH ₃ (7, 8, 9, 11, 13, 15 e 17 horas)	1,3460	AB
e) sem aplicação de homeopatia ou água	1,2925	AB
f) 3 aplicações de água (7, 12 e 17 horas)	1,2670	AB
f) 7 aplicações de água (7, 8, 9, 11, 13, 15 e 17 horas)	1,2102	B

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si à de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Pela Tabela 3, constata-se que de 1, 3, 5 e 7 aplicações por dia da homeopatia *Sulphur* CH₃ e sem aplicação de água ou três aplicações de água não diferiram entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade e foram estatisticamente superiores a sete aplicações de água na produção foliar de tanino. Entretanto, uma aplicação, apesar de ser semelhante estatisticamente a 3, 5, 7 aplicações, 3 aplicações de água ou sem aplicação de água, ela se destacou numericamente entre as demais. A diferença na concentração de tanino entre uma e 3 aplicações de homeopatia *Sulphur* na dinamização CH₃ foi de 0,12% que representa 8% mais tanino com uma aplicação da homeopatia

Sulphur. Já a diferença entre uma aplicação da homeopatia *Sulphur* e três aplicações de água foi de 0,33% representa 26% mais tanino com uma aplicação.

Pela Tabela 3, observa-se que com o aumento do número de aplicações do preparado homeopático *Sulphur* na dinamização CH3, ocorreu redução da concentração de tanino pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. Portanto, com uma única aplicação da homeopatia *Sulphur* na dinamização CH3, as plantas de *S. trilobata* aumentaram a quantidade de tanino sintetizada.

Tabela 4. Médias da concentração de tanino nas folhas apicais de *S. trilobata* em função dos dias de coleta após aplicação da homeopatia *Sulphur* CH₃

Dias de colheita após a aplicação	Médias	Comparações
5	2,1866	A
7	2,0437	A
9	1,9325	AB
3	1,7507	BC
1	1,6000	BC

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si aos nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Pela Tabela 4 constata-se que no quinto e sétimo dia de colheita houve maior concentração de tanino e no terceiro e primeiro dia a menor. Apesar de não haver diferença estatística significativa entre o quinto, sétimo e nono dia de colheita, numericamente no quinto dia havia maior concentração de tanino. A diferença na concentração de tanino entre o sétimo dia e quinto dia foi 7% e entre o primeiro dia e o quinto dia colheita foi 37%.

4.3. Segundo experimento: Primeiro ensaio

A Tabela 5 ilustra o resumo da análise de variância das concentrações de tanino em função de quatro homeopatias e 5 regimes de aplicação, assim como, o desdobramento do número de aplicações dentro dos preparados homeopáticos e o desdobramento dos preparados dentro do número de aplicações.

Na Tabela principal observa-se efeito significativo ($P < 0,01$) sobre a concentração de tanino apenas do número de aplicações. As quatro homeopatias e a interação homeopatia e número de aplicações não alteraram significativamente ($P > 0,05$) a concentração foliar de tanino.

Tabela 5. Resumo da análise de variância da concentração de tanino nas folhas apicais de *S. trilobata*

F.V.	G.L	Quadrado médio e significância
Homeopatia (H)	3	0,00609833 ^{NS}
Nº Aplicações (N-Ap)	4	0,09802063 **
H x N-Ap	12	0,00238886 ^{NS}
Resíduo	60	0,00211583
C.V. (%)		9,95
Média Geral		0,4622
Nº Aplicações dentro H.		
Homeopatia		
1 – <i>Sulphur</i> CH ₃	4	0,024083 **
2 – <i>Graphites</i> CH ₃	4	0,032592 **
3 – <i>Apis mellifica</i> CH ₃	4	0,022680 **
4 – <i>Staphysagria</i> CH ₃	4	0,025833 **
Homeopatia dentro N-Ap		
Nº aplicações		
1	3	0,001906 ^{NS}
2	3	0,001608 ^{NS}
3	3	0,007342 *
4	3	0,000490 ^{NS}
5	3	0,004308 ^{NS}

** e ^{NS}, indicam respectivamente significativo e não significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Na Tabela dos desdobramentos, observa-se efeito significativo do número de aplicações ($P < 0,01$) sobre a concentração de tanino em todas as quatro homeopatias aplicadas. As homeopatias, só tiveram efeito significativo ($P < 0,05$) sobre a concentração de tanino, quando foram aplicadas três vezes (no mesmo dia).

Na Tabela 6 consta o teste de Tukey das médias de homeopatias e número de aplicações sobre a concentração de tanino.

Tabela 6. Teste de Tukey das médias da concentração de tanino nas folhas apicais em função do número de aplicações das homeopatias *Sulphur*, *Graphites*, *Apis mellifica* e *Staphysagria* na dinamização CH₃

Nº aplicações	Preparados Homeopaticos			
	<i>Sulphur</i>	<i>Graphites</i>	<i>Apis mellifica</i>	<i>Staphysagria</i>
1	0,34 b A	0,33 b A	0,37 b A	0,37 b A
2	0,45 a b A	0,47 a b A	0,48 a b A	0,44 b A
3	0,37 b B	0,42 b A B	0,41 b A B	0,48 a b A
4	0,53 a A	0,54 a A	0,52 a A	0,54 a A
5	0,49 a A	0,55 a A	0,55 a A	0,57 a A

Tukey (5%) = 0,09

Letras minúsculas: Colunas e Letras maiúsculas: Linhas.

Pelo teste de Tukey, Tabela 6, observa-se que dentro de cada preparado homeopático (coluna), 4 e 5 aplicações proporcionaram maior concentração de tanino nas folhas apicais. A menor concentração de tanino ocorreu com uma aplicação em todos os preparados homeopáticos. Pelo teste de Tukey houve diferença entre preparados homeopáticos apenas com três aplicações, conforme verificado também na Tabela 5.

4.3. Segundo experimento: Segundo ensaio

A Tabela 7 ilustra o resumo da análise de variância dos dados de concentração de tanino em função da aplicação de quatro homeopantias (*Sulphur*, *Graphites*, *Apis mellifica* e *Staphysagria*) mais as duas testemunhas (T₁ e T₂) e tipo de folhas, ápice e base, assim como o desdobramento tipo de folha (PP) e os tratamentos.

Tabela 7. Resumo da análise de variância

F.V.	G.L	Quadrado médio e significância
Homeopatia (H)	5	0,19202375 **
Parte da planta (PP)	1	0,18376875 **
H x PP	5	0,02173375 *
Resíduo	36	0,00730625
C.V. (%)		11,16
Média Geral		0,76
Parte da planta dentro de H		
Tratamento		
1 – Homeopatia <i>Sulphur</i>	1	0,000113 ^{NS}
2 – Homeopatia <i>Graphites</i>	1	0,007200 ^{NS}
3 – Homeopatia <i>Apis mellifica</i>	1	0,099013 **
4 – Homeopatia <i>Staphysagria</i>	1	0,003200 ^{NS}
5 – Testemunha 1 (água dinamizada)	1	0,096800 **
6 – Testemunha 2 (sem água)	1	0,086112 *

**, * e ^{NS}, indicam respectivamente significativo a 1%, 5% e não significativo pelo teste F.

Na Tabela 7, observa-se pelos desdobramentos o efeito significativo ($P < 0,01$) a 1% de probabilidade da homeopatia *Apis mellifica* e *Staphysagria* sobre a concentração de tanino; e efeito significativo ($P < 0,05$) a 5% de probabilidade pelo teste F da testemunha 2 sobre o concentração de tanino.

Na Tabela 8 consta o teste de F a 5% de probabilidade entre tipos de folha (nas linhas) e dois testes de Dunnet a 5% de probabilidade (no sentido da coluna), sendo que a primeira letra maiúscula na coluna indica a comparação entre a testemunha 1 (água

dinamizada), versus as homeopantias e a segunda letra maiúscula na coluna a comparação entre a testemunha 2 (sem água) e as homeopantias.

Tabela 8. Teste de Dunnet da concentração de tanino em função de preparados homeopáticos e tipos de folhas de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski

Tratamento	Posição da folha	
	Folhas da Base	Folhas do Ápice
<i>Sulphur</i>	0,70 A B a	0,69 B B a
<i>Graphites</i>	0,64 B B a	0,70 B B a
<i>Apis mellifica</i>	0,51 B B a	0,73 B B a
<i>Staphysagria</i>	0,65 B B a	0,69 B B a
Testemunha 1 (com água)	0,87 A b	1,09 A a
Testemunha 2 (sem água)	0,85 A a	1,06 A a

Letras maiúsculas: Linhas. Letras minúsculas: colunas.

Na Tabela 8 observa-se pelo teste Dunnet a 5% de probabilidade que tanto nas folhas da base como do ápice a testemunha 1 proporcionou maior concentração de tanino nas folhas. A testemunha 2 proporcionou também maior concentração de tanino tanto nas folhas da base e do ápice em relação as homeopantias. Com relação aos tipos de folhas, houve diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F, apenas em relação a testemunha 1 em que nas folhas do ápice houve maior concentração de tanino em relação às da base.

Observa-se grande variação da concentração de tanino entre os ensaios, em relação a homeopatia *Sulphur* na dinamização CH3. Nas Tabelas 3 e 4 as maiores concentrações de tanino foram respectivamente de 1,59 e 2,19 e nos demais experimentos foram de 0,49% com 5 aplicações (Tabela 6) e 0,70% na folha da base e 0,69% folha do ápice (Tabela 8). A alteração da concentração de tanino está relacionada com a expressão da patogenesia pelas plantas de *S. trilobata*.

5. CONCLUSÕES

A aplicação de uma única vez da homeopatia *Sulphur* CH3 aumentou significativamente a concentração de tanino nas folhas de *S. trilobata*. Também foi observada a maior concentração de tanino 5 e 7 dias após a aplicação quando utilizou-se a homeopatia *Sulphur* CH3. A concentração de tanino foi estatisticamente maior nas folhas do ápice reduzindo em direção às folhas da base nos ramos. Quando avaliou-se o efeito das homeopatias *Sulphur*, *Graphites*, *Apis mellifica* e *Staphysagria* na dinamização CH3 observou-se que com 4 e 5 aplicações ocorreu maior concentração de tanino em todos preparados. As testemunhas com água e sem água proporcionaram maior concentração de tanino em relação às quatro homeopatias.

LITERATURA CITADA

ANDRADE, F.M.C. **Homeopatia no crescimento e na produção de cumarina em chambá. *Justicia pectoralis* Jacq.** Viçosa:FV. 2000. 214p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa. 2000.

ARENALES, M.C. A homeopatia na agropecuária orgânica. **IN: Encontro Mineiro Sobre Produção Orgânica de Hortaliças, I.** 1998, Viçosa–MG. ANAIS. 1998 p.24-35.

ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMIST - A.O.A.C. **Official methods of analysis.** 11 ed. Washington, D.C.: 1970. 1015p.

CASALI, W.V.D.; CASTRO, D.M.; ANDRADE, F.M.C. Pesquisa sobre homeopatia nas plantas. In: **Seminário Brasileiro Sobre Homeopatia na Agropecuária Orgânica, III.** 2002 Campinas do Sul – RS. ANAIS, 2002, Viçosa-MG p.16-24.

CASTRO, D.M.; CASALI, V.W.D.; ARMOND, C.; HENRIQUES, E. Efeito da homeopatia Phosphorus sobre o rabanete. **Horticultura Brasileira**, v.17, n.3, nov. 1999a. Resumos do 39º Congresso Brasileiro de Olericultura, Tubarão, SC, p.280.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; ARGOLO, V. M. Utilização de medicamentos homeopáticos no controle de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera Chrysomelidae) em Rio Branco, Acre (<http://www.hospvirt.org.Br/homeopatia/port/biblioteca/port/biblioteca/pesquisahomeopática/embrapa.htm>). 1999.

LOCKIE, A. **Enciclopédia de Homeopatia – guia prático de remédios para os principais problemas de saúde.** MINHO: Civilização. 2000. 288p.

KHANNA, K.K.; CHANDRA, S. Control of tomato fruit rot caused by *Fusarium roseum* with Homeopathic drugs. **Indian Phytopathology**, v.29, p.269-272, 1976.

KENT, J.T. **Filosofia homeopática**. São Paulo: Rode Ed., 1996. 302p.

MORENO, J.A. **Homeopatia metafísica**. 2.ed. Belo Horizonte, MG: Hipocrática – Hahnemanniana, 1999b.

SCHEMBRI, J. **Conheça a homeopatia**. Belo Horizonte, MG: Comunicação, 1976. 18p.

SINHA, K.K; SINGH, P. Homeopathic drugs inhibitors of growth and aflotoxina production by *Aspergillus parasiticus*. **Indian Phytopathology**, v.36, p.356-357, 1983.

VITHOULKAS, G. **Homeopatia ciência e cura**. São Paulo, SP: Cultryx, 1980. 436p.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Os estudos das plantas medicinais, devem ser acompanhados por técnicos de diferentes áreas, nos vários processos da produção da planta à obtenção do extrato bruto; uma vez que estas plantas poderão gerar fitoterápicos após estudos fármaco e toxicológicos.

A planta medicinal utilizada em medicamentos é um xenobiótico, isto é, um produto estranho ao organismo humano, nele introduzido com finalidade terapêutica. Como todo corpo estranho, os produtos de sua biotransformação são potencialmente tóxicos.

Contudo, a qualidade das matérias-primas vegetais não garante, por si, a eficácia, a segurança e a qualidade do produto final. A eficácia é dada pela comprovação, por meio de ensaios farmacológicos pré-clínicos e clínicos, dos efeitos biológicos preconizados para esses recursos terapêuticos. A segurança é determinada pelos ensaios que comprovam a ausência de efeitos tóxicos, bem como pela inexistência de contaminantes nocivos à saúde, como, por exemplo, metais pesados, agrotóxicos, microorganismos e seus produtos metabólicos, produtos de degradação, entre outros.

Como perspectivas futuras sugere-se:

Estudar outras formas de adubação orgânica e verificar qual o efeito na concentração de outros metabólitos secundários presentes na espécie além do tanino.

Comparar a presença de metabólitos secundários em plantas cultivadas a pleno sol e sob condições de casa de vegetação.

Avaliar se ocorre alteração de outros metabólitos secundários quando armazenados em outras embalagens e quando do armazenamento dos extratos brutos, que não as folhas secas e moídas como relatado aqui.

Avaliar os efeitos de outras doses em animais experimentais. Quantificar os constituintes presentes na espécie e em todos os órgãos como raiz, caule, folhas e flores. Estudar os efeitos toxicológicos crônicos e agudos dos vários extratos dos diferentes órgãos da planta e das substâncias purificadas.

Avaliar os efeitos de outras homeopantias em outras dinamizações na concentração do metabólito secundário desta espécie.

APÊNDICE

1- Modo de preparo dos reagentes utilizados na análise do rendimento de tanino em *S. trilobata*.

- a) Folin-Denis: foram adicionados, em 75 mL de água, 10 g de tungstato de sódio, 2 g de ácido fosfomolibdico e 5 mL de ácido fosfórico. A mistura foi refluxada por duas horas, e, após resfriamento à temperatura ambiente, completou-se o volume para 100 mL.
- b) Solução saturada de carbonato de sódio: adicionaram-se 35 g de Na₂CO₃ anidro em 100 mL de água, dissolvido a 70-80 °C. Deixou-se resfriar por todo à noite e, como não houve formação de cristais de Na₂CO₃.10 H₂O não foi necessário filtragem.
- c) Solução-padrão de ácido tânico: foram dissolvidos 25 mg de ácido tânico em 250 mL de água destilada. Em cada determinação da curva-padrão preparou-se solução-padrão de ácido tânico fresca.

2- Nas Tabelas a seguir encontram-se soluções das curva-padrão utilizadas na determinação das concentrações de tanino.

Tabela 1A. Soluções para preparo da curva padrão de tanino.

Sol. Padrão ácido tânico	Água destilada	Sol. Folin-Denis	Sol. Sat. de Na ₂ CO ₃	Água destilada
0.0 mL	7,5 mL	0,5 mL	1.0 mL	1,0 mL
0.2 "	7,5 "	0,5 "	1,0 "	0,8 "
0.4 "	7,5 "	0,5 "	1,0 "	0,6 "
0.6 "	7,5 "	0,5 "	1,0 "	0,4 "
0.8 "	7,5 "	0,5 "	1,0 "	0,2 "
1.0 "	7,5 "	0,5 "	1,0 "	0,0 "

Tabela 2A. Resumo da análise de variância da massa da matéria fresca e seca de folhas (MFF, MSF), número de ramos e internódio (NR, NE) e comprimento de ramos (CR) nas plantas de *S. trilobata* em função dos teores de adubo orgânico (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 e 100%) e das épocas de avaliação (39, 63, 94, 123 e 154)

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo				
		MFF	MSF	NR	NE	CR
Dose (D)	7	16489,34**	667,9656**	1292,856**	19954,21**	412,2478**
Resíduo (a)	24	219,5436	7,430816	19,87292	229,3520	35,84732
Ciclo (C)	4	17728,21**	922,4840**	1089,194**	33540,44**	1601,789**
D x C	28	864,0726**	41,3937**	43,72232**	1344,965**	67,11958**
Resíduo (b)	96	129,6617**	5,7854	15,9354	157,3417	26,74833
Média Geral		22,486	20983	20,850	20,044	20,609
CV (%) par.		17,281	18,516	18,670	16,602	17,803
CV (%) sub.		65,893	12,991	21,381	75,556	29,051

** indica significância a 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 3A. Resumo da análise de variância do teor de tanino, nitrogênio, fósforo e potássio nas folhas das plantas de *S. trilobata* em função dos teores de adubo orgânico (30, 45, 75 e 100%) e das épocas de avaliação (39, 63, 94, 123 e 154)

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo			
		Tanino	Nitrogênio	Fósforo	Potássio
Dose (D)	3	0,82569028**	1,50731216**	0,04439695*	0,00294381**
Resíduo (a)	8	0,07326354	0,11237198	0,01042209	0,00005711
Ciclo (C)	3	1,11455000**	3,66074301**	0,11744347**	0,00703336**
D x C	9	0,05138287 ^{ns}	0,052271907 ^{ns}	0,01014470*	0,00119808**
Resíduo (b)	24	0,02873507	0,09828044	0,00375180	0,00003178
Média Geral		2,31	0,37	0,08	1,67
CV (%) par.		16,22	14,51	27,75	8,98
CV (%) sub.		10,15	13,56	16,65	6,70

** indica significância a 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4A. Resumo da análise de variância da massa da matéria fresca e seca da folha e do caule (MFF, MSF, MFC, MSC) e comprimento dos ramos (CR) de *S. trilobata* em função dos níveis de luz (34, 52 e 100%) e das épocas de avaliação (30, 60, 90 e 120 dias)

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo				
		MFF	MSF	MFC	MSC	CR
Luz (L)	2	98,2151 ^{NS}	0,2853502 ^{NS}	19,20033 ^{NS}	0,0465791 ^{NS}	1,882506 ^{NS}
Resíduo (a)	3	36,53406	2,352750	41,31501	1,483525	0,9401086
Época (E)	3	444,6147**	27,10062**	324,0613**	13,17503**	24,93597**
L x E	6	43,25026 ^{NS}	1,182928 ^{NS}	36,22134 ^{NS}	0,9611623 ^{NS}	0,5544209 ^{NS}
Resíduo (b)	9	26,53425	0,8635837	26,82421	0,5899025	3,652909
Média Geral		26,068	4,788	22,038	2,923	14,427
CV (%) par.		23,19	32,04	29,17	41,67	6,72
CV (%) sub.		19,76	19,41	25,50	26,27	13,25

** indica significância a 1% de probabilidade pelo teste F e ^{NS} não significativo.

Tabela 5A. Resumo da análise de variância do teor de tanino, nitrogênio, fósforo e potássio nas folhas das plantas de *S. trilobata* em função dos níveis de luz (34, 52 e 100%) e das épocas de avaliação (30, 60, 90 e 120 dias)

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo			
		Tanino	Nitrogênio	Fósforo	Potássio
Luz (L)	3	0,96897113 ^{NS}	0,52161753 ^{NS}	0,00086708 ^{NS}	0,00044216 ^{NS}
Resíduo (a)	8	0,88360290	0,61157990	0,01338212	0,00035046
Época (E)	3	0,84511355**	1,93167242**	0,12986115**	0,00056226**
L x E	9	0,05820133 ^{NS}	0,05520530 ^{NS}	0,00683336 ^{NS}	0,00002758 ^{NS}
Resíduo (b)	24	0,12818220	0,08816513	0,02123851	0,00004591
Média Geral		1,63	2,65	0,50	0,10
CV (%) par.		57,70	24,47	22,94	18,92
CV (%) sub.		21,98	11,19	28,91	6,85

** indica significância a 1% de probabilidade pelo teste F e ^{NS} não significativo.

Tabela 6A. Resumo da análise de variância das variáveis tanino, matéria fresca total (MFT), número de internódios, comprimento de ramos, número de ramos (NR), número de folhas pequena, média e grande (NFP, NFM e NFG) e matéria seca do caule e folha (MSC, MSF) em função do tempo de exposição a radiação UV-B

FV	GL	Quadrado médio e significância									
		Tanino	MFT	NE	CC	NR	NFP	NFM	NFG	MSC	MSF
UV-B	3	0,082 ^{NS}	1,888 ^{NS}	136,083 ^{NS}	175,307 ^{NS}	10,167*	486,062*	196,750 ^{NS}	79,759 ^{NS}	0,181 ^{NS}	0,002 ^{NS}
Resíduo	12	0,056	3,060	45,292	118,901	8,708	462,062	136,792	70,521	0,317	0,097
CV %		8,70	16,04	16,46	15,460	38,08	63,11	57,40	68,20	18,96	21,73
Média geral		2,714	10,857	40,875	70,500	7,750	34,062	20,375	12,312	0,94	1,44

*, ^{NS}, significativo a 5 % e não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste de F.

GLOSSÁRIO

Acarbose. A acarbose é um inibidor da alfa-glicosidade, em uso oral, liberada no tratamento do Diabetes Mellitus não insulino-dependente. A substância é obtida através de processo de fermentação do microorganismo, o *Actinoplanes utahensis*. A acarbose retarda a digestão dos carboidratos ingeridos na dieta, reduzindo a concentração de glicose no sangue após as refeições.

Acidose. [De ácido + ose] S.f. Patol. Distúrbio resultante de acúmulo de ácido ou perda de base orgânicos, e caracterizado por diminuição do pH sanguíneo.

Ácinos. [Do gr. Ákinos, pelo lat. Acinu.] Anat. Designação genérica de pequenas dilatações saciformes, especialmente em glândulas.

Adrenalina. S.f. Quím. Hormônio produzido pela parte medular das glândulas supra-renais, e que tem numerosos efeitos no organismo (circulatórios, metabólicos e outros); epinefrina. [Fórm.: C₉H₁₃O₃N.].

Alanina. S.f. Quím. Aminoácido cristalino, incolor, que se forma na hidrólise de certas proteínas do organismo; ácido aminopropiônico [Fórm.: C₃H₇O₂N.].

Albumina. [Do fr. Albumine.] S.f. Quím. Qualquer membro da classe de proteínas solúveis em água e coaguláveis por aquecimento.

Aloxano. (2,4,5,6-tetraoxoexaidropirimidina monoidratado) derivado da pirimidina, tem sido largamente utilizado como agente diabetogênico desde a descoberta de sua relativa citotoxicidade específica nas células-β do pâncreas.

Analgésico. Adj.1. Respeitante à analgesia. 2. Que suprime a dor. S.m. 3. Medicamento ou substância que produz analgesia, que suprime a dor.

Anemia. [Do gr. Anaimía.] S.f. Patol. 1. Deficiência de hemácias ou hemoglobina no sangue circulante. 2. Fig. Debilidade, fraqueza.

Anilina. [De anil + ina.] S.f. 1. Quím. Amina derivada do benzeno, líquido incolor, oleoso, com odor característico, largamente usada na indústria de corantes. [Fórm.: C₆H₅NH₂.]. 2. P. ext. Material corante fabricado industrialmente com anilina.

Anovulatórios. Sinônimos: antifecundativos – métodos ou recursos destinados a impedir a fecundação do óvulo.

Antrona. Estão presentes em plantas que são reconhecidas desde a antiguidade como purgativos. São ausentes em briófitas, pteridófitas e Gimnospermas, mas estão presentes em Angiospermas e também em alguns fungos e líquens. São biossintetizados pela via do acetato-malonato ou mevalonato chiquimato. Normalmente se encontram ligados a açúcares formando glicosídeos. Os glicosídeos e suas agliconas são identificados pela reação de Bornträeger. As principais drogas são o sene - (*Cassia angustifolia* Vahl e *C. senna* L. Leguminosae), cáscara sagrada - (*Rhamnus purshianus* Rhamnaceae), frângula - (*Rhamnus frangula* Rhamnaceae), ruibarbo - (*Rheum officinale*

Poliganaceae), Babosa (*Aloe vera* Tourn Liliaceae) e hipérico – (*Hypericum Perforatum*).

Aorta. [Do gr. Aorté, pelo lat. Aorta.] S.f. Anat. Grande artéria que nasce no ventrículo esquerdo do coração.

Arteriosclerose. [De arteri(o) + sclerose.] S.f. Patol. Esclerose ou endurecimento das artérias; esclerose arterial. [Cf. angiosclerose].

Asfixia. [Do gr. Asphyxía, falta de pulso] S.f. Méd. 1. Estado mórbido resultante de obstáculo à passagem do ar através das vias respiratórias ou dos pulmões. Nesta situação, há hipoxia e aumento da tensão de dióxido de carbono na sangue e tecidos. 2. Suspensão da respiração; sufocação.

Astenia. [Do gr. Asthéneia.] S.f. Méd. Fraqueza orgânica; debilidade, fraqueza.

Baço. S.m. Anat. Viscera glandular situada no hipocôndrio esquerdo e que tem várias funções, entre as quais sobressai a de destruir glóbulos vermelhos.

Benigno. [Do lat. Benignu.] Adj. 1. benévolo. 2. Suave, brando, agradável. 3. Não perigoso nem maligno.

Benzeno. [De Benz, rad. Do lat. mod. Benzoe, benjoim, + eno.] S.m. Quím. Líquido incolor, com cheiro característico, volátil, cuja molécula tem estrutura cíclica típica, usado como solvente e matéria-prima na obtenção de vários outros compostos [Form.: C₆H₆].

Bilirrubina. [De bili(s) + rub. do lat. Ruber, vermelho, + ina] S.f. Bioquím. Pigmento vermelho, presente na bÍlis e nas fezes, de estrutura complicada. [Form.: C₃₃H₃₆O₆N₄].

Capilar. [Do lat. capillare] Adj. Capilar sanguíneo Anat. Vaso sanguíneo, de diâmetro muito reduzido, que interliga as arteríolas e as vênulas.

Abdominal. [Do lat. abdomine, abdome, + al.] Adj. Pertencente ou relativo ao abdome.

Células α (A). Células-alfa, responsáveis pela produção de glucagon;

Células β (B). Células-beta, relacionadas à secreção de insulina,

Células δ (C). Células-delta, cuja função ainda não é bem conhecida.

Cetonúria. [De cetona + ur(o) + ia] S.f. Méd. presença, na urina, de corpos cetônicos. [Var. pros.: cetonuria]

Cetose. [De ceto + ose] S.f. Quím. Cetona que contém diversas hidroxilas, uma das quais vizinha da carbonila.

Clorofórmio. S.m. Quím. Triclorometano líquido, incolor, com odor agradável, volátil, usado como anestésico. [Fórm.: CHCl₃].

Colágeno. S.m. Histol. 1. substância que constitui as fibras do tecido conjuntivo. 2. tecido conjuntivo.

Colecistocinina. A contração da musculatura lisa da vesícula biliar é controlada pela ação do hormônio colecistocinina, elaborado na mucosa intestinal, que promove o lançamento da bile na luz do duodeno. Parte exócrina do pâncreas. Os ácinos glandulares são constituídos de células acinosas e células centrais (centro-acinosas). A chegada do bolo alimentar acidificado no duodeno induz a liberação do hormônio digestivo colecistocinina (um peptídeo de 33 aminoácidos, também denominado pancreozimina) que, por sua vez, promove a contração da vesícula biliar, liberando a bile no duodeno.

Colesterol. S.m. Quím. Substância complexa existente em todas as células do corpo, especialmente nas do tecido nervoso, e presente nas gorduras animais, com funções bioquímicas ainda não de todo esclarecidas, cujos ésteres se depositam nas placas responsáveis pela aterosclerose. [Fórm.: $C_{27}H_{46}O$. Pl.: colessteróis.].

Coloidosmótica. As proteínas plasmáticas produzem a pressão coloidosmótica. O chamado efeito do equilíbrio de Donnan é responsável pelo fato de a pressão coloidosmótica no plasma ser cerca de cinquenta por cento maior que a que seria causada apenas pelas proteínas. Isso se deve ao número adicional de íons positivos, presentes para contrabalançar a carga negativa das proteínas, aumentarem o número de partículas osmoticamente ativas. A pressão coloidosmótica do plasma humano normal é, em média, de cerca de 28mm Hg, sendo que 80% dessa pressão são produzidos pela fração albumina, 20% pela globulina, com participação quase nula do fibrinogênio. Apesar de a quantidade total de proteínas em todos os 12 L de líquido intersticial no corpo ser maior que a quantidade total de proteína no próprio plasma, a concentração média de proteína do líquido intersticial é, em geral, da ordem de 40% da do plasma, já que seu volume é quatro vezes maior. A pressão coloidosmótica média, para essa concentração de proteína, é da ordem de 8mm Hg.

Colorimétrico. Adj. Relativo a colorimetria, ou ao colorímetro.

Colorimetria. É a ciência da medida de cores

Coma. [Do gr. Kôma, sonolência, pelo lat. coma.] S.m. e f. Méd. Estado de inconsciência em que nem sequer uma estimulação enérgica desperta o doente, e durante o qual se perdem as atividades cerebrais superiores, conservando-se a respiração e a circulação.

Coma hiperosmolar. O coma hiperosmolar constitui uma complicação mais freqüente do diabetes mellitus, caracterizado pela desidratação, pelos burdens do hiperglicemia e pelo hiperosmolaridade sem cetoacidose. Aparece geralmente em pacientes não insulino dependentes, de idade madura, com mortalidade elevada significativamente mais do que da cetoacidose diabética. Geralmente aparece após uma doença precipitante como infecção, especialmente neumonía, doença cardiovascular e outra. Também, é associado ao uso de certas drogas como: diuréticos, propranolol e imunossupressores. Causas: infecção, particularmente neumonía; doença cardiovascular; outras: pancreatite, cirurgia, diálise.

Coronária. [Fem. Substantivado de coronário.] S.f. Anat. Cada uma das duas artérias que irrigam o coração.

Corpos cetônicos. O corpo queima gorduras para obter energia. O fígado produz corpos cetônicos. Os corpos cetônicos acidificam o sangue. Presença de corpos cetônicos e açúcar na urina. Como sem a insulina suficiente o corpo não pode utilizar o açúcar, ele

vai tentar usar as gorduras acumuladas como combustível. Quando o fígado queima gorduras muito rapidamente, produz resíduos tóxicos chamados corpos cetônicos. Os corpos cetônicos são perigosos porque tornam o sangue ácido. Quando os corpos cetônicos atingem aos rins, alguns passam para a urina juntamente com o açúcar.

Creatina. S.f. Quím. Substância cristalina encontrada nos músculos. [Fórm.: $C_4H_9O_2N_3$.].

Crioglobulinemia. Crioglobulinas são proteínas que se precipitam quando resfriadas (abaixo de 37°C), e dissolvem-se quando são aquecidas. São denominadas idiopáticas ou essenciais quando não estão associadas a qualquer doença reconhecível. As crioglobulinas são classificadas em 3 tipos: tipo I (monoclonal), tipo II (mista) e tipo III (policlonal). A crioglobulinemia do tipo I (monoclonal) é, mais amiúde, da classe IgG ou IgM, mas já foram descritas crioglobulinas IgA e de Bence Jones. A maioria dos pacientes, mesmo com concentrações elevadas de crioglobulina do tipo I, não apresenta quaisquer sintomas que possam ser atribuídos a esse achado. Outros com crioglobulinas monoclonais na faixa de 1 a 2 g/dL podem apresentar dor, púrpura, fenômeno de Raynaud, cianose e mesmo ulcerações e necrose da pele e do tecido subcutâneo, quando expostos ao frio, porque suas crioglobulinas precipitam-se a temperaturas relativamente altas. As crioglobulinas do tipo I estão associadas a macroglobulinemia, mieloma múltiplo ou GMII. A crioglobulinemia do tipo III (policlonal) não está associada a um componente monoclonal. As crioglobulinas do tipo III são encontradas em muitos pacientes com infecções ou doenças inflamatórias e não têm qualquer importância clínica. A crioglobulinemia do tipo II (mista) consiste, de maneira típica, em uma proteína IgM monoclonal e em IgG policlonal, embora IgG monoclonal ou IgA monoclonal também possam ser observadas em associação com a IgM policlonal. A eletroforese das proteínas séricas geralmente mostra um padrão normal ou de hipergamaglobulinemia policlonal difusa. Usualmente, a concentração de crioglobulina mista é inferior a 0,2 g/dL.

Cromatograma. A cromatografia é uma técnica da química analítica utilizada na separação de misturas e substâncias. De maneira mais completa, a técnica baseia-se no princípio da adsorção seletiva (que não deve ser confundida com absorção), um tipo de adesão. A técnica foi descoberta em 1906 pelo botânico italiano naturalizado russo Mikahail Tswett, mas não foi largamente utilizada até os anos 30. Tswett separou pigmentos de plantas (clorofilas) adicionando extrato de folhas verdes em éter de petróleo sobre uma coluna com carbonato de cálcio em pó em tubo de vidro vertical. Enquanto a solução percolou através da coluna os componentes individuais da mistura migraram para baixo em taxas diferentes de velocidades e então a coluna apresentou-se marcada com gradientes horizontais de cores. A esse gradiente deu-se o nome de cromatograma.

Diacetilmonoxima – Diversas substâncias apresentam a capacidade de reativar a colinesterase e algumas delas são empregadas como antídotos de organofosforados. As mais usadas são obidoxima e pralidoxima. Outras: dicetilmonoxima e trimedoxima.

Diagnóstico. [Do gr. diagnostikós] Adj.1. respeitante a diagnose. S.m. 2. conhecimento ou determinação duma doença pelo(s) sintoma(s) e/ou mediante exames diversos (radiológicos, laboratoriais, etc.).

Diosmina. Substância bioflavonoide de estrutura relacionada com a rutina, porém de menor peso molecular e mais fácil transposição pela parede vascular. Possui efeitos antioxidantes e aumenta a resistência vascular.

Doença de Von Gierke (hiperglicemia pós-prandial). A deficiência de glicose-6-fosfatase é um distúrbio genético autossômico recessivo que incide em uma de cada 100.000 a 400.000 pessoas. Este distúrbio costuma manifestar-se já nos primeiros 12 meses de vida através da hipoglicemia sintomática ou pela detecção de hepatomegalia. Pacientes ocasionais experimentam hipoglicemia no período neonatal imediato e alguns raros nunca chegam a apresentar hipoglicemia. Os achados característicos incluem face arredondada e bochechuda, abdome protuberante devido à acentuada hepatomegalia e extremidades finas. A hiperlipidemia pode causar xantomas eruptivos e lipemia retiniana. A esplenomegalia não se manifesta ou é descrita, embora um aumento vultoso do lobo hepático esquerdo possa ser confundido com esplenomegalia. O crescimento geralmente é normal durante os primeiros meses de vida; posteriormente, sobrevivem retardo no crescimento e a adolescência sofre atrasos. O desenvolvimento mental costuma ser normal, exceto nos casos de lesão por hipoglicemia.

Ducto biliar. [Do lat. ductu.] S.m. Anat. Estrutura tubular, com parede; bem delimitadas, que dá passagem, de acordo com o aparelho ou sistema a que pertença, a matérias diversas (bile, sangue, suco pancreático, etc.).

Duodeno. [Do lat. duodeni, de doze em doze.] S.m. Anat. A primeira porção do intestino Delgado, situada entre o piloro e o jejuno.

Endotelial. Adj. 2 g. Relativo ou pertencente ao endotélio.

Endotélio. [De end(o) + tel(e) + io.] S.m. Anat. Camada de células epiteliais que reveste internamente as estruturas do aparelho circulatório, incluindo o coração.

Estreptozotocina – Antibiotocoaminociclítóis, nesta classe são incluídos tantos os antibióticos aminoglicosídicos (que são carboidratos básicos) quanto outros que contêm grupamentos de ciclitol ou aminociclitol e não de aminaocúcar (como os aminoglicosídios). São geralmente substâncias básicas, capazes de formar sais cristalinos e hidrossolúveis, como cloridratos e sulfatos.

Infarto. [De in + lat. fartu, cheio, atulhado.] S.m. Patol. Área de necrose conseqüente à hipoxia, e que se deve, na maioria dos casos, a oclusão arterial por trombos ou êmbolos; enfarte, enfarto.

Ínos crúpricos – Cu^{+2} e Cu^{+3}

Mieloma. È uma disfunção na resposta imunológica que se caracteriza pela proliferação anormal de plasmócitos que produzem anticorpos defeituosos sem nenhuma atividade imunológica. Esta doença é parecida com a macroglobulinemia de waldenstrom (proliferação de linfócitos jovens que produzem anticorpos da classe IGM antes de se tornar plasmócitos) em que não ocorre dano ósseo e não é tão intenso a agressão na medula óssea . Para diferenciar estas duas doenças é aconselhável fazer a biópsia da medula óssea.

Miocárdio. [De mi(o) + cárdio.] S.m. Anat. A camada média, e mais espessa, da parede do coração, formada por músculo cardíaco.

Eosina. [Do gr. eós, aurora, + ina.] S. Quím. Designação genérica de corantes derivados, halogenados de ftaleínas, fluoresceínas, etc. Uma eosina, a tetrabromoftaleína de potássio, é usada como corante de seda, corante alimentar e anti-séptico.

Ésteres. São compostos orgânicos que reagem com a água para produzir álcoois e ácidos orgânicos ou inorgânicos. Os ésteres carboxílicos são os mais comuns. Os ésteres carboxílicos, fórmula RCOOR' (R and R' são quaisquer grupos orgânicos ligados), são geralmente preparados pela reação de ácidos carboxílicos e álcoois na presença de ácido. Esta reação é chamada de esterificação. Na reação, o grupo hidroxila (OH) do ácido carboxílico é substituído por um grupo alcóxi (R'O) do álcool. Os ésteres também podem ser obtidos pela reação de haletos de ácidos ou anidridos de ácidos, com álcoois.

Esterol. S.m. Quím. Qualquer álcool não-saturado com estrutura com diversos anéis, encontrado nos organismos vivos, vegetais e animais, onde exercem importantes funções fisiológicas. [Pl.: esteróis.].

Estreptozotocina. Análogo da GkNAc, tem sido utilizado na indução de modelos diabéticos em ratos, pela destruição das células betas do pâncreas. Não estando bem caracterizado na literatura até o momento. A concentração "ideal" na obtenção de diabetes do tipo 2, sendo este tipo de diabetes conseguido somente com ratos neonatos.

Éter. [Do gr. aithér] S. m. Quím. Classe de radicais orgânico cuja molécula é constituída por dois radicais hidrocarbônicos ligados a um mesmo átomo de oxigênio. [Fórm.: ROR'].

Exocitose. Vesículas de transporte que se destinam a membrana plasmática normalmente deixam a rede de Golgi trans em um fluxo constante. A proteínas de membrana e os lipídeos, nessa vesículas, fornecem novos componentes para a membrana plasmática, enquanto as proteínas solúveis dentro das vesículas são secretadas no espaço extracelular. A fusão das vesículas com a membrana plasmática é denominada exocitose. Desta forma, as células pode produzir e secretar por exemplo muitas das proteoglicanas e as glicoproteínas da matriz extracelular.

Feocromocitoma. È um tumor de células cromafins, secretor de catecolaminas e neuropeptídeos diversos, cuja manifestação clínica mais comum é a elevação da pressão arterial. Trata-se de causa rara de hipertensão, estando em torno de um caso para cada 1000 hipertensos, embora freqüentemente investigado na prática clínica diária. Protocolos e rotinas diagnósticas são cada vez mais freqüentes. Obviamente não se discute a necessidade de rastreamento em pacientes com sintomas típicos, história familiar de feocromocitoma ou câncer medular de tireóide, incidentalomas adrenais e crises hipertensivas induzidas por trabalho de parto ou indução anestésica. Ocorre que cada vez mais hipertensos jovens são encaminhados para abordagem diagnóstica de feocromocitoma. Sugere-se a reavaliação e individualização de cada caso, tendo em vista a crescente prevalência nesta faixa etária das patologias associadas à obesidade e à síndrome de resistência insulínica (por exemplo, diabetes tipo 2), dislipidemia e hipertensão arterial essencial.

Ferricianeto. S.m. Quím. Sal que contém o íon trivalente, vermelho em meio aquoso $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$.

Ferrocianeto. [De ferro + cianeto.] S.m. Quím. Sal que contém o íon tetravalente $[\text{Fé}(\text{CN})_6]^{4-}$.

Fibrinogênio. [de fibrina + o + gen(o) + io.] Adj.1. Que produz fibrina, fibrinógeno. S.m. 2. Fisiol. Proteína plasmática de alto peso molecular, que se converte em fibrina pela ação da trombina.

Fígado. [Do lat. vulg. Ficatum.] S.m. Anat. Viscera glandular volumosa, situada predominantemente no hipocôndrio direito, com pequena parte no epigástrico e hipocôndrio esquerdo, e que desempenha funções tais como secreção da biliar, modificação de medicamentos, produção de glicogênio, e outros.

Filtração glomerular. Na região cortical do rim existem milhares de glomérulos. Cada glomérulo é formado de um conjunto de capilares. O sangue que flui no interior de tais capilares, chega aos mesmos proveniente de uma arteríola denominada arteríola aferente. Este mesmo sangue, após fluir pelos capilares glomerulares, se dirige para a arteríola eferente, que forma uma rede de capilares peritubulares, que envolvem os túbulos renais. No interior dos capilares glomerulares existe uma considerável pressão hidrostática (60 mmHg), que força o sangue a fluir para frente, em direção à arteríola eferente, e também contra a parede dos capilares. No interior da cápsula de Bowmann existe também uma pressão hidrostática, mas esta é menor (18 mmHg). Outra pressão que não podemos deixar de mencionar é uma pressão denominada oncótica ou coloidosmótica (32 mmHg) no interior dos capilares glomerulares, devido à grande concentração de proteínas no interior dos tais vasos. Este tipo de pressão atrai água do exterior para o interior dos capilares glomerulares. Analisando-se as três pressões citadas acima, conclui-se que existe realmente uma pressão resultante da ordem de 10 mmHg., que pode ser considerada como Pressão de Filtração, que favorece a saída de líquidos do interior para o exterior dos capilares glomerulares e, com isso, proporcionar uma boa filtração do sangue. A cada minuto, aproximadamente, cerca de 125 ml de filtrado se formam no interior da cápsula de Bowmann. Tal filtrado é denominado filtrado glomerular. É fácil imaginar que, se houver uma queda significativa na pressão sangüínea haverá também, como conseqüência, uma queda na pressão hidrostática no interior dos capilares glomerulares. Isso provocará uma queda acentuada na pressão de filtração, o que reduzirá a filtração glomerular, poupando líquido (volume) para o corpo, numa tentativa de se corrigir a queda da pressão.

Formaldeído. [De form, abrev. de fórmico, + aldeído.] S.m. Quím. Aldeído fórmico. Gás incolor, com cheiro característico e agressivo, bactericida; metanal, [Fórm.: HCHO].

Fotométrico. Fotometria (fotocolorimetria e espectrofotometria) - Técnicas analíticas para determinar a concentração numa solução. Baseadas na medida da luz absorvida ou transmitida.

Gastrina. Es un examen que mide la cantidad de gastrina en la sangre, la cual es la mayor hormona que regula la secreción de ácido en el estómago.

Glândula endócrina. Anat. Glândula cuja secreção se lança diretamente na circulação sanguínea. São glândulas endócrinas: a epífise ou glândula pineal, a hipófise ou glândula pituitária, a tireóide, o timo, as glândulas paratireóides, a porção endócrina do pâncreas, as glândulas de supra-renais, os testículos, os ovários. [Sin.: glândula de secreção interna.].

Glândula exócrina. Anat. Glândula cuja secreção é lançada, através de um conduto, para o exterior do órgão que a produz. São glândulas exócrinas: as glândulas salivares, as sebáceas e sudoríparas, as lacrimais. [Sin.: glândula de secreção extena.].

Glibenclamida. É um hipoglicemiante oral cuja característica principal é possuir potente ação com baixa dosagem, conferindo-lhe assim, excelente tolerabilidade. A glibenclamida atua sobre as células beta do pâncreas estimulando a produção de insulina. É rapidamente absorvida, ligando-se em elevada porcentagem às proteínas plasmáticas. Sua meia-vida é de aproximadamente 10 horas. É metabolizada quase completamente no fígado. Aproximadamente 50% da dose administrada é excretada pela urina e o restante pela bÍlis e fezes.

Glicemia. [De glic(o) + (h)em(o) + ia.] S.f. Taxa de açúcar no sangue, a qual se pode situar acima (hiperglicemia) ou abaixo (hipoglicemia) da faixa normal.

Glicerol. [De glicer(o) + ol.] S.m. Quím. Substância orgânica, líquida, incolor, viscosa, adocicada, que é um triálcool; glicerina. [Pl.: glicéris. Fórm.: $C_3H_8O_3$.].

Glicogênio. [De glic(o) + gen(o) + io]. S.m. Quím. Polissacarídeo existente como substância de reserva nos animais, cristalino, incolor. [Fórm.: $(C_6H_{10}O_5)_n$.].

Glicolípido. Molécula lipídica na membrana, com cadeia curta de carboidrato ligada à sua cauda hidrofóbica.

Glicólise. Via metabólica universal no citosol, na qual açúcares são parcialmente degradados com produção de ATP. - (Literalmente. "divisão do açúcar".)

Gliconeogênese. Anabolismo da Glicose: Via anabólica de biossíntese de novas moléculas de glicose a partir de compostos não carboidratos. Os precursores mais importantes são: Piruvato, Lactato e Intermediários do Ciclo de Krebs.

Glicoproteína. Qualquer proteína contendo uma ou mais cadeias de oligossacarídeo ligadas covalentemente. Glicosaminoglicana - veja GAGglicose: Açúcar de seis carbonos com papel fundamental no metabolismo das células vivas. Armazenada na forma polimérica como glicogênio nas células animais, e como amido nas células vegetais.

Glicose. [De glic(o) + ose.] S.f. Quím. Açúcar encontrado no sangue e em diversas plantas, cristalino, incolor; dextrose. [Fórm.: $C_6H_{12}O_6$.].

Glicosúria. [De glicose + ur(o) + ia.] S.f. Méd. presença de glicose na urina.

Globo ocular. São os órgãos da visão. Eles estão alojados nas cavidades orbitárias, que lhes dão proteção e os mantêm nas vizinhanças do Sistema Nervoso Central, de que são verdadeiros prolongamentos exteriorizados. Possuem forma esférica, o que lhes garantem maior mobilidade. O globo ocular é formado por 3 envoltórios: 1) Esclera (esclerótica), membrana mais externa e mais resistente do globo ocular. É o chamado "branco do olho", em sua parte anterior se torna fina transparente e delicada formando uma saliência que constitui a córnea - que permite a entrada de luz no olho. 2) Coróide, é uma membrana intermediária, rica em vasos sanguíneos e pigmentos. Em sua parte anterior torna-se visível através da transparência da córnea. Nesta área recebe o nome de íris - responsável pela cor dos olhos. No centro da íris há um orifício chamado pupila, conhecido como "menina do olho" que tem como função controlar a quantidade de luz no globo ocular. A luz que chega aos olhos sofre refração ao passar: pela córnea, por um líquido claro (humor aquoso), por uma lente gelatinosa (cristalino) e por um líquido

bastante viscoso (humor vítreo). Esse conjunto funciona como um sistema de lentes convergentes formando uma imagem na parte sensível do olho: a retina. 3) Retina, é a membrana interna do globo ocular. É composta por neurônios especializados, na parte posterior apresenta uma pequena depressão, próxima ao nervo óptico denominada mácula, região mais sensível à luz e onde as imagens são vistas com maior nitidez. As células fotossensíveis, isto é, sensíveis à luz, são de dois tipos: Cones e bastonetes. Os cones percebem as radiações luminosas distinguindo as cores, os bastonetes também percebem as radiações mas não distinguem as cores, porém captam imagens mesmo com pouca luz, sendo importantes para a visão na obscuridade

Globulina. [De glóbulo + ina.] S.f. Quím. Qualquer proteína pertencente à classe das que são insolúveis em água, solúveis em soluções salinas, ácidas ou básicas diluídas, e coaguláveis pelo calor.

Glomérulo. [Do lat. glomus, eris, novelo + ulo.] S.m. Anat. Tubo de vasos sanguíneos ou fibras nervosas.

Glucagon. O conjunto de células que compõem uma ilhota contém, entre outras, as células alfa, beta e delta. As células beta produzem e liberam a insulina; as células alfa produzem e liberam o hormônio glucagon (responsável por elevar o nível de glicose no sangue); e as células delta produzem a somatostatina, hormônio que acredita-se ser responsável por controlar a quantidade de insulina e glucagon produzidos. Esse delicado e complexo conjunto de células e suas funções são os responsáveis pelo controle dos níveis de açúcar no sangue. Qualquer alteração nesse sistema pode vir a ocasionar a diabetes.

Gota. Doença do metabolismo de etiologia ignorada, caracterizada por aumento do ácido úrico no sangue (hiperuricemia), por acessos artríticos e, às vezes, lesões renais, cardíacas e cerebrais.

Hemácia. [Do fr. hematie.] S.f. glóbulo vermelho do sangue.

Hematócrito. [De hemat(o) + gr. krit, de krino, julgar.] S.m. Méd. volume percentual de hemácias presente em amostra de sangue total.

Hepático. [Do gr. hepatikós, pelo lat. hepaticu.] Adj. Relativo ao fígado; figadal, hepatal, jecoral, jecorário.

Hepatopatia. [De hepat(o) + pat + ia.] S.f. Designação comum às moléstias do fígado.

Hipercalcemia. É a elevação da taxa fisiológica do cálcio no sangue.

Hiperglicemia. [De hiper + glicemia.] S.f. Patol. Aumento da taxa de glicose no sangue.

Hiperglicemia pós-prandial (Doença de Von Gierke) - Um número de síndromes genéticas tem sido identificado e que resultam de algum defeito metabólico na síntese ou catabolismo de glicogênio. A categoria mais bem compreendida e a mais importante inclui as doenças de armazenamento de glicogênio resultantes de deficiência hereditária de uma das enzimas envolvidas na síntese ou degradação seqüencial de glicogênio. Dependendo da distribuição no tecido ou órgão da enzima específica no estado normal,

o armazenamento de glicogênio nesses distúrbios pode ser limitado a poucos tecidos, ser mais difundido embora não afete todos os tecidos ou ser sistêmico na sua distribuição.

Hiperpituitarismo. (prolactinomas) – Sinônimos nomes populares: Adenomas

Hipofisários Produtores de Prolactina; Tumores de Hipófise Produtores de Prolactina; Tumor na Cabeça; Problema na glândula da cabeça. São tumores benignos da glândula hipófise que provocam sintomas hormonais de modo predominante, decorrentes da elevação do hormônio Prolactina. Raramente podem provocar também sintomas neurológicos decorrentes de compressão ou invasão de estruturas adjacentes, tais como o nervo ótico e nervos localizados ao lado da hipófise (seio cavernoso). São os tumores mais comuns da glândula hipofisária, sendo menores do que 10mm (microadenomas) na grande maioria dos pacientes (mais de 80% dos casos). Predominam no sexo feminino (também mais de 80% dos casos).

Hipertônico. Adj. 1. Referente a hipertonia. 2. Méd. Espástico.

Espástico. Adj. Méd. 1. da natureza do espasmo, ou que se caracteriza por ele. 2. diz-se de estado em que a musculatura comprometida está contraída e a movimentação é difícil; hipertônico.

Hipertrigliceridemia. A hipertrigliceridemia ocorre quando os níveis de triacilgliceróis no sangue estão acima de 150 mg/dl. Níveis elevados de triacilgliceróis podem ser decorrentes de outras doenças como o diabetes mellitus não tratado, de distúrbios metabólicos ou ainda de histórico familiar. Como o colesterol, o aumento dos níveis de triacilgliceróis são detectados por meio de exames de sangue. Esses exames devem ser feitos no dia seguinte, após pelo menos oito horas de jejum. A hipertrigliceridemia está associada à doença arterial coronariana, pois colabora indiretamente na formação de placas de gorduras nas artérias. Essas placas de gordura provocam micro-fissuras ou "machucados" nas paredes dos vasos, ativando a ação das plaquetas do sangue e dando início a um processo de coagulação e formação de trombos que entopem as artérias.

Hipoalbuminemia. A albumina é sintetizada na célula hepática. Na insuficiência hepática há queda de albumina sérica por falta de síntese. Assim, é típico das cirroses hepáticas o traçado eletroforético representando por queda da albumina e, por razões não totalmente esclarecidas, elevação das globulinas, de gama globulina (as globulinas são produzidas pelo sistema imunológico e não pela célula hepática). De longa data se conhece a hipoalbuminemia por perda renal de albumina, como acontece nas nefroses. Nas síndromes nefróticas, nas quais o paciente perde cerca de 5g/dia de albumina pela urina, ocorrem hipoalbuminemia e albuminúria.

Hipogilcemiante. Adj. 2. g. e s.m. Bot. e Méd. diz-se de, ou droga ou substância que tem a propriedade de reduzir a concentração de glicose no sangue e pode ser usada como antidiabético.

Hipotensão. [De hip(o) + tensão.] S.f. Méd. diminuição, abaixo do normal, da pressão, no interior de um órgão ou de um sistema. Hipotensão arterial. Méd. diminuição, abaixo do normal, da pressão sanguínea dentro de rede arterial. Hipotensão venosa. Méd. diminuição, abaixo do normal, da pressão sanguínea dentro da rede venosa.

Hipotiroidismo. Sintomas razoavelmente comuns, compatíveis com uma baixa função da glândula tiróide, ou seja, a tiróide está produzindo pouco hormônio.

Homeóstase. [Do gr. homeostasis.] S.f. Fisiol. Tendência à estabilidade do meio interno do organismo.

Idiopático. Adj. Referente à idiopatia.

Idiopatia. [Do gr. Idopátheia.] S.f. Doença de origem desconhecida.

Ilhotas de Langherans. Histol. Cada uma das estruturas irregulares existentes no pâncreas, que se compõem de células menores que as células secretoras ordinárias, e nas quais se produz a insulina.

Insulina. [Do lat. insula, ilha, + ina.] S.f. Quím. Hormônio secretado pelo pâncreas, com importante função no metabolismo dos açúcares pelo organismo.

Jejum. [Do lat. jejunu.] S.m. Abstinência ou abstenção total ou parcial de alimentação.

Lípase. [De lip(o) + ase.] S.f. Diástase que decompõe as gorduras em glicerol e ácidos graxos.

Lipograma. [De lípidos + o + grama.] S.m. registro da taxa de lípidos ou lipídios encontrados no sangue.

Lipólise. [De lip(o) + lise.] S.f. Bioquím. Desdobramento das gorduras em ácidos graxos e seus sais pela ação da bile e do suco pancreático.

HDL. Lipoproteína de alta densidade.

LDL. Lipoproteína de baixa densidade.

VLDL. Lipoproteína de muita baixa densidade.

Lipoproteína. [De lip(o) + proteína.] S.f. Bioquím. Substância orgânica resultante da combinação de lipídio e uma proteína, e que, solúvel em meio aquoso, constitui o veículo de transporte das gorduras no organismo.

Macrófagos. É uma célula originada dos monócitos, que são células do sangue. Sua principal função está relacionada à fagocitose e pinocitose de elementos estranhos ao organismo e de células mortas. Possui morfologia muito variada, podendo ser fixo, chamado de *histiócito* ou móvel, movendo-se por emissão de pseudópodos. Outra forma de macrófago fixo são as células de Kupffer, encontradas no fígado.

Metformina. Agente hipoglicêmico oral.

Morbidade. [De morbi + dade, ou do ingl. Morbidity] S.f. Patol. 1. Capacidade de produzir doença num indivíduo ou num grupo de indivíduos. 2. Relação entre o número de pessoas sãs e o de doentes, ou de doenças, num dado tempo e quanto a determinada doença.

Náuseas. Náusea é uma desagradável sensação de vontade de vomitar. Geralmente é sentida na parte superior do abdômen. Varia em intensidade e pode ou não ser seguida por vômito.

Necrose de liquefação. O tecido necrótico fica limitado a uma região, geralmente cavitária, havendo a presença de grande quantidade de neutrófilos e outras células inflamatórias (os quais originam o pus). É comum em infecções bacterianas. Pode ser observada nos abscessos e no sistema nervoso central, bem como em algumas neoplasias malignas.

Neurais. As redes neurais artificiais representam um novo paradigma metodológico no campo da Inteligência Artificial, ou seja, no desenvolvimento de sistemas computacionais capazes de imitar tarefas intelectuais complexas, tais como a resolução de problemas, o reconhecimento e classificação de padrões, os processos indutivos e dedutivos, etc. Ao contrário dos sistemas heurísticos, assim chamados porque procuram obter sistemas inteligentes baseados em lógica e em processamento simbólico (por exemplo, os sistemas especialistas); as redes neurais artificiais se inspiram em um modelo biológico para a inteligência, isto é, na maneira como o cérebro é organizado em sua arquitetura elementar, e em como a mesma é capaz de executar tarefas computacionais. Da mesma maneira que no cérebro, as redes neurais artificiais são organizadas na forma de um número de elementos individuais simples (os neurônios), que se interconectam uns aos outros, formando redes capazes de armazenar e transmitir informação provinda do exterior. Outra capacidade importante das redes neurais artificiais é a auto-organização, ou plasticidade, ou seja, através de um processo de aprendizado, é possível alterar-se os padrões de interconexão entre seus elementos. Por este motivo, as redes neurais artificiais são um tipo de sistema conexionista, no qual as propriedades computacionais são resultado dos padrões de interconexão da rede, como acontece também no sistema nervoso biológico.

Obnubilação. S.f. Méd. Perturbação da consciência, caracterizada por obscurecimento e lentidão do pensamento.

Ornitina. A definição actualmente aceite para alcalóide deve-se a Pelletier que considera alcalóides as moléculas cíclicas que contêm azoto e que são verdadeiros metabolitos secundários (1982). Esta definição exclui as aminas simples e os derivados de amónia acíclicos e ainda os compostos nitro e nitrosos (uma vez que nos alcalóides o átomo de azoto tem de possuir estado de oxidação negativo). Os alcal--ides formam um grupo muito vasto de metabolitos que podem ocorrer tanto em microorganismos como plantas superiores e inferiores e ainda em animais, apesar de nestes últimos ocorrerem com muito menor frequência. A biossíntese dos alcalóides inclui sempre pelo menos um aminoácido. São também incorporadas outras unidades provenientes de piruvato, malonato ou mevalonato. Com precursores de origem biossintética tão distinta é fácil entender a complexidade e diversidade estrutural que se encontra nestes metabolitos, sendo hoje conhecidos mais de 5 000 alcalóides. Os aminoácidos precursores de alcalóides (ornitina, lisina, fenilalanina, tirosina, triptofano e ácido antranílico) são restritos comparativamente com o número que existe na Natureza.

Pâncreas. [Do gr. páγκreas, atos.] S.m. 2 n. Anat. Grande órgão glandular situado por trás do estômago, e que mantém relação anatômica com o duodeno e o baço. É glândula exócrina e endócrina, com acentuada influência tanto na digestão quanto em processos metabólicos, especialmente em relação aos glicídios.

Pancreatite. [De pancreat(o) + ite.] S.f. Patol. Inflamação do pâncreas.

Plasma. [Do gr. plasma, pelo lat. plasma] S.m. Histol. A parte líquida coagulável, do sangue e da linfa e onde se acham, em suspensão, as células destes.

Polifágia. [Do gr. polyphagia.] S.f. Qualidade de polípagos.

Polífago. [Do gr. polyphagos.] Adj. 1. onívoro, 2. que tem fome canina.

Poliúria. [De poli + ur(o) + ia] S.f. Méd. Secreção excessiva de unina.

Respiração Kussmaul - respiração trabalhosa, rápida, profunda, da pessoa que tem cetoacidose ou está em coma diabético. A respiração de Kussmaul foi denominada a partir de Adolph Kussmaul, o médico alemão do século XIX que primeiro a observou. Também chamada "fome de ar".

Sangue. [Do lat. sanguen.] S.m. 1. Histol. Líquido que transita pelo coração, artérias, capilares e veias, constituído de plasma e células, e que tem, entre outras funções, a de distribuir, pelas células do organismo, oxigênio e substâncias nutritivas.

Sangue arterial. O que, tendo passado pelos pulmões cedeu dióxido de carbono e recebeu oxigênio.

Sangue venoso. O que, depois de ceder oxigênio às células, ainda não transitou pelos pulmões, tendo alto teor de dióxido de carbono.

Saponificação. S.f. 1. ato ou efeito de saponificar. 2. Quím. Formação de sais de ácidos graxos pela ação de hidróxidos metálicos sobre ésteres.

Síndrome de Cushing. Sinônimos: Hiper cortisolismo; Hiperadrenocorticismo; Excesso de Glicocorticóides. Conjunto de sinais e sintomas do excesso da cortisona (um dos hormônios produzidos pela glândula supra-renal). Esse excesso hormonal pode ser provocado por hormônios sintéticos (exógenos) ou por doenças envolvendo a glândula supra-renal e a hipófise.

Síndrome nefrótica - Síndrome Nefrótica é definida como um nível de proteinúria maior que 3,5g por 1,73m² de superfície corpórea, por dia. Na virada do século , os médicos distinguiram a síndrome nefrítica , de origem inflamatória, da síndrome nefrotica, de uma provável origem degenerativa. Atualmente estes conceitos estão ultrapassados , mas o termo "Síndrome nefrótica " persiste , pois um nível elevado de proteinúria , independente da origem, está associada com um espectro de alterações já bem definidas, especialmente retenção de sódio, hiperlipoproteinemia , complicações tromboembólicas e infecciosas.

Somatostatina. Hormônio do Crescimento: Sinônimos GH ("growth hormone") / HC ("hormônio da juventude"). É um hormônio existente em todas as pessoas normais, que é produzido pela glândula hipófise, situada na base do crânio. A sua estrutura de aminoácidos é conhecida há mais de 40 anos e há mais de 10 anos foi sintetizado através de técnicas transgênicas, estando disponível para uso em diversas situações.

Substâncias não eletrolíticas

Sulfoniluréias. Hipoglicemiantes orais, deve ser instituída em pacientes poucos sintomáticos ou assintomáticos. Geralmente, se a glicemia de jejum se mantém acima de 140 mg/dL. São de dois grupos: as sulfoniluréias e as biguanidas. Possuem um radical sulfona ligado a um grupo uréia. Exemplos: tolbutamida (Rastinon – Hoechst), acetohexamida (Dimelor – Lilly), clorpropamida – (Diabinese – Pfizer), gliburida ou glibenclamida – (Lisaglucon – Hoechst) e glipizida – (minidiab – Farmitália).

Taquicardia. [De taqui + cardia.] S.f. Med. aumento do número de batimentos cardíacos por minuto. Há vários tipos de taquicardia, como a auricular, a ventricular, etc.

Tesaurismose. Síndrome caracterizada pelo acúmulo de produtos metabólicos no interior de órgãos, especialmente no fígado.

Tolbutamida. Hipoglicemiante oral (sulfoniluréia) – é compatível à clorpropamida em potência, porém tem duração de ação menor. É mais lentamente absorvida que as outras sulfoniluréias. Sua meia-vida é de 7 horas, e é metabolizada no fígado em derivado com potente efeito hipoglicemiante. A dose inicial pode ser 100 a 250 mg/dia, administrada no café.

Vintena – grupo de vinte.