

**RUTH MARIA ALVES GARCIA**

**VARIAÇÃO SAZONAL DO CONTEÚDO DE ALCALÓIDES E ANATOMIA DE  
RAIZ E CAULE EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Psychotria ipecacuanha*  
(BROT.) STOKES (RUBIACEAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2001**

**RUTH MARIA ALVES GARCIA**

**VARIAÇÃO SAZONAL DO CONTEÚDO DE ALCALÓIDES E ANATOMIA DE  
RAIZ E CAULE EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Psychotria ipecacuanha*  
(BROT.) STOKES (RUBIACEAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

Aprovada: 31 de maio de 2001.

---

Profª. Aristéa Alves Azevedo  
(Conselheira)

---

Prof. Maurílio Alves Moreira  
(Conselheiro)

---

Prof. Ernane Ronie Martins

---

Prof. Wagner Campos Otoni

---

Prof. Luiz Orlando de Oliveira  
(Orientador)

## AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa e à Coordenação do curso de Mestrado em Agroquímica, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Professor Luiz Orlando de Oliveira, pelas valiosas orientações, pela amizade e compreensão.

À Professora Aristéa Alves Azevedo, pelos ensinamentos, pela acolhida e pelo carinho.

Ao Professor Sebastião Tavares de Rezende pela disponibilidade e pelas sugestões.

Aos Professores Fernando e Eldo, pelas valiosas sugestões.

Aos professores Hildeberto e Cristina, da Universidade Federal de Ouro Preto, meus mestres e amigos.

A todos os demais professores envolvidos em minha formação.

À Zilda e Rosane, pela ajuda nos trabalhos de Anatomia Vegetal, pela alegria contagiante e pelo carinho.

À Inês e Maria Regina, pelo apoio e auxílio no trabalho cromatográfico.

Ao Nélio, pelo incentivo e paciência.

Às amigas Karla e Naiara, pelo agradável convivência diária.

Ao Willian, sempre disponível e presente, pela amizade e ajuda constante.

Aos meus pais, Paulo e Zilda e ao meu irmão Paulinho, pelo estímulo e apoio incondicionais.

A todos que, de alguma forma, contribuíram pela realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

RUTH MARIA ALVES GARCIA, filha de Paulo Garcia de Souza e Zilda Alves Garcia, nasceu no dia 15 de abril de 1976, na cidade de Ponte Nova, Minas Gerais.

Em fevereiro de 1999, graduou-se em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), em Ouro Preto, Minas Gerais.

Em abril de 1999, iniciou o curso de Mestrado em Agroquímica, na Universidade Federal de Viçosa – MG, submetendo-se à defesa de tese em 31 de maio de 2001.

## ÍNDICE

	Página
RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
INTRODUÇÃO .....	1
CAPÍTULO 1. A POAIA .....	3
1. INTRODUÇÃO .....	3
2. ATRIBUTOS BOTÂNICOS E ASPECTOS HISTÓRICOS .....	4
3. PRINCÍPIOS ATIVOS .....	6
4. PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS .....	8
5. NECESSIDADES ECOLÓGICAS .....	8
6. ASPECTOS ECONÔMICOS, CULTIVO E EXTRATIVISMO .....	9
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	12
CAPÍTULO 2. VARIAÇÃO SAZONAL DO CONTEÚDO DE ALCALÓIDES E SUAS CORRELAÇÕES COM CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS RAÍZES DE <i>Psychotria ipecacuanha</i> (BROT.) STOKES NATIVA DO SUDESTE BRASILEIRO .....	17
1. INTRODUÇÃO .....	17
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	19
2.1. Material vegetal .....	19
2.2. Caracterização das raízes .....	20
2.3. Extração dos alcalóides .....	21
2.4. Preparo das soluções-padrão de emetina e cefelina .....	21
2.5. Análise dos alcalóides .....	21
2.6. Análise estatística .....	22

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
4. CONCLUSÕES .....	38
5. REFERÊNCIAS BOBLIOGRÁFICAS .....	39
CAPÍTULO 3. CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DA RAIZ E CAULE DE	
<i>Psychotria ipecacuanha</i> (BROT.) STOKES E HISTOLOCALIZAÇÃO	
DE ALCALÓIDES .....	
1. INTRODUÇÃO .....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	47
2.1. Coleta do material para estudo .....	47
2.2. Obtenção dos cortes histológicos .....	47
2.3. Histolocalização dos alcalóides .....	48
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	49
3.1. Caracterização anatômica da raiz .....	49
3.2. Histolocalização de alcalóides na raiz .....	57
3.3. Caracterização anatômica do caule e histolocalização de alcalóides .....	61
4. CONCLUSÕES .....	66
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	67
CONCLUSÕES .....	72

## RESUMO

GARCIA, Ruth Maria Alves, M. S., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2001.  
**Varição sazonal do conteúdo de alcalóides e anatomia de raiz e caule em populações naturais de *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae).**  
Orientador: Luiz Orlando de Oliveira. Conselheiros: Aristéa Alves Azevedo, Maurílio Alves Moreira e Sebastião Tavares de Rezende.

A poaia (*Psychotria ipecacuanha*) é uma espécie medicinal nativa da Mata Atlântica brasileira, cujas propriedades farmacológicas são atribuídas à alcalóides encontrados em suas raízes. Os quatro objetivos específicos do presente trabalho foram: caracterizar a variação sazonal do conteúdo dos alcalóides farmacologicamente ativos emetina e cefelina, correlacionar o teor destes alcalóides com características físicas das raízes, proceder a caracterização anatômica da raiz e do caule e estabelecer a histolocalização dos alcalóides nestes órgãos. Os estudos de sazonalidade foram conduzidos em amostras de raízes originárias de duas populações naturais de *P. ipecacuanha* identificadas em áreas geográficas distintas. As amostras provenientes da população natural de Visconde do Rio Branco, MG, foram coletadas de uma única reboleira (VRB8), em intervalos regulares de tempo que cobriram o período de setembro/99 até setembro/00. As amostras da população de Itaperuna, RJ, foram coletadas de três reboleiras (ITA1, ITA2 e ITA3), situadas em um mesmo fragmento florestal, no período de dezembro/99 até dezembro/00. Os alcalóides foram quantificados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. Os teores médios gerais de emetina e cefelina foram 0,93 e 0,20 mg/100mg, respectivamente. Observou-se que o conteúdo de emetina apresentou variação significativa não somente em relação à população investigada, mas também de acordo com a reboleira amostrada, com a época da amostragem, com algumas características físicas da raiz e com o nível de radiação

fotossinteticamente ativa máxima incidente no local de ocorrência da reboleira. Por outro lado, o conteúdo de cefelina apresentou variação sazonal significativa apenas em relação à reboleira amostrada. Nenhum padrão claro de sazonalidade que explicasse as oscilações no teor de emetina ou cefelina observadas durante o período de investigação, pôde ser identificado. Os estudos anatômicos foram realizados por meio de cortes histológicos transversais e longitudinais em raízes e caules de indivíduos da população identificada em Itaperuna, RJ. As raízes de *P. ipecacuanha* são estruturas segmentadas, constituídas por protuberâncias compostas por parênquima cortical secundário amplo. Este parênquima é formado a partir de células da feloderme e de células parenquimáticas do floema secundário. O caule apresenta crescimento secundário típico. Não foram observadas diferenças anatômicas significativas entre as estruturas do caule aéreo e do subterrâneo. Coloração indicando a presença de alcalóides foi notoriamente observada em paredes das células do xilema secundário e do parênquima cortical da raiz e do caule, bem como na parede das células parenquimáticas da medula caulinar.

## ABSTRACT

GARCIA, Ruth Maria Alves, M. S., Universidade Federal de Viçosa, May 2001. **Seasonal variations of the alkaloid contents and anatomy of root and stem in natural populations de *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae).** Adviser: Luiz Orlando de Oliveira. Committee Members: Aristéa Alves Azevedo, Maurílio Alves Moreira and Sebastião Tavares de Rezende.

*Psychotria ipecacuanha* (poaia) is medicinal native specie of the Brazilian Atlantic Forest. The pharmacological properties of the *P. ipecacuanha* are due to alkaloids found in theirs roots. The focus of this study was: to characterize the seasonal variation of the alkaloids emetine and cephaeline contents, to correlate these alkaloids with morphological root characteristics, to characterize the anatomy of roots and stems of these plants, and determine the histological position of the alkaloids in the plant root and stems. The studies undertaken for seasonal variations used root samples collected from natural populations of *P. ipecacuanha* in Visconde do Rio Branco, State of Minas Gerais, and Itaperuna, State of Rio de Janeiro. Samples from the first area were collected, between September 99 and September 2000, and were named VRB8 cluster. Samples from the second area were obtained in the same manner, from December 99 through December 2000, and named ITA1, ITA2, and ITA3 clusters. All samples belong to the same forest area. The quantification of the alkaloids was realized by the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. This procedure allowed to determine the average of the alkaloid contents wich was 0.93 and 0.20 mg/100mg for emetine and cephaeline, respectively. The emetine contents showed significant variations, which depended on the population studied, sampled cluster, sampling period, morphological characteristics of the root, and maximum level of active photosynthetic radiation on the plant sites. On the other hand, the cephaeline contents showed significant seasonal variations, which depended only upon the sampled cluster. There is no clear seasonal standard, which could explain the variations of the emetine and cephaeline contents during the investigation period. The anatomical studies were performed in transversal and longitudinal sections of roots and stems of Itaperuna specimens. In *P. ipecacuanha* the roots are segmented structures composed by wide secondary cortical parenchyma. Phelloderm and parenchyma cells of secondary phloem form this parenchyma. The *P. ipecacuanha* stems showed a typical secondary growth. No significant anatomic differences were observed between the aerial and underground stems. A distinctive color indicated the presence of alkaloids on the walls of the secondary xylem and cortical parenchyma cells of roots and stems, as well as on the walls of the medullar parenchyma cells of the stem.

## INTRODUÇÃO

Espécies vegetais são utilizadas para cura e alívio de sintomas de doenças desde o início da civilização. No Brasil, 20% da população consome 63% dos medicamentos industrializados e o restante encontra nos produtos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, a única fonte de recursos terapêuticos. Nas últimas décadas, tem-se intensificado a pesquisa na área de produtos naturais, na tentativa de se conhecer um pouco mais sobre a diversidade de espécies, sobretudo de regiões tropicais. Nessas regiões, um grande número de espécies vegetais, especialmente as espécies medicinais, estão sendo perdidas em decorrência de sua exploração indiscriminada e destruição de seus habitats naturais, antes mesmo da sua descoberta e classificação científica.

A espécie *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes, conhecida popularmente como poaia, poaia verdadeira, ipecacuanha e ipeca, dentre outros, é nativa da mata atlântica brasileira e tem sido mundialmente utilizada com fins terapêuticos, por sua ação expectorante, emética e amebicida. As propriedades farmacológicas desta espécie são atribuídas aos alcalóides emetina, cefelina e psicotrina, encontrados em suas raízes secas.

Em função da exploração intensa da poaia, houve uma diminuição drástica das populações do Brasil, principalmente da região sudeste. Tendo em vista o elevado potencial econômico da espécie, associado à necessidade de preservação da sua diversidade, torna-se fundamental a realização de pesquisas visando a descoberta de novas populações de poaia nativa e a caracterização morfológica e da produtividade de alcalóides destas populações.

Este trabalho teve por objetivo o estudo da sazonalidade na produção dos alcalóides emetina e cefelina e a caracterização anatômica da raiz e caule de duas populações de poaia nativa do sudeste brasileiro.

## A POAIA

### 1. INTRODUÇÃO

A espécie *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes, conhecida vulgarmente como poaia, poaia verdadeira, ipecacuanha e ipeca, dentre outros (Pio Corrêa, 1969), tem sido utilizada como planta medicinal, tanto no Brasil quanto no exterior, desde o século XVI (Caminha Filho, 1943).

*P. ipecacuanha* pode ser considerada como espécie modelo para estudos de biodiversidade, visando o desenvolvimento de sistemas de aproveitamento de recursos genéticos com fins de melhoramento, por ser nativa da mata atlântica brasileira (Pinto, 1976), área sob alto impacto decorrente de ações antrópicas, por ser reconhecida internacionalmente como planta medicinal (Hatfield et alli, 1981; Teshima et alli, 1988; Yoshimatsu e Shimomura, 1993; Bruneton, 1995) e por se adequar a um sistema de cultivo viável (Chatterjee, 1993).

Há, atualmente, duas coleções de *P. ipecacuanha* estabelecidas e mantidas no Brasil: a primeira foi instalada em uma unidade da EMBRAPA (CPATU), em Belém (PA) e posteriormente na Reserva Florestal de Linhares, em Linhares (ES), como duplicata.

É constituída por acessos amostrados em Mato Grosso, Rondônia e em quatro localidades do sudeste brasileiro (Skorupa e Assis, 1998). A segunda coleção compreende acessos dos estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro e encontra-se instalada na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), com uma réplica na Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), em Campos (RJ).

## 2. ATRIBUTOS BOTÂNICOS E ASPECTOS HISTÓRICOS

*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (família Rubiaceae) (Figura 1) é um subarbusto de 20 a 40cm de altura (Addor, 1945), com folhas simples e opostas, lanceoladas ou ovais; flores brancas e fruto carnoso contendo duas sementes de cor enegrecida (Caminha Filho, 1943). Possui caule fino, ereto ou prostrado e raízes de 10 a 25cm de comprimento, delgadas, cilíndricas, de cor pardo acinzentado e sabor amargo característico (Occhioni, 1971), com anéis salientes e próximos uns aos outros (Bruneton, 1995).

A poaia apresenta vasta sinonímia científica, que inclui diferentes gêneros, sendo a nomenclatura *Cephaelis ipecacuanha* (Brot. ) A. Richard a mais comumente utilizada nas últimas décadas. Entretanto, Assis (1992), mediante detalhada análise taxonômica da espécie, concluiu que a nomenclatura mais correta para a poaia é *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes.



Figura 1. A poaia (*Psychotria ipecacuanha*)

Fonte: Cromolitografia de H. A. Kohlen, publicada em 1887 e digitalizada pelo Missouri Botanical Garden.

À época do descobrimento do Brasil, a poaia já era utilizada pelos indígenas, tendo sido primeiramente mencionada em 1587, sob o nome de “pecacuem”, por Gabriel Soares de Souza e posteriormente enviada à Europa pelo frade português Manuel Tristão, em 1672 (Caminha Filho, 1943). Na Europa foi largamente utilizada contra disenteria, pelo médico holandês Adriano Helvetius (Pio Corrêa, 1969). Em 1817, foi descoberto o princípio ativo básico da poaia e, em 1821, Magendic realizou a extração desse princípio, o qual foi denominado emetina (Pio Corrêa, 1969).

Dois tipos de poaia são reconhecidos pelas farmacopéias americana, britânica e indiana: a poaia do Rio ou brasileira, obtida nas florestas do Brasil e Bolívia, e a poaia de

Cartágena ou do Panamá, obtida nas florestas da Colômbia e diversos países da América Central, como Panamá e Nicarágua (Fisher, 1973). A poaia de Cartágena é referida como a espécie *Cephaelis acuminata* Karsten e difere da poaia brasileira por possuir raízes mais finas e menos aneladas (Fisher, 1973) e menor teor de emetina (Addor, 1945). No entanto, Assis e Giulietti (1999) demonstraram não haver diferenças morfológicas significativas entre populações de poaia ocorrentes na América do Sul e América Central, de modo que estas populações são constituídas por indivíduos de uma só espécie: *Psychotria ipecacuanha*, a qual distribui-se de forma descontínua nas florestas da América Central e norte da América do Sul (Colômbia), no sul da floresta amazônica (Rondônia e Mato Grosso) e na Mata Atlântica (nos estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro, principalmente).

### 3. PRINCÍPIOS ATIVOS

As propriedades terapêuticas da poaia são relacionadas aos alcalóides encontrados em suas raízes e rizomas secos, sendo os principais: emetina, cefelina e psicotrina (Bruneton, 1995) (Figura 2). Além destes, foram isolados nas raízes dessa espécie, os alcalóides o-metilpsicotrina, emetamina, protoemetina, ipecosídeo (Wiegbe et alli, 1984), 6-o-metilipecosídeo, neoipecosídeo, dimetilalangisídeo, 7-o-metilipecosídeo e 3,4- dehidroneoipecosídeo (Itoh et alli, 1991), neocefelina, 7-o-demetilcefelina, dentre outros (Itoh et alli, 1999).

Os alcalóides emetínicos são de origem mista. Apresentam estrutura constituída por uma porção isoquinolínica originada da tirosina e por uma porção de origem monoterpénoidal (Wiegbe et alli, 1984). A via de biossíntese sugerida envolve a

condensação de dopamina e secologanina, com formação de á-deacetilisopecosídeo, o qual é transformado em vários alcalóides isoquinolínicos monoterpênicos, inclusive emetina e cefelina (Nagakura et alli, 1978), por uma série de reações ainda desconhecidas. A síntese química de emetina foi realizada, entretanto, a droga obtida sinteticamente não apresentou os mesmos resultados terapêuticos que os extratos da planta (Torres, 1972).

Em raízes de poaia coletadas no Brasil, os níveis de emetina variam de 1,5 a 1,7%, os níveis de cefelina situam-se entre 0,6 a 0,7% e os de psicotrina, entre 0,04 a 0,06% (Skorupa e Assis, 1998). Todavia, há variação na porcentagem dos alcalóides dessa espécie segundo a procedência da mesma (Assis, 1992) e em função da temperatura (Yoshimatsu et alli, 1994) e da idade das raízes (Addor, 1945). Acredita-se que os princípios ativos da poaia localizam-se na camada cortical da raiz (Pio Corrêa, 1969; Torres, 1972). Jha et alli (1988) constataram que o acúmulo dos alcalóides ocorre em maior taxa quando a planta está adulta, com aproximadamente 3 a 4 anos, na época de sua floração. Em raízes de poaia coletadas no Panamá, o teor de emetina encontra-se entre 0,49 e 1,26%, enquanto o teor de cefelina situa-se entre 0,65 e 1,19% (Gupta et alli, 1986).

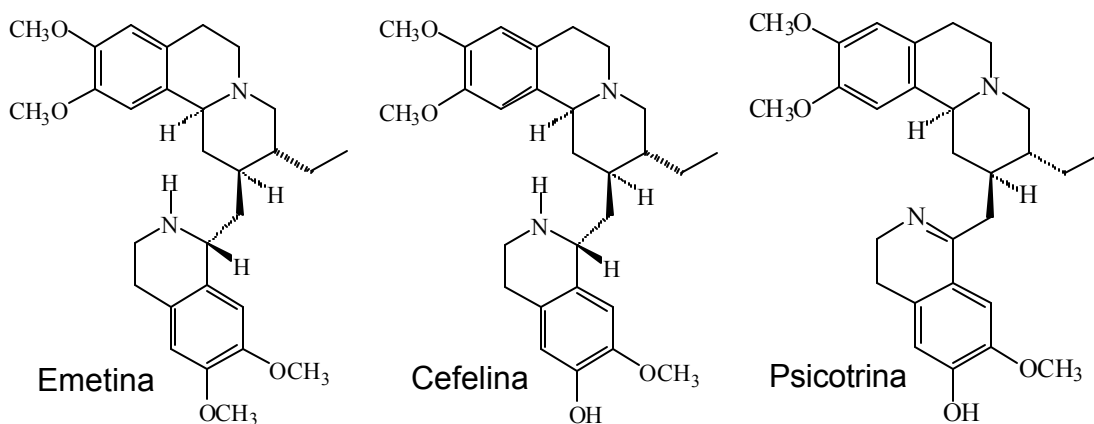


Figura 2. Alcalóides terapeuticamente ativos da poaia.

#### 4. PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS

Dentre as propriedades farmacológicas relacionadas à *P. ipecacuanha*, mencionadas em diversas farmacopéias, são principais a sua ação emética, em casos de envenenamento e intoxicações, expectorante (Teshima et alli, 1988) e amebicida, por sua ação tóxica direta sobre a *Entamoeba histolytica* (Bruneton, 1995). Emetina possui ação expectorante e amebicida, majoritariamente, embora, em altas doses, possa causar emese (Bruneton, 1995). Entretanto, o alcalóide mais responsável pela atividade emética da poaia é cefelina (Bruneton, 1995). Por ser a emetina menos emética que a cefelina e ser utilizada no tratamento de disenteria amebiana, este é o alcalóide usualmente requerido na medicina (Yoshimatsu e Shimomura, 1993). A utilização deste alcalóide em forma sintética é limitada devido à sua cardiotoxicidade, requerendo hospitalização dos pacientes (Fisher, 1973). Emetina, possui também ação inibidora da síntese de proteínas (Chow et alli, 1995; Sidhu e Omiecinski, 1998) e de DNA (Burhans et alli, 1991).

#### 5. ASPECTOS ECOLÓGICOS

A poaia distribui-se na América do Sul e América Central, em regiões com altitudes desde o nível do mar até 1500 a 1600 metros, e tem seu desenvolvimento ótimo em locais sombreados e úmidos, com solos ricos em húmus e ligeiramente ácidos (Torres, 1972).

Pinto (1976) refere como exigências da poaia a associação vegetativa com árvores gigantescas e alta umidade relativa do ar. Esta espécie ocorre em formações denominadas “fogões” ou “reboleiras”, originadas de indivíduos formados por crescimento vegetativo da planta ou a partir de sementes disseminadas pela mata por pássaros denominados “poaieiros”, que se alimentam dos frutos maduros e dejetam as sementes nos locais onde pernoitam (Caminha Filho, 1943).

Pragas e doenças são pouco observados em poaia, sendo as pragas mais comuns o grilo, nematóides e as formigas saúva e quenquém e como doenças são relacionados ataque de fumagina, necrose do tecido foliar e apodrecimento das raízes (Pinto, 1976).

## 6. ASPECTOS ECONÔMICOS, CULTIVO E EXTRATIVISMO

A exploração da poaia teve início com a utilização de mão-de-obra indígena que difundiu aos colonizadores seus conhecimentos dos locais de ocorrência desta planta e de seus usos terapêuticos, de tal sorte que a poaia integrou a pauta de produtos tropicais exportados pelo Brasil desde o período colonial (Miranda, 1983). No estado do Mato Grosso, pioneiro da indústria extrativa de poaia, a produção chegou a alcançar, no século XIX, a partir de 1835, cerca de 440 toneladas/ano (Addor, 1945). Entre 1960 e 1970, foi registrada a produção de aproximadamente 80 toneladas/ano e a partir dos anos 80, essa produção decresceu progressivamente, estando em 1993, em torno de 7,5 toneladas/ano (Skorupa e Assis, 1998). Esse decréscimo deve-se, sobretudo, à forma de exploração dessa espécie, que no Brasil, limita-se à coleta de espécies silvestres, sem replantio adequado na mata (Addor, 1945); ao longo tempo de germinação de sementes e à destruição das florestas (Costa, 1995). Fachim e Guarim (1995), em estudo das regiões biogeográficas do

estado do Mato Grosso, identificaram diversas espécies em perigo de extinção, dentre as quais a *P. ipecacuanha*, em decorrência de ações antrópicas realizadas de forma irracional na região.

O cultivo racional da poaia constitui alternativa viável para a obtenção de significativas quantidades deste produto e para garantir a conservação e variabilidade genética da espécie em fragmentos de matas onde esta ainda ocorre. Devido às condições ambientais características requeridas pela poaia para o seu desenvolvimento e produtividade (Caminha Filho, 1943), sua cultura só é bem sucedida se realizada em seu local de ocorrência ou em outro de aspecto ecológico idêntico (Chatterjee, 1993).

Segundo Pinto (1976), o cultivo de *P. ipecacuanha* em escala comercial não tem sido realizado no Brasil; atualmente encontra-se restrito ao sudeste asiático, notadamente na Índia, com a obtenção de raízes contendo, em média, 1,28% de emetina e 0,53% de cefelina (Sahu e Mahato, 1982).

A poaia pode se desenvolver tanto a partir de sementes como de folhas e fragmentos do caule (Yoshimatsu e Shimomura, 1993). O plantio de folhas e fragmentos de caules de indivíduos de poaia produzidos na Índia, resultou em ampliação dos poiais daquela região (Addor, 1945), que atualmente é responsável por cerca de 7 a 10% da produção mundial de poaia (Assis, 1992). Todavia, alguns problemas relacionados ao cultivo de poaia foram mencionados por Chatterjee (1993), como a perda de viabilidade das sementes após estocagem, produção máxima de raízes após quatro anos e conteúdo máximo de alcalóides durante o terceiro e quarto anos.

Técnicas de cultivo in vitro têm sido desenvolvidas na tentativa de se obter o acúmulo de alcalóides emetínicos em plantas regeneradas submetidas a cultivo no campo (Yoshimatsu et alli, 1994; Yoshimatsu e Shimomura, 1994) e a produção in vitro desses

alcalóides (Jha et alli, 1988; Teshima et alli, 1988; Yoshimatsu e Shimomura, 1991; Veeresham et alli, 1993; Cerdeira et alli, 1995). Até o momento, a produção dos alcalóides por técnicas de micropropagação tem resultado em teores de emetina menores que os observados em plantas coletadas em áreas florestais ou produzidas por cultivo agrônômico. Além disso, o alto custo de reagentes e recursos empregados nessas técnicas desfavorece a sua utilização como alternativa economicamente viável, em termos comerciais (Yoshimatsu e Shimomura, 1993).

A delimitação de áreas para cultivo em sub-bosques da floresta amazônica e mata atlântica ou o estabelecimento de reservas extrativistas para aumento das populações naturais de *P. ipecacuanha* poderão garantir a produção deste recurso natural e a conservação da espécie (Assis e Giulietti, 1999) e de sua diversidade genética.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDOR, A. A. Considerações acerca da poaia. **Bol. Minist. Agric. (Rio de Janeiro)** v. 34, n. 5, p. 1-28, 1945.
- ASSIS, M. C. **Aspectos taxonômicos, anatômicos e econômicos da “ipeca” *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (RUBIACEAE)**. 1992. 132p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ASSIS, M. C.; GIULIETTI, A. M. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de “ipecacuanha” – *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Rev. Brasil. Bot.** v. 22, n. 2, p. 205-216, 1999.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants**. Paris: Lavoisier, Paris, 1995.
- BURHANS, W. C.; VASSILEY, L. T.; WU, J. M.; NALLASETH, F. S., DEPAMPHILIS, M. L. Emetine allows identification of origins of mammalian DNA replication by imbalanced DNA synthesis, not through conservative nucleosome segregation. **EMBO Journal** v. 10, p. 4351-4360, 1991.
- CAMINHA FILHO, A. A ipecacuanha: *Evea ipecacuanha* (Brotero) Standley. **Bol. Minist. Agric. (Rio de Janeiro)** v. 32, n. 10, p. 33-52, 1943.
- CERDEIRA, R. M. M.; KRANS, J. V.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Evaluation of emetine production in ipecac callus. **Ciência e Cultura** v. 47, n. 1/2p. 76-78, 1995.
- CHATTERJEE, S. K. Domestication studies of some medicinally important exotic plants growing in India. **Acta Horticulturae** v. 331, p. 151-158, 1993.

- CHOW, S. C.; PETERS, I.; ORRENIUS, S. Reevaluation of the role of de novo protein synthesis in rat thymocyte apoptosis. **Experimental Cell Research**. v. 216, n. 1, p. 149-159, 1995.
- COSTA, M. P. **Desenvolvimento e teor de alcalóides em plantas de ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* A. Richard) obtidas in vitro submetidas às condições nutricionais em casa de vegetação**. 1995. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade de Lavras, Lavras – MG.
- DI STASI, L. C. & cols. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência. Um guia de estudo interdisciplinar** – São Paulo: Ed. UNESP, 1996.
- FACHIM, E.; GUARIM, V. L. M. S. Conservação da Biodiversidade: espécies da flora de Mato Grosso. **Acta Bot. Bras.** v. 9, n. 2, p. 281-287, 1995.
- FISHER, H. H. Origin and Uses of Ipecac. **Econ. Bot.** v. 27, p. 231-234, 1973.
- GUPTA, M.P.; CEDENO, J.E.; SOTO, A.A.; CORREA, D., M. A. Seasonal variation in the alkaloidal content of Panamanian ipecac. **Fitoterapia** v. LVII, n. 3, p. 147-151, 1986.
- HATFIELD, G. M.; ARTEAGA, L.; DWYER, J. D.; ARIAS, T. D.; GUPTA, M. P.**  
**An investigation of panamanian ipecac: botanical source and alkaloid analysis.** Journal of Natural Products v. 44, n. 4, p. 452-456, 1981.
- ITOH, A.; TANAHASHI, T.; NAGAKURA, N. Six tetrahydroisoquinoline-monoterpene glucosides from *Cephaelis ipecacuanha*. **Phytochemistry** v. 30, n. 9, p. 3117-3123, 1991.
- ITOH, A.; IKUTA, Y.; BABA, Y.; TANAHASHI, T.; NAGAKURA, N. Ipecac alkaloids from *Cephaelis acuminata*. **Phytochemistry** v. 52, p. 1169-1176, 1999.

- JHA, S.; SAHU, N. P.; MAHATO, B. Production of the alkaloids emetine and cephaeline in callus cultures of *Cephaelis ipecacuanha*. **Planta Medica** v. 54, p. 504-506, 1988.
- MIRANDA, G. O. **A poaia: um estudo em Barra do Bugres**. 1983. Monografia (Especialização em História)- Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso.
- NAGAKURA, N.; HÖFLE, G.; ZENK, M. H. Deacetylisoipecoside: the key intermediate in the biosynthesis of the alkaloids cephaeline and emetine. **J. C. S. Chem. Comm.** p.896-898, 1978.
- OCCHIONI, P. Sobre a ocorrência de remanescentes de “ípecacuanha” em áreas florestais do estado do Rio de Janeiro. **Revista Leandra** p. 53-59, 1971.
- OLIVEIRA, L. O.; MARTINS, E. R. **O desafio das plantas medicinais brasileiras. I – o caso da poaia (*Cephaelis ipecacuanha*)**. Campo dos Goitacazes, RJ: UENF, 1998.
- PINTO, C. M. D. **A ípecacuanha**. In: Simpósio Internacional sobre plantas de interesse econômico de la Flora Amazonica. IICA. Trópicos. Informes de conferencias, cursos e reuniones nº 93, Costa Rica, 1976.
- PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v. 4. Rio de Janeiro: IBDF, 1969.
- SAHU, N. P.; MAHATO, S. B. Determination of emetine and cephaeline in ipecac roots by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography** v. 238, p. 525-529, 1982.
- SIDHU, J. S.; OMIECINSKI, C. J. Protein synthesis inhibitors exhibit a non-specific effect on phenobarbital-inducible cytochrome P450 gene expression in primary rat hepatocytes. **Journal of Biological Chemistry** v. 273, n.8, p. 4769-4775, 1998.

- SKORUPA, L. A.; ASSIS, M. C. Collecting and conserving ipecac (*Psychotria ipecacuanha*, Rubiaceae) germplasm in Brazil. **Economic Botany** v. 52, p. 209-210, 1998.
- TESHIMA, D.; IKEDA, K.; STAKE, M.; AOYAMA, T.; SHIMOMURA, K. Production of emetic alkaloid by in vitro culture of *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard. **Plant Cell Reports** v.7, p. 278-280, 1988.
- TORRES, L. A. C. **Contribucion al conocimiento de la *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich., com especial referencia a Colombia.** Simposio Internacional sobre plantas de interesse econômico de la Flora Amazonica, Belém. Belém: IICA, 1972, p. 123-136.
- VEERESHAM, C.; KOKATE, C.; VENKATESHWARLU, V. Influence of precursors on production of isoquinoline alkaloids in tissue cultures of *Cephaelis ipecacuanha*. **Phytochemistry** v. 35, n. 4, p. 947-949, 1994.
- WIEGREBE, W.; KRAMER, W. J.; SHAMA, M. The emetine alkaloids. **Journal of Natural Products** v. 47, n. 3, p. 397-408, 1984.
- YOSHIMATSU, K.; SHIMOMURA, K. Emetic alkaloid formation in root culture of *Cephaelis ipecacuanha*. **Phytochemistry** v. 30, n. 2, p. 505-507, 1991.
- YOSHIMATSU, K.; SHIMOMURA, K. *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard (Brazilian ipecac): Micropropagation and the production of emetine and cephaeline. IN: Y. P. S. Bajai (Ed.) **Biotechnology in Agriculture Forestry - Medicinal and Aromatic Plants IV.** Berlin: Spring Verlag, v.21, 1993.
- YOSHIMATSU, K.; SHIMOMURA, K. Plant regeneration on cultured root segments of *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard. **Plant Cell Reports** v. 14, p. 98-101, 1994.

YOSHIMATSU, K.; AOI, K.; SHIMOMURA, K. Clonal propagation of *Cephaelis ipecacuanha* (II): characteristics of regenerated plants field-cultivated in two districts. **J. Plant Physiol.** V. 144, p. 22-25, 1994.

## CAPÍTULO 2

### VARIAÇÃO SAZONAL DO CONTEÚDO DE ALCALÓIDES E SUAS CORRELAÇÕES COM CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS RAÍZES DE *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes NATIVA DO SUDESTE BRASILEIRO

#### 1. INTRODUÇÃO

*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae), vulgarmente conhecida como poaia ou ipeca, é um subarbusto perene que atinge 20-40 cm de altura e que possui caule fino, lenhoso e pouco ramificado e raízes caracteristicamente aneladas (Addor, 1945; Assis e Giulietti, 1999). A espécie ocorre presentemente em áreas de sub-bosque de três regiões geograficamente discretas: na América Central e norte da América do Sul (Colômbia), na parte sudoeste da floresta amazônica brasileira (estados de Rondônia e Mato Grosso) e na mata atlântica, principalmente nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Bahia (Skorupa e Assis, 1998; Assis e Giulietti, 1999).

A poaia consta oficialmente na farmacopéia de vários países (Yoshimatsu e Shimomura, 1993; Bruneton, 1995). Este interesse a respeito da poaia se deve ao fato de que de suas

raízes se obtém um fitoterápico com larga utilização por possuir ação expectorante, amebicida e vomitiva (Pinto, 1976). Tais propriedades farmacológicas são atribuídas à presença dos alcalóides emetina, cefelina e psicotrina (Lewis e Elvin-Lewis, 1977; Bruneton, 1995; Scharman et alli, 2000). Emetina possui também ação inibidora da síntese de proteínas (Chow et alli, 1995; Sidhu e Omiecinski, 1998) e de DNA (Burhans et alli, 1991).

Coletas silvestres de poaia têm sido praticadas no Brasil desde o século XVI, quando as raízes dessa espécie tornaram-se artigo de exportação para a Europa (Pio Corrêa, 1969; Oliveira e Martins, 1998). Do continente americano, a poaia foi introduzida no sudeste asiático, e seu cultivo econômico foi bem sucedido na Índia (Chatterjee et alli, 1993), com a obtenção de raízes contendo, em média, 1,28% de emetina e 0,53% de cefelina (Sahu e Mahato, 1982). Segundo Chatterjee (1993), a domesticação foi obtida por meio da adaptação de clones brasileiros às condições do clima indiano. Apesar da importância histórica da espécie como planta medicinal, estudos básicos de avaliação do acúmulo de alcalóides praticamente inexistem no Brasil. Informações obtidas a partir de tais estudos são necessárias para o estabelecimento de estratégias que permitam o cultivo econômico sustentado dessa espécie nos fragmentos ainda remanescentes da Mata Atlântica.

Os objetivos deste trabalho foram: 1) investigar a variação sazonal do conteúdo de emetina e cefelina em raízes de poaia que se desenvolveram sob condições naturais em dois fragmentos florestais situados no sudeste brasileiro e 2) analisar as correlações existentes entre o conteúdo destes dois alcalóides e características físicas da raiz e características ambientais dos locais de coleta.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material vegetal

As amostras para estudo foram obtidas por coletas periódicas, que variaram de 20 a 40 dias (tabela 1), de raízes de *P. ipecacuanha*, durante quatorze meses, em três reboleiras de uma população natural ocorrente em Itaperuna (ITA), no estado do Rio de Janeiro, localizada a 21°07'S/ 42°06'W e 190m de altitude; e em uma reboleira da população natural identificada em Visconde do Rio Branco, no estado de Minas Gerais, localizada a 21°01'S/ 42°53'W e 400m de altitude. A área de ocorrência dessas populações constitui fragmentos da mata atlântica brasileira, localizados em propriedade particular, próximos a área agrícola.

Em todas as coletas realizadas, foi observado o estágio de desenvolvimento das plantas, quando também foi medida a radiação fotossinteticamente ativa (RFA,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) incidente ao nível de cada reboleira, e à entrada dos fragmentos florestais, através de um quantômetro/radiômetro LI-250 (LI-COR, EUA). As determinações da radiação fotossinteticamente ativa foram realizadas entre 10 e 12 horas em ITA1, ITA2 e ITA3, e entre 14 e 15 horas, em VRB8. O material testemunho foi coletado em cada reboleira e depositado no herbário da Universidade Federal de Viçosa (VIC).

## 2.2. Caracterização das raízes

Uma ilustração representativa da raiz e caule subterrâneo da poaia é mostrada na figura 1 com o propósito de identificar as estruturas físicas avaliadas durante esta investigação.

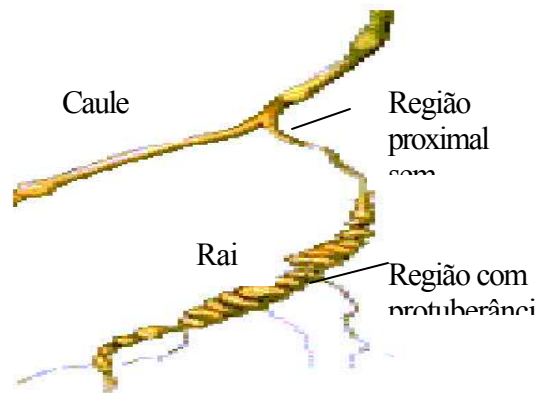


Fig. 1. Ilustração representativa da raiz e caule subterrâneo de *P. ipecacuanha*.

Foram coletadas, a cada amostragem, três raízes por reboleira, selecionadas em função do seu diâmetro médio, que deveria, preferencialmente, ser superior a 0,4 cm. No laboratório, imediatamente após a coleta, foram seccionados 4 cm de cada raiz, que correspondiam à região contendo o maior diâmetro. Foi observada a distância, a partir do início da raiz, em que foram localizados os segmentos de maior diâmetro. Posteriormente à medição do peso, volume, diâmetro médio e número de nódulos dos segmentos selecionados, estes foram deixados secar à temperatura ambiente, durante um período de sete dias, após os quais efetuou-se a medição do peso, volume e diâmetro médio dos segmentos secos.

### **2.3. Extração dos alcalóides**

O processo de extração foi realizado de acordo com Martins (2000), com modificações. De cada raiz foram feitas triplicatas, constituídas por 100mg de raízes secas pulverizadas, as quais foram submetidas à extração, com NaOH (0,1M) por 1 min, sob agitação, e éter etílico, durante 5 min; à temperatura ambiente. Após centrifugação (Centrífuga Excelsa Baby II – Modelo 206-R, 990X g – 5 minutos), a fase etérea contendo os alcalóides foi recolhida para frascos de vidro e evaporada até secura.

### **2.3. Preparo das soluções-padrão de emetina e cefelina**

Um total de oito soluções-padrão de Emetina (Boehringer Mannheim, Alemanha) e oito de Cefelina (Carl Roth, Alemanha) foram preparadas por diluição do padrão autêntico na fase móvel utilizada para quantificação cromatográfica. Obteve-se então as seguintes concentrações para emetina: 2; 6; 10; 20; 40; 60; 80; 100 g/ml e para cefelina: 0,2; 0,6; 1; 2; 4; 6; 8; 10 g/ml. Todas as soluções-padrão foram armazenadas em refrigerador, na ausência de luminosidade.

### **2.4. Análise dos alcalóides**

Os extratos de alcalóides totais foram ressuspensos em 2ml da fase móvel utilizada para análise dos mesmos e diluídos na proporção 1:21 nesta fase móvel. Segundo

recomendações de Martins (2000), um volume de 20 µl foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando-se coluna Shimadzu, modelo Shimpac ODS-18 (5 µm, 4,6mm x 250mm); temperatura ambiente e fase móvel constituída por acetato de sódio (0,25M – pH= 5,0)/ acetonitrila – proporção 9:5, em condições isocráticas. A taxa de fluxo foi 0,5ml/min, com detecção por monitoramento da absorbância a 288nm. A identificação dos alcalóides emetina e cefelina foi feita por comparação de seu tempo de retenção com o dos padrões analisados sob idênticas condições. A quantificação foi realizada pelo método do padrão externo, com curva de calibração.

## **2.5. Análise Estatística**

Foram realizados testes de média (Tukey), análise de variância e análises de correlação (Pearson e Spearman) através do aplicativo computacional SAEG ( Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas), versão 8.0 (SAEG, 2000).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 reúne os dados referentes à fenologia dos indivíduos das reboleiras ITA1, ITA2, ITA3 e VRB8. Um grande contraste foi observado nas três reboleiras ITA em relação à reboleira VRB8. ITA1, ITA2 e ITA3 possuíam folhas maduras durante quase todo o período analisado. Além disso, foram capazes de emitir brotações novas. Os ramos aéreos pré-existentes foram capazes de atingir as fases de florescimento e frutificação. Neste mesmo período, a parte aérea dos indivíduos de VRB8 esteve desprovida de folhas novas ou maduras, apresentando apenas ramos aéreos que, com o decorrer do tempo, tornaram-se secos. Estes indivíduos não foram capazes de chegar à fase reprodutiva. Em algumas épocas do período analisado, observou-se a emissão de novas brotações a partir de ramos subterrâneos de VRB8. Porém, o desenvolvimento destas brotações era logo interrompido e estas se secavam. O período de floração em ITA foi de aproximadamente três meses. Botões florais foram detectados desde o final de outubro até fevereiro. A frutificação em ITA foi observada durante o período de março a maio. Assis (1992) registrou época de floração semelhante à descrita acima, em indivíduos de populações de poaia ocorrentes em Minas Gerais, e em coleções de herbário, encontrou registros de floração em janeiro, março, maio, outubro e dezembro, e ocorrência de frutificação em fevereiro, abril e julho, em indivíduos da região da mata atlântica.

Tabela 1

Fenologia de quatro reboleiras de *Psychotria ipecacuanha*, durante o período de 09/09/1999 a 07/12/2000, sob as condições naturais presentes em áreas de sub-bosque de dois fragmentos florestais localizados nos municípios de Itaperuna–RJ (ITA) e de Visconde do Rio Branco–MG (VRB).

Data da visita	ITA1	ITA2	ITA3	VRB8
09/09/99	nv	nv	nv	1
14/10/99	nv	nv	nv	1
11/11/99	nv	nv	nv	1
21/12/99	4	4	4	1
09/01/00	nv	nv	nv	1
15/02/00	4	4	4	2
14/03/00	5	5	5	2
11/04/00	5	5	5	1
23/05/00	5	2	2	1
27/06/00	2	2	3	1
08/08/00	2	2	3	2
12/09/00	2	2	3	1
31/10/00	2	2	4	nv
07/12/00	2	2	4	nv

nv = não visitado; 1= ausência de folhas em ramos aéreos da reboleira; 2= ausência de folhas e presença de brotação em ramos aéreos e subterrâneos da reboleira; 3= presença de folhas em maturação plena em ramos aéreos da reboleira, ausência de florescimento ou frutificação; 4= presença de folhas em maturação plena e de inflorescências terminais em ramos aéreos da reboleira; 5= presença de folhas em maturação plena e de frutos em desenvolvimento em ramos aéreos da reboleira.

A radiação fotossinteticamente ativa incidente ao nível dos indivíduos de poaia das reboleiras ITA e VRB é apresentada na tabela 2. A análise de variância mostrou diferença significativa nos níveis de radiação fotossinteticamente ativa incidente entre as quatro

reboleiras estudadas e entre as épocas do ano em que as visitas foram realizadas. As plantas de VRB8 receberam a maior incidência de luminosidade média durante o período analisado (17,31%). Em contraste, as reboleiras localizadas no fragmento florestal de Itaperuna (RJ) receberam a menor incidência de luminosidade.

Tabela 2

Valores mínimos e máximos (em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), porcentagem média (% MÉDIA) e resumo da análise de variância da radiação fotossinteticamente ativa incidente em nível de quatro reboleiras de *P. ipecacuanha*, medida durante o período de fev/00 a dez/00, sob as condições naturais de áreas de sub-bosque em 2 fragmentos florestais localizados nos municípios de Itaperuna-RJ (ITA) e de Visconde do Rio Branco-MG (VRB).

	MÍNIMO	MÁXIMO	%MÉDIA
ITA1	5,17	346,13	6,13 b
ITA2	3,52	148,61	2,20 bc
ITA3	2,56	24,98	1,03 c
VRB8	39,17	266,70	17,31 a
F reboleira			35,21**
F época			6,17**

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

\*\* significativos ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

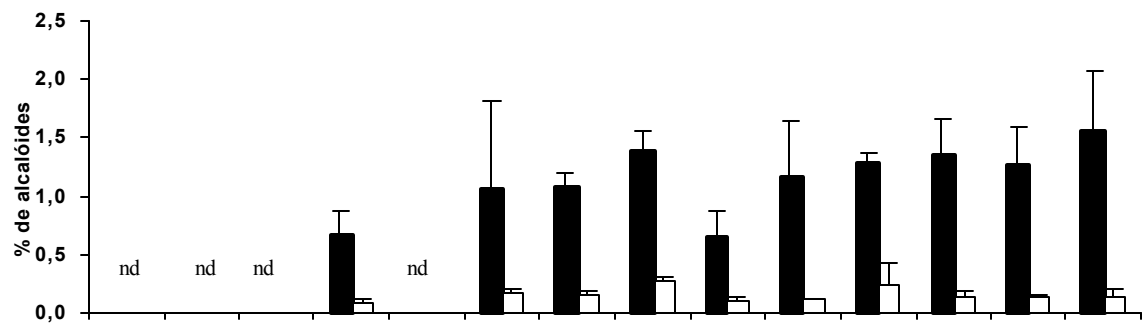
O valor médio da radiação fotossinteticamente ativa incidente ao nível das plantas de ITA3, durante o período analisado, foi de apenas 1,03% e esta se constituiu a reboleira que apresentou o maior índice de sombreamento. As épocas com maior nível de luminosidade média foram abril/00 e setembro/00, nas reboleiras localizadas em ITA e maio/00 e setembro/00, na reboleira VRB8 (dados não mostrados). *P. ipecacuanha* é uma espécie típica de regiões sombreadas e úmidas (Caminha Filho, 1943; Torres, 1972; Fisher, 1973). Tais características permitem o melhor desenvolvimento dessa espécie, como pôde-se observar para as reboleiras ITA, onde os indivíduos mantiveram suas folhas durante todo o

período de estudo e foram capazes de alcançar o estado reprodutivo, em contraste com os indivíduos da reboleira VRB8.

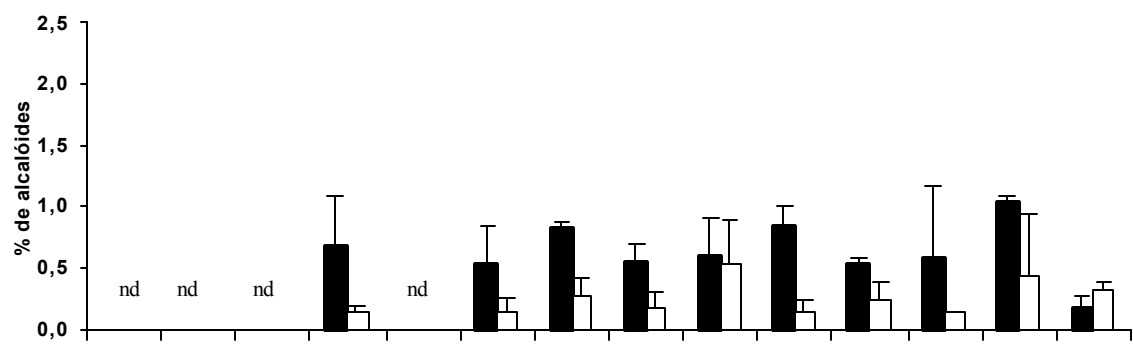
A variação sazonal no conteúdo dos alcalóides emetina e cefelina é ilustrada na figura 2, para cada uma das quatro reboleiras avaliadas. Uma oscilação muito discreta no teor dos alcalóides, principalmente emetina, foi verificada em ITA1, salvo para os meses de dezembro/99 e maio/00, em que se observou os menores teores de emetina e cefelina. Para a reboleira ITA2, verificou-se que a coleta realizada no mês de outubro implicou na obtenção de maiores quantidades do alcalóide emetina, enquanto a coleta realizada no mês de maio foi a de maior rendimento para o alcalóide cefelina. ITA3 é a reboleira que apresentou, em média, os menores teores de emetina e os maiores de cefelina, chegando a haver inversão na concentração desses alcalóides, com a quantidade de cefelina ultrapassando a de emetina, em alguns meses como abril, junho e outubro/00. Em VRB8, os níveis de emetina foram muito maiores que os de cefelina, numa proporção de aproximadamente 10:1, que se manteve em praticamente todo o ano. A porcentagem dos alcalóides na raiz não variou muito entre os meses, de modo que para essa reboleira esperasse encontrar altos teores de emetina em qualquer época do ano, exceto nos meses março e abril.

A figura 3 mostra cromatogramas referentes ao teor dos alcalóides emetina e cefelina presentes em raízes de indivíduos de poaia das quatro reboleiras em estudo, no mês de maio/2000.

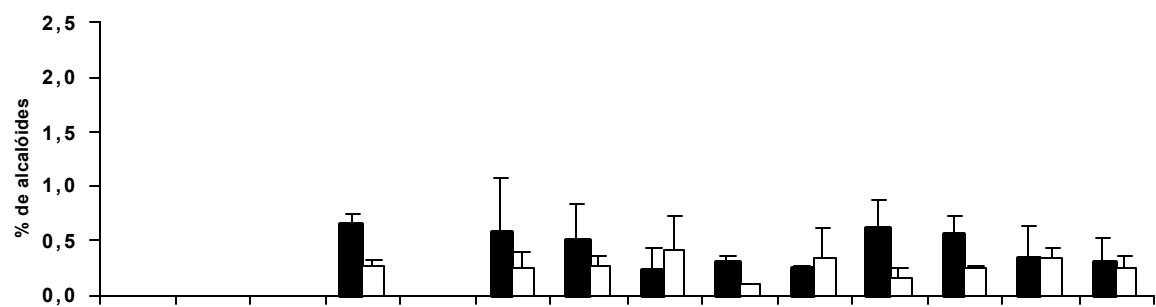
a)



b)



c)



d)

Fig. 2. Teores médios de emetina ( + ) e cefelina ( ) em raízes secas de *P. ipecacuanha* que se desenvolveram em condições naturais de áreas de sub-bosque em 2 fragmentos florestais localizados nos municípios de Itaperuna-RJ (ITA) e de Visconde do Rio Branco-MG (VRB). nd = não determinado

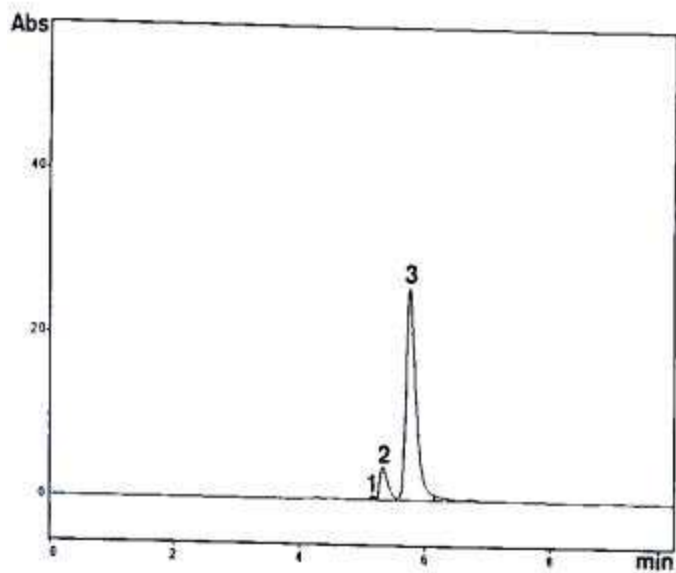
(a) ITA1; (b) ITA2; (c) ITA3; (d) VRB 8

nd nd nd nd

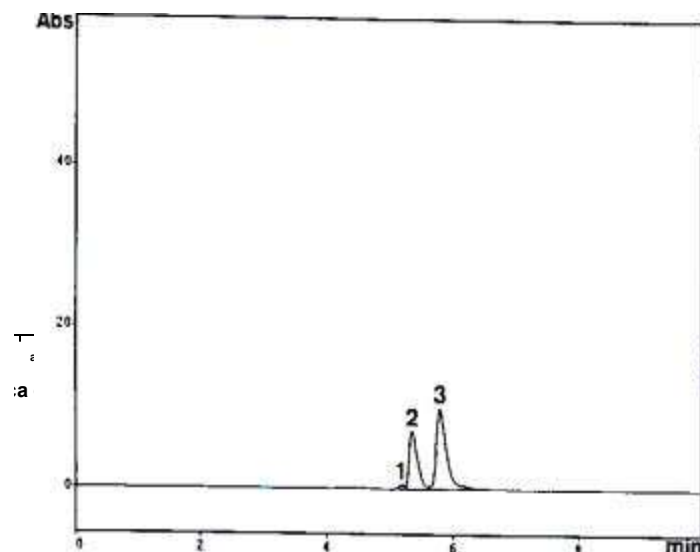
“

b)

nd nd



c)



d)

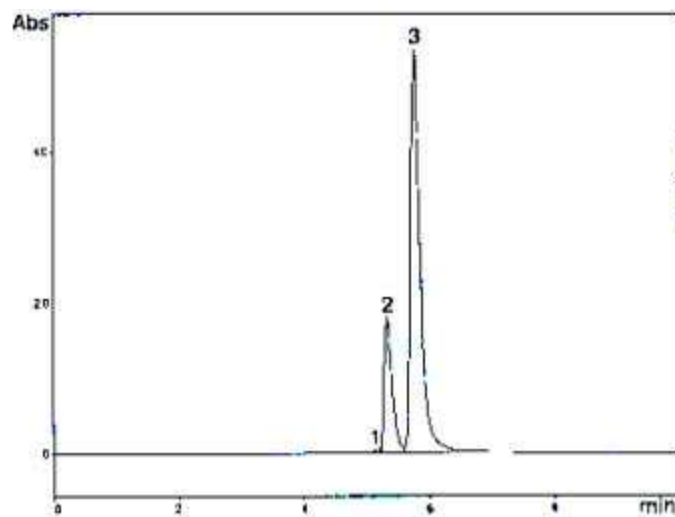
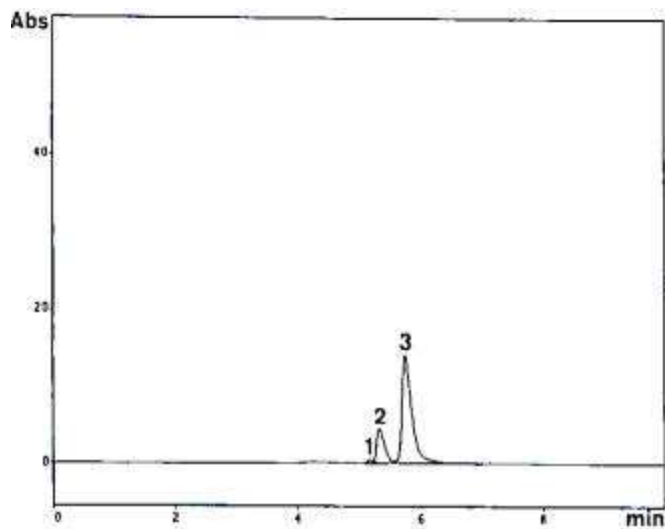


Fig. 3. Cromatogramas dos alcalóides extraídos de raízes secas de *P. ipecacuanha* coletadas em maio/00 e desenvolvidas em condições naturais de áreas de sub-bosque em 2 fragmentos florestais localizados nos municípios de Itaperuna-RJ (ITA) e Visconde do Rio Branco-MG (VRB). Picos: 1= não identificado; 2= cefelina; 3= emetina. Abs = 288nm  
(a) ITA1; (b) ITA2; (c) ITA3; (d) VRB8

Segundo os dados contidos na tabela 3, o conteúdo médio geral de emetina (0,93mg/100mg) foi maior que o conteúdo médio geral de cefelina (0,20mg/100mg). A relação média geral entre emetina e cefelina (7,38) encontrada no presente estudo aproxima-se dos resultados apresentados em análises realizadas anteriormente utilizando material genético de origem brasileira e se distingue da relação entre emetina e cefelina característica de material de origem centro-americana (Gupta et alli, 1986; Skorupa e Assis, 1998). Houve variação significativa em relação ao conteúdo de emetina e cefelina, à soma entre emetina e cefelina e à relação emetina/cefelina de acordo com a origem do material vegetal estudado. Os acúmulos de emetina e a soma de emetina e cefelina em raízes provenientes de VRB8 e de ITA1 foram superiores àqueles obtidos de raízes originárias de ITA2 ou de ITA3. Os teores de cefelina apresentados por raízes de ITA2 e ITA3 foram superiores aos encontrados em raízes de ITA1. As diferenças na porcentagem desses alcalóides podem ocorrer em função do local de origem das raízes (Assis, 1992) e de determinados fatores ambientais, como a temperatura (Yoshimatsu et alli, 1994). O teor de alcalóides também é influenciado pela idade das raízes (Addor, 1945), ocorrendo expressão destes em maior taxa quando a planta está adulta, com aproximadamente três a quatro anos (Jha et alli, 1988). As reboleiras ITA1, ITA2 e ITA3 estão localizadas em um mesmo fragmento florestal e distanciam entre si em menos de 50m. Dessa forma, é aceitável a hipótese de que essas reboleiras estejam sob o efeito, em níveis semelhantes, de fatores

ambientais, tais como temperatura, precipitação e fertilidade do solo. Segundo esta ótica, os resultados evidenciam a superioridade genética de ITA1 com relação à capacidade de acumular emetina em níveis mais elevados quando comparada à ITA2 e ITA3. Por outro lado, ITA2 e ITA3 mostraram superioridade para a produção de cefelina, em relação à ITA1. O valor médio geral de emetina e de cefelina obtido das amostras analisadas é inferior aos valores mencionados para diversas raízes de poaia amostradas no Brasil, cujos níveis específicos de emetina variam de 1,5 a 1,7% e os de cefelina situam-se entre 0,6 e 0,7% (Skorupa e Assis, 1998). As reboleiras VRB8 e ITA1 apresentaram as maiores relações emetina/cefelina, em valores que foram superiores, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, quando comparados aos valores obtidos para ITA2 e ITA3. Não houve variação significativa no conteúdo de emetina e de cefelina, soma de emetina e cefelina e relação emetina/cefelina, quando se considerou a época de amostragem das raízes

Tabela 3

Valores médios (mg/100mg) e resumo da análise de variância do conteúdo de emetina (EME) e de cefelina (CEF) extraídos de raízes secas de *P. ipecacuanha* provenientes de quatro reboleiras que se desenvolveram em condições naturais de áreas de sub-bosque em 2 fragmentos florestais localizados nos municípios de Itaperuna-RJ (ITA) e de Visconde do Rio Branco-MG (VRB).

	EME	CEF	EME+CEF	EME/CEF
ITA 1	1,16 b	0,13 b	1,30 b	9,59 a
ITA 2	0,65 c	0,24 a	0,90 c	4,82 b
ITA 3	0,46 c	0,25 a	0,70 c	2,98 b
VRB 8	1,44 a	0,16 ab	1,61 a	12,15 a
Média geral	0,93	0,20	1,13	7,38
F reboleira	39,83**	3,98**	26,10**	28,25**
F época	1,74	0,66	1,51	1,61

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\* significativos ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

No entanto, foi observada apenas para a reboleira VRB8, através do teste de Tukey, uma diferença nos teores de emetina segundo a época de coleta de raízes, ao nível de 1% de probabilidade. A tabela 4 mostra as diferenças no conteúdo de emetina em raízes de VRB8 coletadas durante 12 épocas, entre setembro/1999 e setembro/2000. Apesar de o conteúdo médio de emetina ter apresentado variação significativa de acordo com a época da amostragem, as diferenças foram, em geral, pequenas e os valores máximo e mínimo atingiram 2,24 e 0,81mg/100mg, respectivamente. Durante o período estudado, raízes coletadas durante os meses de março e abril de 2000, na reboleira VRB8, apresentaram os menores valores no conteúdo de emetina, atingindo 0,97 e 0,81 mg/100mg, respectivamente.

Tabela 4

Valores médios (mg/100mg) do conteúdo de emetina (EME) extraído de raízes secas de *P. ipecacuanha* provenientes de uma reboleira que se desenvolveu em condições naturais de área de sub-bosque em um fragmento florestal localizado no município de Visconde do Rio Branco-MG (VRB), durante o período de set/99 a set/00.

Época de coleta	EME (mg/100mg)
Set/99	1,12ab
Out/99	1,74ab
Nov/99	1,47ab

Dez/99	1,26ab
Jan/00	1,63ab
Fev/00	1,46ab
Mar/00	0,97b
Abr/00	0,81b
Mai/00	1,22ab
Jun/00	1,79ab
Ago/00	1,57ab
Set/00	2,24a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Estudos subseqüentes necessitam ser realizados para averiguar a possibilidade de que este baixo teor de emetina possa se repetir em raízes coletadas em anos seguintes, em épocas similares.

A variação sazonal de princípios ativos de plantas medicinais compreende variação química temporal e espacial, ao longo de eixos genéticos, ecológicos e fisiológicos (Tétényi, 1970, em Brown Jr., 1988). Entretanto, a pequena variação mensal encontrada no presente estudo não permitiu o estabelecimento de um padrão de sazonalidade no acúmulo de emetina, em *P. ipecacuanha*. Gupta et alli (1986) detectaram variação sazonal no conteúdo de emetina e cefelina em raízes da poaia do Panamá, com menor conteúdo de emetina em março e maiores teores em junho e outubro. Em indivíduos de *P. ipecacuanha* cultivados no Japão, o conteúdo máximo de emetina foi observado em dezembro (Yoshimatsu et alli, 1994). Um estudo abrangendo vários ciclos anuais de desenvolvimento da espécie seria útil para se avaliar a possibilidade de que épocas similares de anos subseqüentes possam contribuir de forma distinta para o acúmulo dos alcalóides de *P. ipecacuanha*. O conteúdo de emetina em VRB8, por exemplo, obtido de raízes coletadas no mês de setembro de 1999 atingiu o valor de 1,12 mg/100mg; enquanto que em raízes

coletadas no mesmo mês do ano seguinte, foi de 2,24 mg/100mg. A ocorrência de padrões melhor definidos de sazonalidade tem sido demonstrada para outros metabólitos secundários, especialmente óleos essenciais e compostos fenólicos em geral (Southwell e Bourke, 2001; Silva et alli, 1999; Vogel et alli,1996; Randhawa e Kaur, 1996; Court et alli, 1993).

A tabela 5 reúne os resultados da análise de variância e do teste de médias de diversos atributos físicos da raiz de poaia. As reboleiras diferiram entre si com relação a dez das doze características físicas analisadas. O comprimento do filamento e a distância entre o final do filamento e o segmento de raiz selecionado para as análises foram as únicas características que não se alteraram com relação às quatro reboleiras comparadas. Em geral, raízes provenientes da reboleira ITA1 apresentaram características com valores superiores àqueles observados nas raízes oriundas de ITA2 e ITA3 e semelhantes aos registrados para VRB8. Raízes de ITA1 e VRB8, por exemplo, apresentaram maior diâmetro médio, maior volume, maior peso e maior densidade do que raízes das outras procedências analisadas.

Tabela 5

Valores médios de 12 características de raízes de *P. ipecacuanha* provenientes de quatro reboleiras que se desenvolveram em condições naturais de áreas de sub-bosque em 2 fragmentos florestais localizados nos municípios de Itaperuna-RJ (ITA) e de Visconde do Rio Branco-MG (VRB).

	COF	DIF	DRF	PRT	DMF	VOF	POF	DEF	DMS	VOS	POS	DES
ITA1	2,03 a	0,20a b	3,99 a	6,57 b	0,52a	0,89a	1,13a	1294,07 ab	0,39 a	0,48 a	0,66a	1368,65 a
ITA2	2,09 a	0,22a	3,54 a	7,55 a	0,45b c	0,66b c	0,77b	1215,00 b	0,30 b	0,30 b	0,37b c	1250,68 ab
ITA3	1,85 a	0,15b	3,23 a	7,36 a	0,42c	0,56c	0,67b	1237,38 b	0,30 b	0,28 b	0,32c	1159,94 b
VRB8	2,06 a	0,21a	4,20 a	7,45 a	0,48a b	0,75a b	0,97a	1363,37 a	0,35 a	0,40 a	0,45b	1144,66 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**COF**= comprimento (cm) do filamento entre o caule e a raiz; **DIF**= diâmetro (cm) do filamento entre o caule e a raiz; **DRF**= distância (cm) entre o final do filamento e o segmento de raiz selecionado para estudo; **PRT**= nº de protuberâncias/cm do segmento selecionado; **DMF**= diâmetro médio (cm) do segmento fresco; **VOF**= volume (cm<sup>3</sup>) do segmento fresco; **POF**= peso (g) do segmento fresco; **DEF**= densidade (mg/cm<sup>3</sup>) do segmento fresco; **DMS**= diâmetro médio (cm) do segmento seco; **VOS**= volume (cm<sup>3</sup>) do segmento seco; **POS**= peso (g) do segmento seco; **DES**= densidade (mg/cm<sup>3</sup>) do segmento seco.

Em contraste, raízes provenientes de ITA3 apresentaram os menores valores com relação à praticamente todas as características analisadas. Entretanto, a parte aérea de ITA3 apresentou-se mais exuberante (dado não mostrado), o que pode ter ocorrido em função do maior sombreamento a que esteve submetida. ITA1 apresentou o menor valor com relação ao número de protuberâncias/cm (6,57/cm). Este valor foi estatisticamente inferior ao observado em todas as outras três reboleiras, pelo teste de Tukey.

Os resultados da análise de correlação entre porcentagem de emetina e cefelina, total e relação entre esses alcalóides, estão sumarizados na tabela 6. Houve correlação significativa entre os conteúdos de emetina e cefelina. Maior acúmulo de emetina implicou consistentemente em menor acúmulo de cefelina.

Tabela 6

Correlações simples (Pearson) entre o conteúdo de emetina (EME) e de cefelina (CEF) extraídos de raízes secas de *P. ipecacuanha*.

Características	EME	CEF	EME + CEF	EME/CEF
EME	-	-0,23**	0,96**	0,72**
CEF		-	0,06	-0,55**

TOTAL	-	0,57**
EME/CEF	-	-

\*\* Significativos a 1% de probabilidade

Com referência às características físicas das raízes, os resultados dos estudos de correlação (Tabela 7) mostraram que o nível de incidência da radiação fotossinteticamente ativa apresentou correlação significativa, ao nível de 1% de probabilidade, com várias características físicas da raiz.

Tabela 7

Correlações simples (Pearson) entre 12 características físicas da raiz e entre características físicas e porcentagem da radiação fotossinteticamente ativa incidente em nível das reboleiras de *P. ipecacuanha*.

Característica	COF	DIF	DRF	PRT	DMF	VOF	POF	DEF	DMS	VOS	POS	DES	%RFA
COF	-	0,26	0,07	-0,14	0,01	0,00	-0,03	-0,06	-0,01	-0,01	-0,01	-0,04	0,09
DIF		-	0,04	0,10	0,27**	0,26**	0,24**	-0,12	0,14	0,13	0,17*	0,06	0,14
DRF			-	0,06	-0,08	-0,08	-0,01	0,16*	0,15*	0,13	0,12	-0,01	0,01
PRT				-	-0,23**	-0,24**	-0,21**	0,07	-0,33**	-0,34**	-0,28**	0,08	-0,22**
DMF					-	0,99**	0,87**	-0,45**	0,66**	0,67**	0,70**	0,15*	0,22**
VOF						-	0,88**	-0,42**	0,67**	0,69**	0,72**	0,14	0,26**
POF							-	0,02	0,77**	0,78**	0,85**	0,23**	0,26**
DEF								-	0,05	0,04	0,08	0,11	0,09
DMS									-	0,99**	0,88**	-0,12	0,33**
VOS										-	0,89**	-0,11	0,35**
POS											-	0,32**	0,23**
DES												-	-0,15
%RFA													-

\* Significativos a 5% de probabilidade.

\*\* Significativos a 1% de probabilidade.

**COF**= comprimento (cm) do filamento entre o caule e a raiz; **DIF**= diâmetro (cm) do filamento entre o caule e a raiz; **DRF**= distância (cm) entre o final do filamento e o segmento de raiz selecionado para estudo; **PRT**= n° de protuberâncias/cm do segmento selecionado; **DMF**= diâmetro médio (cm) do segmento fresco; **VOF**= volume (cm<sup>3</sup>) do segmento fresco; **POF**= peso (g) do segmento fresco; **DEF**= densidade (mg/cm<sup>3</sup>) do segmento fresco; **DMS**= diâmetro médio (cm) do segmento seco; **VOS**= volume (cm<sup>3</sup>) do segmento seco; **POS**= peso (g) do segmento seco; **DES**= densidade (mg/cm<sup>3</sup>) do segmento seco; **%RFA**= porcentagem de radiação fotossinteticamente ativa incidente sobre as reboleiras.

Raízes com maior diâmetro médio, mais pesadas e de maior volume apresentaram menor número de protuberâncias/cm e foram coletadas de reboleiras que estiveram expostas a um nível de luminosidade mais elevado. De modo contrário, níveis elevados de sombreamento na reboleira estiveram correlacionados com a coleta de raízes que apresentavam menor número de protuberâncias/cm de raiz. Correlações simples, obtidas pelo teste de Spearman, mostraram a existência de correlação significativa entre estágio de desenvolvimento da reboleira e três das doze características físicas da raiz de *P. ipecacuanha* consideradas neste estudo. A correlação do estágio de desenvolvimento com o diâmetro médio do segmento fresco e com o volume médio do segmento fresco foi positiva (0,36; para ambas as comparações), enquanto a correlação do estágio de desenvolvimento com a densidade do segmento fresco foi negativa (-0,41).

O conteúdo de emetina na raiz seca apresentou correlação positiva com seis das doze características físicas da raiz de *P. ipecacuanha* (Tabela 8). Dessa forma, o conteúdo de emetina foi significativamente maior em segmentos de maior diâmetro quando secos e mais distantes do final do filamento da raiz. De modo similar, raízes que apresentaram maior peso e maior densidade foram capazes de acumular maior teor de emetina. Por outro lado, o

acúmulo de cefelina foi negativamente correlacionado àquelas características físicas que indicaram maior teor de emetina. Os resultados obtidos indicaram que o acúmulo de emetina apresentou correlação positiva com a quantidade de radiação fotossinteticamente ativa incidente sobre as plantas de *P. ipecacuanha*. Por outro lado, nenhuma correlação foi demonstrada entre o conteúdo de cefelina e a quantidade de radiação fotossinteticamente ativa incidente. Jha et alli (1988) referenciam a época de floração como ideal para obtenção de maiores teores de alcalóides em poaia, entretanto, neste trabalho, nenhuma correlação significativa entre estágio de desenvolvimento e teor de alcalóides foi observada (dado não mostrado).

Tabela 8

Correlações simples (Pearson) entre o conteúdo de alcalóides em raiz seca e 12 características físicas da raiz e entre o conteúdo de alcalóides em raiz seca e porcentagem da radiação fotossinteticamente ativa incidente em nível das reboleiras de *P. ipecacuanha*.

Características	EME	CEF	EME + CEF	EME/CEF
COF	0,00	0,04	0,01	-0,01
DIF	0,07	0,04	0,08	0,01
DRF	0,16*	-0,33**	0,06	0,34**
PRT	-0,14	0,09	-0,12	-0,05
DMF	0,10	-0,10	0,07	0,17*
VOF	0,12	-0,12	0,09	0,19*
POF	0,22**	-0,19*	0,17*	0,32**
DEF	0,21**	-0,12	0,18*	0,25**
DMS	0,28**	-0,39**	0,17*	0,39**
VOS	0,28**	-0,36**	0,18*	0,38**
POS	0,29**	-0,34**	0,20*	0,38**

DES	0,09	0,03	0,10	0,04
%RFA	0,52**	-0,11	0,50**	0,36**

\* Significativos a 5% de probabilidade.

\*\* Significativos a 1% de probabilidade.

**COF**= comprimento (cm) do filamento entre o caule e a raiz; **DIF**= diâmetro (cm) do filamento entre o caule e a raiz; **DRF**= distância (cm) entre o final do filamento e o segmento de raiz selecionado para estudo; **PRT**= nº de protuberâncias/cm do segmento selecionado; **DMF**= diâmetro médio (cm) do segmento fresco; **VOF**= volume (cm<sup>3</sup>) do segmento fresco; **POF**= peso (g) do segmento fresco; **DEF**= densidade (mg/cm<sup>3</sup>) do segmento fresco; **DMS**= diâmetro médio (cm) do segmento seco; **VOS**= volume (cm<sup>3</sup>) do segmento seco; **POS**= peso (g) do segmento seco; **DES**= densidade (mg/cm<sup>3</sup>) do segmento seco; **%RFA**= porcentagem de radiação fotossinteticamente ativa incidente sobre as reboleiras.

#### 4. CONCLUSÕES

Pelo presente estudo, pode-se concluir que:

- 1) O conteúdo de emetina e de cefelina variou significativamente segundo a origem geográfica das raízes, sendo esta variação verificada até mesmo em reboleiras localizadas em um único fragmento florestal que estava sob o efeito de condições

ambientais similares. Este fato demonstra a existência de variabilidade genética para o teor destes alcalóides e indica que a seleção de genótipos mais produtivos em emetina e cefelina pode ser viável quando realizada em populações de *P.*

*ipecacuanha* nativa do sudeste brasileiro.

- 2) O teor de emetina em raízes apresentou variação significativa dependendo das condições de sombreamento do local onde as reboleiras se desenvolveram e até mesmo das características físicas do segmento de raiz selecionado para quantificação do alcalóide.
- 3) Apesar de ter sido demonstrada a existência de oscilações no conteúdo de alcalóides em raízes de *P. ipecacuanha*, esta variação não apresentou um padrão claro de sazonalidade durante o período estudado. Logo, os resultados obtidos não permitem a formulação de uma hipótese que justifique a escolha de uma determinada época do ano na qual se deveria coletar raízes de *P. ipecacuanha* visando a obtenção de um maior ou menor teor de emetina ou de cefelina.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDOR, A. A. Considerações acerca da Poaia. **Bol. Minist. Agric. (Rio de Janeiro)** v. 34, n. 5, p.1-28, 1945.

- ASSIS, M. C. **Aspectos taxonômicos, anatômicos e econômicos da “ipeca” *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (RUBIACEAE).** 1992. 132p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ASSIS, M. C.; GIULIETTI, A. M. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de “ipecacuanha” – *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Rev. Brasil. Bot.** v. 22, n. 2, p. 205-216, 1999.
- BROWN JR., K. S. Engenharia ecológica: Novas perspectivas de seleção e manejo de plantas medicinais. **Acta Amazonica** v. 18, n. 1-2, p. 291-303, 1988.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants.** Paris: Lavoisier, 1995.
- BURHANS, W. C.; VASSILEY, L. T.; WU, J. M.; NALLASETH, F. S.; DEPAMPHILIS, M. L. Emetine allows identification of origins of mammalian DNA replication by imbalanced DNA synthesis, not through conservative nucleosome segregation. **EMBO Journal** v. 10, p. 4351-4360, 1991.
- CAMINHA FILHO, A. A ipecacuanha: *Evea ipecacuanha* (Brotero) Standley. **Bol. Minist. Agric. (Rio de Janeiro)** v. 32, n. 10, p. 33-52, 1943.
- CHATTERJEE, S. K. Domestication studies of some medicinally important exotic plants growing in India. **Acta Horticulturae** v. 331, p. 151-158, 1993.
- CHOW, S. C.; PETERS, I.; ORRENIUS, S. Reevaluation of the role of de novo protein synthesis in rat thymocyte apoptosis. **Experimental Cell Research** v. 216, n.1, p. 149-159, 1995.
- COURT, W. A.; ROY, R. C.; POCS, R. Effect of harvest date on the yield and quality of the essential oil of peppermint. **Canadian Journal Plant Science.** v. 73, p. 815-824, 1993.

- FISHER, H. H. Origin and Uses of Ipecac. **Economic Botany** v. 27, p. 231-234, 1973.
- GUPTA, M.P.; CEDENO, J.E.; SOTO, A.A.; CORREA, D., M. A. Seasonal variation in the alkaloidal content of Panamanian ipecac. **Fitoterapia** v. IVII, n. 3, p. 147-151, 1986.
- JHA, S., SAHU, N. P., MAHATO, B. Production of the alkaloids emetine and cephaeline in callus cultures of *Cephaelis ipecacuanha*. **Planta Medica** v. 54, p. 504-506, 1988.
- JHA, S., et alli. Production of emetine and cephaeline from cell suspension and excised root cultures of *Cephaelis ipecacuanha*. **Phytochemistry** v. 30, n. 12, p. 3999-4003, 1991.
- LEWIS, W. H.; ELVIN-LEWIS, P. F. **Medical Botany**. New York: John Wiley & Sons, 1977.
- MARTINS, E. R. **Conservação da Poaia (*Psychotria ipecacuanha*): coleta, ecogeografia, variabilidade genética e caracterização reprodutiva**. 2000. 109p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro.
- OLIVEIRA, L. O.; MARTINS, E. R. **O desafio das plantas medicinais brasileiras. I – o caso da poaia (*Cephaelis ipecacuanha*)**. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF, 1998.
- PINTO, C. M. D. **A ipecacuanha**. In: Simpósio Internacional sobre plantas de interesse econômico de la Flora Amazonica. IICA. Trópicos. Informes de conferencias, cursos e reuniones nº 93. Costa Rica, 1976.
- RANDHAWA, G. S.; KAUR, S. Optimization of harvesting time and row spacing for the quality oil in japanese mint (*Mentha arvensis* L.) varieties. **Acta Horticulturae** v. 426, p. 615-622, 1996.
- SAEG, versão 8.0.: Sistema de Análises Estatísticas. UFV: FUNARBE, 2000.
- SAHU, N. P.; MAHATO, S. B. Determination of emetine and cephaeline in ipecac roots by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography** v. 238, p. 525-529, 1982.

- SCHARMAN, E. J.; HUTZLER, J. M.; ROSENCRANCE, J. G.; TRACY, T. S. Single dose pharmacokinetics of syrup of ipecac. **Therapeutic Drug Monitoring** v. 22, n. 5, p. 566-573, 2000.
- SIDHU, J. S.; OMIECINSKI, C. J. Protein synthesis inhibitors exhibit a nonspecific effect on phenobarbital-inducible cytochrome P450 gene expression in primary rat hepatocytes. **Journal of Biological Chemistry** v. 273, n. 8, p. 4769-4775, 1998.
- SILVA, M. G. V.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Fitoterapia** v. 70, p. 32-34, 1999.
- SKORUPA, L. A.; ASSIS, M. C. Collecting and conserving ipecac (*Psychotria ipecacuanha*, Rubiaceae) germplasm in Brazil. **Economic Botany** v. 52, p. 209-210, 1998.
- SOUTHWELL, I. A.; BOURKE, C. A. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort). **Phytochemistry** v. 56, p. 437-441, 2001.
- TORRES, L. A. C. **Contribucion al conocimiento de la *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich., com especial referencia a Colombia.** Simposio Internacional sobre plantas de interesse econômico de la Flora Amazonica, Belém. Belém: IICA, 1972, p. 123-136.
- VOGELI, H.; MUÑOZ, J.; RAZMILIC, I. Efecto de la época de cosecha sobre el rendimiento de producto deshidratado y de aceite esencial en orégano (*Ocimum vulgare* L.). **Ciencia e Investigación Agraria** v. 23, n. 2-3, p. 55-60, 1996.
- YOSHIMATSU, K.; SHIMOMURA, K. *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard (Brazilian Ipecac): micropropagation and the production of emetine and cephaeline. In: Bajaj, Y. P. S. (Ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry – medicinal and aromatic plants IV.** Berlin: Springer-Verlag, v. 21. 1993.

YOSHIMATSU, K.; AOI, K.; SHIMOMURA, K. Clonal propagation of *Cephaelis ipecacuanha* (II): characteristics of regenerated plants field-cultivated in two districts. **Journal of Plant Physiology** v. 144, p. 22-25, 1994.

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DA RAIZ E CAULE DE *Psychotria*  
*ipecacuanha* (Brot.) Stokes E HISTOLOCALIZAÇÃO DE ALCALÓIDES**

1. INTRODUÇÃO

A família Rubiaceae é bastante ampla, com cerca de 400 a 500 gêneros e 6000 a 7000 espécies, e possui distribuição mundial, ocorrendo principalmente nas regiões tropicais (Barroso, 1991).

As plantas dessa família possuem hábito variado, compreendendo ervas, arbustos, subarbustos, árvores e trepadeiras (Robbrect, 1988; Joly, 1993), cujas folhas são comumente opostas, com estípulas interpeciolares, geralmente, portando coléteres em sua superfície interna (Cronquist, 1981). As flores são brancas ou vermelho-amarelas, às vezes azuis, hermafroditas, com ovário ínfero, bilocular (Joly, 1993). Cronquist (1981) menciona para a família: a ocorrência de crescimento secundário anômalo em alguns representantes; ausência de floema interno; produção de grande variedade de repelentes químicos, como antraquinonas, várias classes de alcalóides, taninos e outros; presença de células ou cavidades secretoras no tecido parenquimático; e também de células contendo cristais, geralmente ráfides de oxalato de cálcio, na epiderme das folhas e em tecidos parenquimáticos.

No Brasil, a família Rubiaceae está representada por três sub-famílias, subdivididas em tribos, em função de uma série de características morfoanatômicas (Barroso, 1991). A sub-família Rubioideae destaca-se pela predominância de elementos herbáceos ou subarbustivos e heterostilia freqüente, dentre outras características (Barroso, 1991). Esta sub-família inclui a espécie *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes, vulgarmente conhecida por poaia, ipeca ou ipecacuanha (Pio Corrêa, 1969). *P. ipecacuanha* é nativa da Mata Atlântica brasileira e, atualmente, distribui-se de forma descontínua nas florestas da América Central e norte da América do Sul (Colômbia), no sul da floresta amazônica (nos estados de Rondônia e Mato Grosso) e na Mata Atlântica (nos estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro, principalmente) (Assis, 1992).

A poaia é referida na literatura como pertencente a vários gêneros, sendo mais comumente incluída nos gêneros *Cephaelis* e *Psychotria*. Nas últimas décadas, houve uma uniformidade no sentido da denominação *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich. Entretanto, Assis (1992) mostrou que há uma íntima relação entre esses dois gêneros e, através de detalhada análise taxonômica da espécie, concluiu que a denominação mais correta para a poaia é *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes.

*P. ipecacuanha* é uma planta herbácea, de crescimento lento, cujo caule atinge, em média, 30-40 cm de altura. Ao alcançar esta altura, o caule curva-se em direção ao solo, tornando-se muitas vezes reptante e formando falsos rizomas que emitem, dos nós, raízes laterais que se transformam em raízes tuberosas ricas em substâncias de reserva (Pinto, 1976). Pio Corrêa (1969) também menciona a propriedade rizogênica dos caules dessa espécie. As raízes, de cor pardo-acinzentada e sabor amargo característico (Occhioni, 1971), têm aspecto anelado, com 20 a 40 cm de comprimento, apresentando os anéis em alto relevo (Miranda, 1983).

Nas Rubiaceae, apesar de os caracteres taxonômicos clássicos serem muito bem estudados, muitas características como a estrutura do pólen, a disposição dos tecidos vasculares e a distribuição dos vários metabólitos secundários são, ainda, muito pouco conhecidas (Cronquist, 1981).

Poucos trabalhos tratam da caracterização anatômica de *P. ipecacuanha*, sendo em sua maioria, restritos à descrição da raiz e do caule (Moeller, 1927; Cruz, 1935; Silva, 1936; Lemesle, 1947; Wallis, 1966; Costa, 1975). Em relação à anatomia foliar da poaia, são conhecidos os trabalhos de Alencar & Santos (1980) e Assis & Giulietti (1999). De acordo com estes autores, as folhas da espécie são dorsiventrais, com cutícula delgada, epiderme unisseriada, hipoestomáticas, com estômatos paracíticos e tricomas uni-tricelulares em ambas as faces. Os feixes vasculares são de pequeno porte, com xilema separado do floema por fibras.

As raízes da poaia contêm diversos alcalóides, sendo os principais: emetina, cefelina e psicotrina, aos quais são atribuídas as propriedades terapêuticas dessa planta (Addor, 1945). Emetina possui eficácia contra disenteria e hepatite amebiana causada por *Entamoeba histolytica* (Sahu & Mahato, 1982) e ação expectorante (Teshima et al, 1988), bem como ação inibidora da síntese de proteínas (Chow et alli, 1995; Sidhu e Omiecinski, 1998) e de DNA (Burhans et alli, 1991; Aladjem e Wahl, 1997). A poaia apresenta, ainda propriedade emética relacionada à emetina (em altas doses), à cefelina (Itoh et al, 1999) e à psicotrina (Skorupa & Assis, 1998).

Acredita-se que a idade das raízes tenha grande influência sobre o conteúdo de alcalóides e que estes se localizem na camada cortical da raiz (Pio Corrêa, 1969; Torres, 1972). Entretanto, nenhum trabalho específico para localização histoquímica dos alcalóides em raiz de poaia foi realizado.

De acordo com Runeckles & Tso (1972), os alcalóides ocorrem em todos os tipos celulares de órgãos jovens das plantas, porém, com o desenvolvimento, estes metabólitos se concentram em células epidérmicas, subepidérmicas e endodérmicas, e em células parenquimáticas especializadas. Os alcalóides, assim como diversos constituintes farmacologicamente ativos, encontram-se dissolvidos no citoplasma das células e em particular no suco vacuolar (Costa, 1975; Costa, 1982).

Este trabalho teve como objetivo a caracterização anatômica da raiz e do caule de *Psychotria ipecacuanha*, em diferentes estádios de desenvolvimento visando obter maiores informações sobre a constituição e formação das saliências (“anéis”) da raiz; bem como sobre a histolocalização dos alcalóides nas raízes e caule dessa espécie.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1- Coleta do material para estudo

Raízes e caule de *Psychotria ipecacuanha* foram coletados, em condições naturais de desenvolvimento, de uma reboleira (ITA 1) ocorrente em um fragmento florestal localizado no município de Itaperuna (RJ), em dezembro de 1999.

O material coletado foi identificado, acondicionado em sacos plásticos e transportado até o laboratório, onde cada raiz foi seccionada perpendicularmente ao longo do seu eixo, originando fragmentos sucessivos de 1 cm de comprimento. Estes fragmentos foram fixados em FAA<sub>50</sub> durante uma semana, foram, em seguida, lavados com álcool 50% (v./v.) e conservados em álcool 70% (v./v.). Procedimento semelhante foi realizado para o caule aéreo e o subterrâneo.

Um indivíduo inteiro, em floração, foi coletado e foi depositado no herbário da Universidade Federal de Viçosa (VIC), sob o número 24.172, como material testemunha.

### 2.2 -Obtenção dos cortes histológicos

Os segmentos de raiz e caule foram submetidas à desidratação etílica e incluídos em parafina com cera de abelha a 8%. Foram obtidos cortes seriados, longitudinais e transversais, com 8 µm de espessura, utilizando-se um micrótomo rotativo LEICA RM 2155. Após desparafinização, os cortes foram corados com fucsina 0,5%, por um período de doze horas, seguindo-se coloração com azul de astra, durante cinco minutos, segundo a

técnica modificada de Roeser, adaptada de Luque et al (1996). Os cortes foram, em seguida, desidratados e montados em lâminas com bálsamo do Canadá.

Para estudo das células do sistema vascular, fragmentos, de aproximadamente 0,5 cm, da raiz (região central) e do caule, foram submetidos à maceração com solução de Jeffrey (Johansen, 1940); o material foi, após lavagem em água destilada, corado com azul de anilina ou safranina e montado entre lâmina e lamínula, em bálsamo do Canadá.

A documentação fotográfica foi realizada em um microscópio Olympus AX70, com sistema U-Photo, do laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa.

### **2.3 - Histolocalização dos alcalóides**

**Para localização dos alcalóides, foram obtidos cortes, de 20-30  $\mu$ m de espessura, por meio de um micrótomo de mesa, de raízes e caules de *P. ipecacuanha* (material teste) e também da raiz de *Hibiscus esculentum*, utilizada para controle negativo, por não conter alcalóides.**

Alguns cortes da raiz de *P. ipecacuanha* permaneceram em solução de ácido tartárico 5% (Johansen, 1940), por um período de cinco semanas (Corsi e Biasci, 1998), para remoção dos alcalóides, e foram também utilizados como controle negativo.

Os cortes do material teste e controle foram imersos no reagente de Dragendorff, conforme realizado em Corsi & Biasci (1998). Em seguida, os cortes foram observados e fotografados em um fotomicroscópio Olympus BX50, do Laboratório de Associações

Micorrízicas, situado no BIOAGRO – UFV.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 - Caracterização anatômica da raiz

- **Estrutura primária**

Em corte transversal, a raiz apresenta epiderme unisseriada, constituída por células poligonais, de tamanhos variados e parede pouco espessada.

O córtex é parenquimático, sendo constituído por cerca de cinco camadas de células de tamanho irregular e formas variadas, contendo grande quantidade de amido, funcionando, dessa forma, como parênquima de reserva. As células se apresentam dispostas de forma concêntrica. Observa-se endoderme característica, mas sem evidência de estrias de Caspary. Internamente à endoderme, há um periciclo nítido, constituído por uma camada de células, delimitando o cilindro vascular (Figura 1).

A raiz apresenta sistema vascular formado por xilema diarco e dois grupos de floema (Figuras 1 e 2). Wallis (1966) relata o xilema como triarco, para esta espécie. Entretanto, sabe-se que a estrutura do xilema pode variar segundo a região da raiz (Esau, 1977).

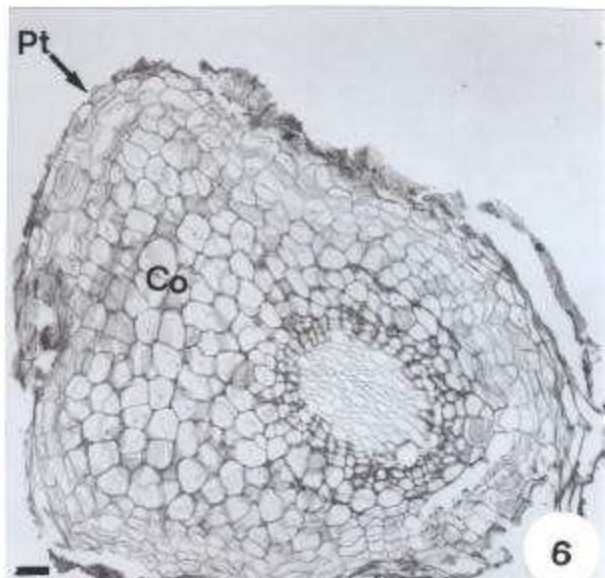
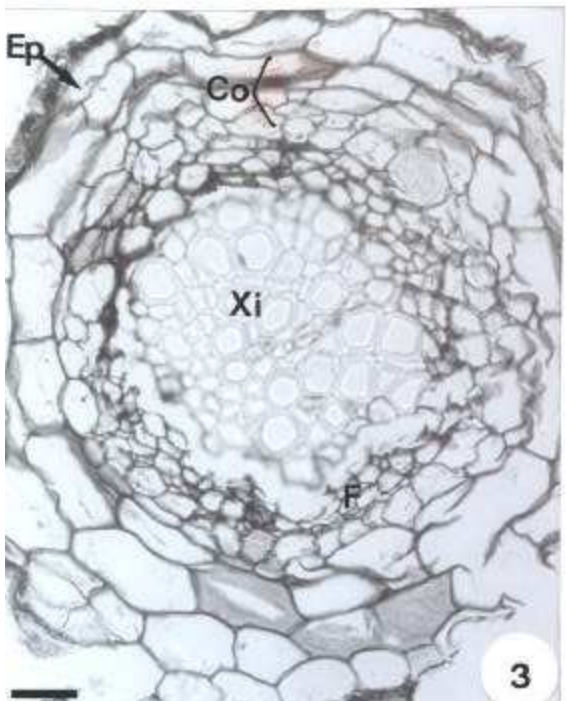
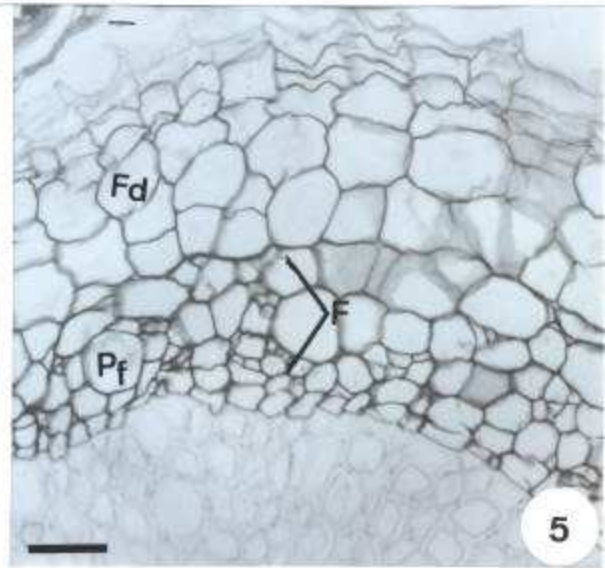
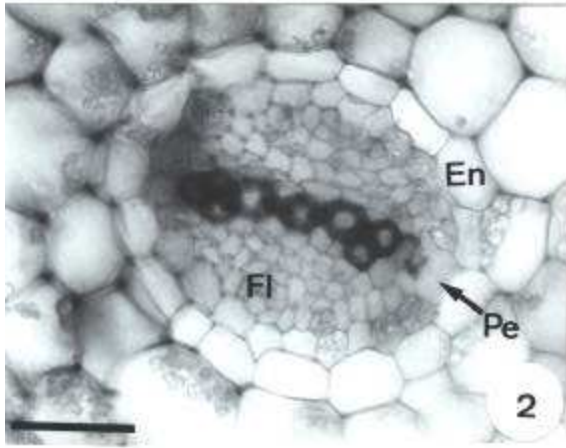
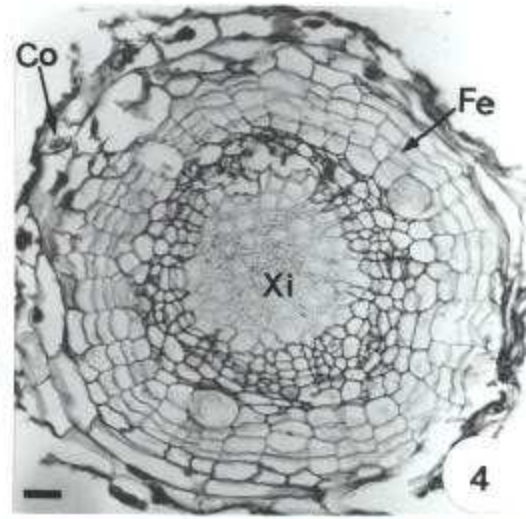
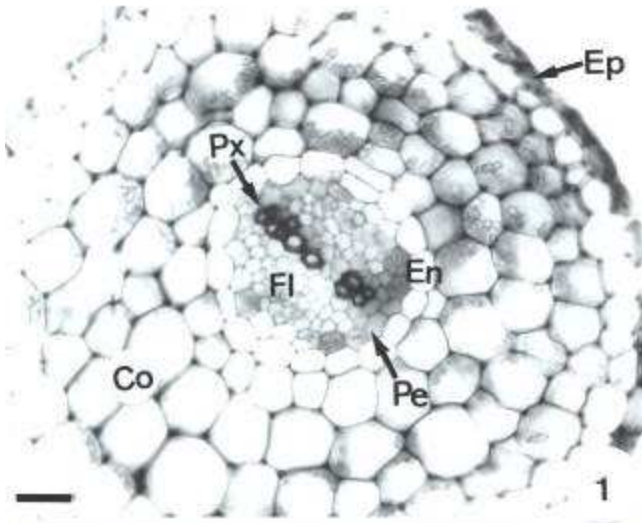
- **Estrutura secundária**

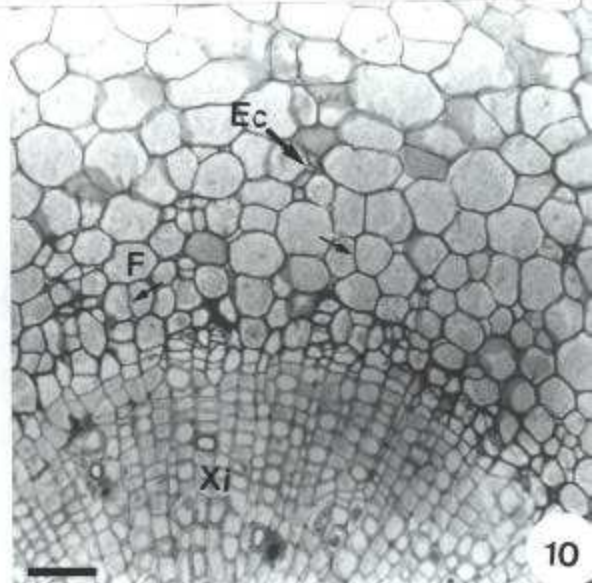
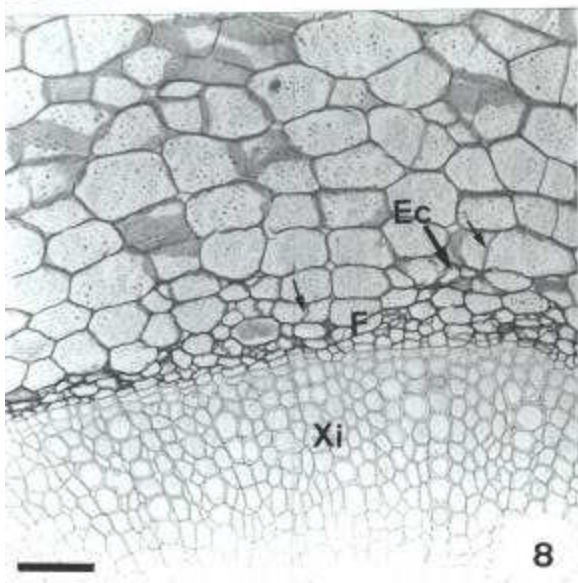
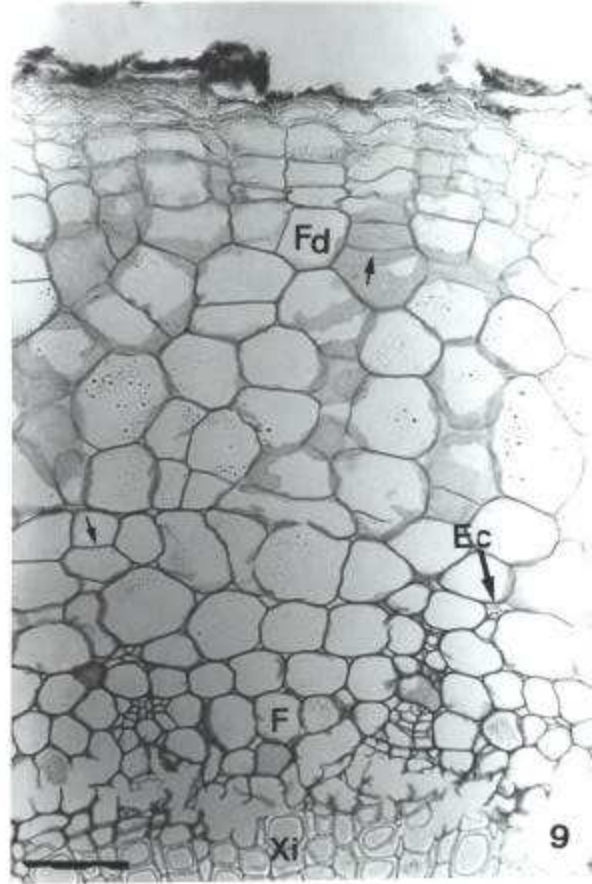
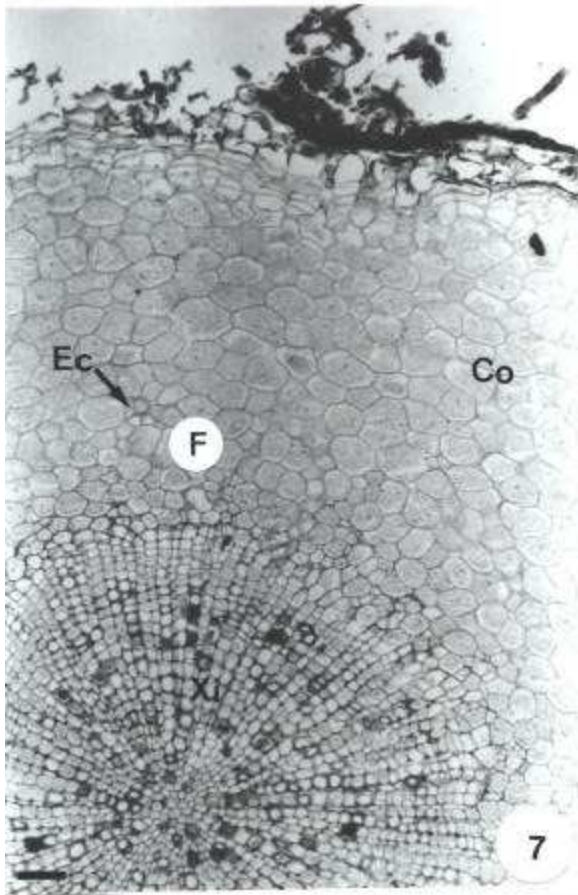
O crescimento em espessura tem início com a diferenciação do câmbio e formação de xilema e floema secundários, e com a divisão das células do periciclo formando células parenquimáticas, das quais se origina o felogênio (Figura 4). Como consequência da atividade do felogênio e do câmbio, ocorre a eliminação da epiderme e do córtex primário (Figuras 3 e 4).

A partir do felogênio forma-se, em direção ao interior, a feloderme constituída por várias camadas de células que sofrem expansão e dividem-se em diversos planos. O mesmo acontece com as células parenquimáticas do floema secundário (Figura 5). A expansão e divisão de células da feloderme e do floema secundário resultam na formação de um parênquima cortical muito amplo, de origem secundária (Figura 6).

O floema secundário se caracteriza por apresentar, além dos elementos de condução, células parenquimáticas que se expandem e se dividem desde as proximidades do câmbio (Figuras 5, 7 a 10). Assim, torna-se difícil identificar os limites da feloderme e do floema secundário (Figuras 7 e 9). Grupos de elementos condutores do floema podem ser visualizados em meio às células parenquimáticas (Figuras 7-10).

As protuberâncias da raiz se formam em consequência da atividade diferencial do felogênio (Figura 6). A feloderme, já bem próximo ao felogênio, apresenta-se com aspecto mais desorganizado, devido à expansão e divisões adicionais de suas células (Figuras 11 e 12). Na figura 12 observa-se o limite entre as células da feloderme recém formadas, que ainda não acumularam amido, e o parênquima cortical secundário. Wallis (1966) define este parênquima secundário como uma feloderme parenquimática ampla. Esse tecido poderia, de fato, ser classificado dessa forma, porém devido à participação de células do parênquima do floema em sua formação, pode-se dizer que sua origem é mista, pois ocorre a partir de dois tecidos diferentes: feloderme e parênquima do floema (Figura 9). Mesmo em crescimento secundário, a raiz mantém uma pequena proporção entre a região vascular e a região cortical (Figura 6) em consequência da atividade cambial ser reduzida em comparação com a do felogênio.

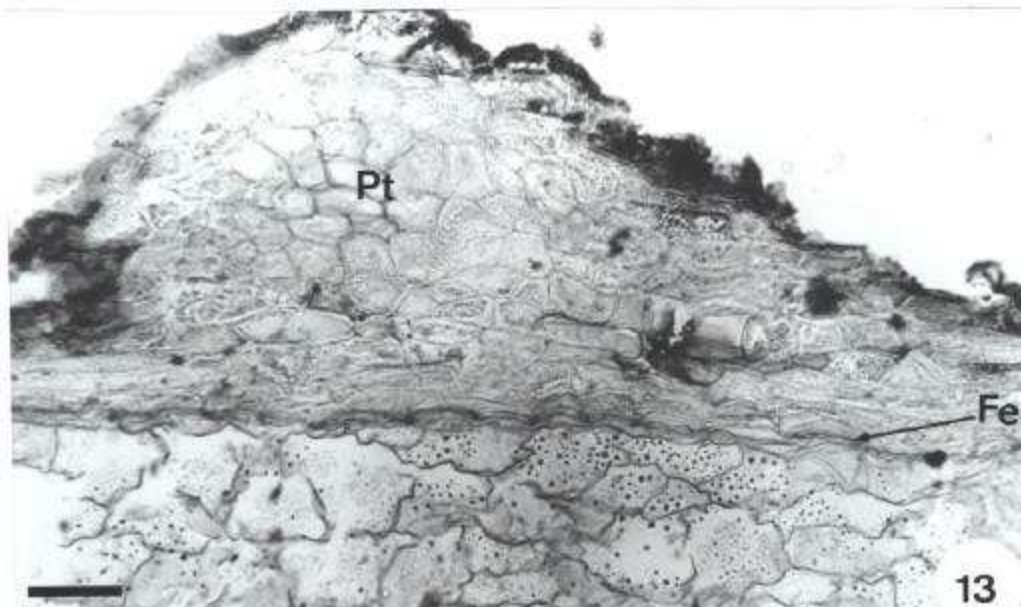
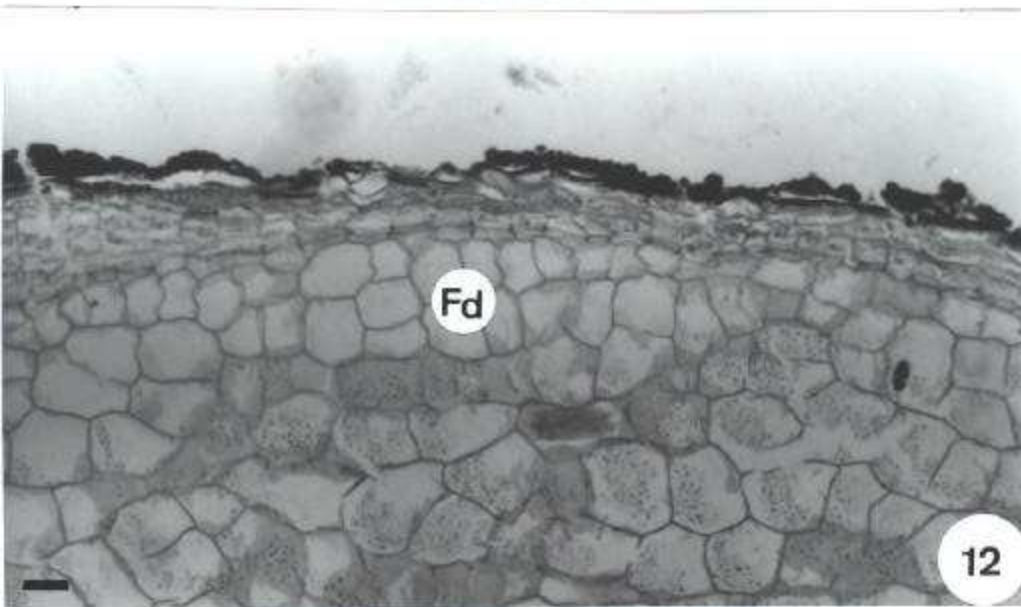
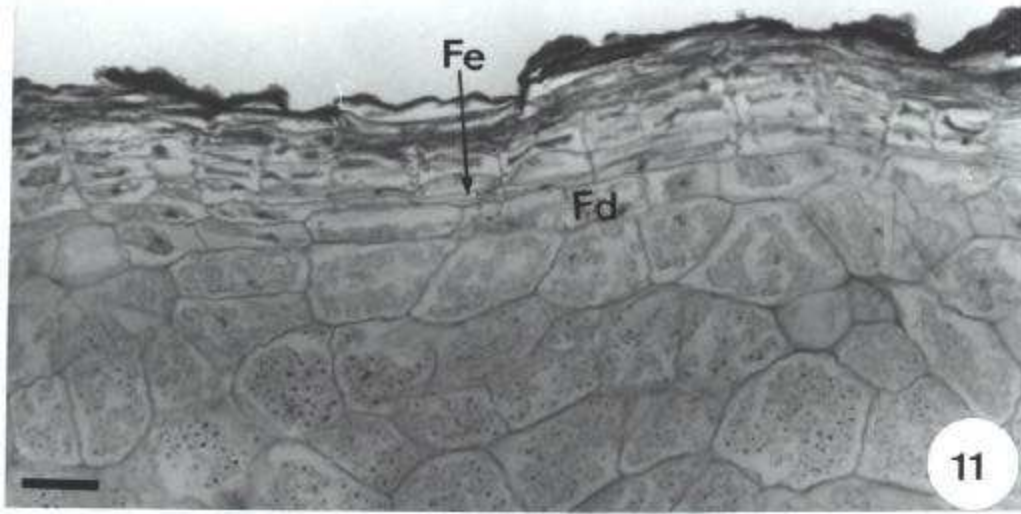


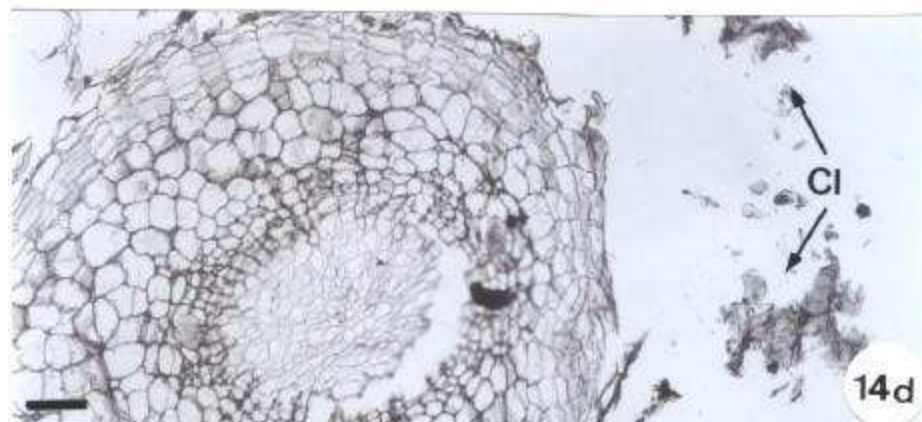
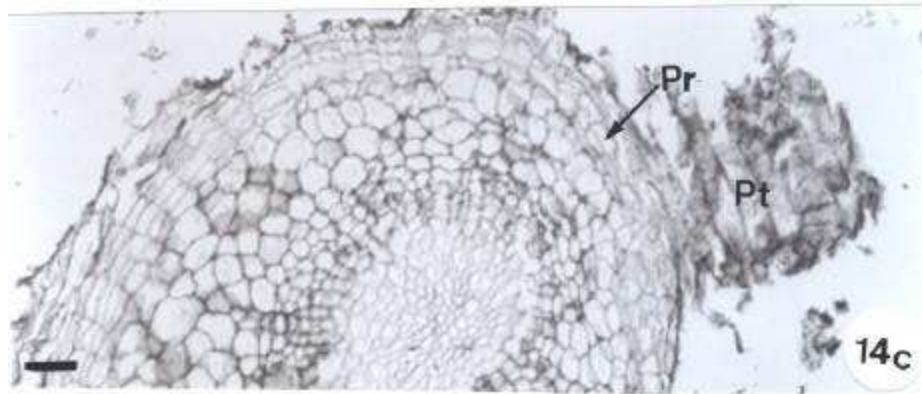
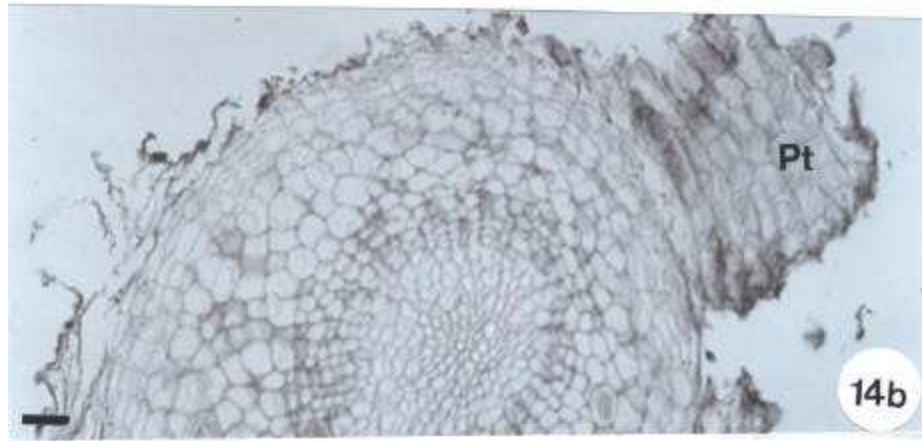
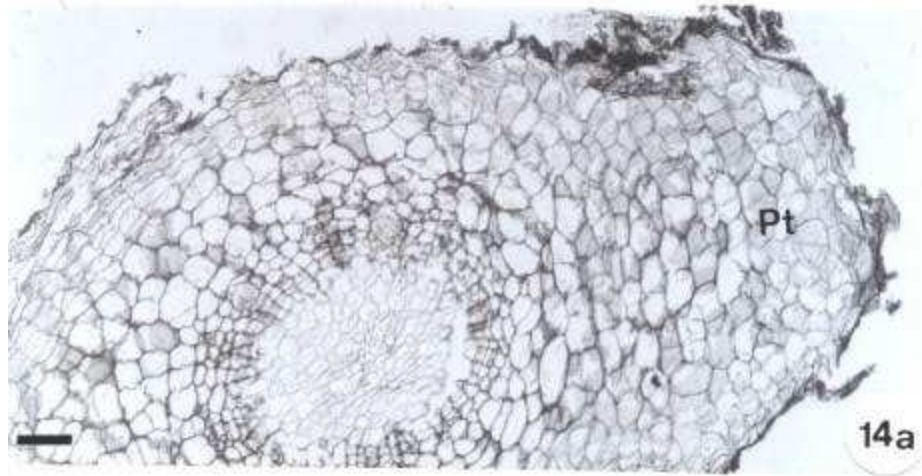


Observa-se, na seqüência de cortes realizados, a ocorrência de um processo dinâmico de produção/formação e perda das regiões com parênquima expandido, devido a formação de felogênios sucessivos (Figura 13), o que poderia explicar a morfologia “anelada” característica das raízes de poaia, nas quais, por expansão e redução do córtex, os “anéis” seriam formados. Para Torres (1972), cada “anel” corresponde a uma raiz lateral que não se desenvolveu devido ao espessamento. Essas saliências, segundo Pinto (1976), emitem raízes secundárias, formando 8 a 12 ou mais ramificações de 15 a 20 cm de comprimento e 5-10 mm de diâmetro. Essas protuberâncias são formadas por um parênquima cortical secundário e não constituem raízes laterais não desenvolvidas, por não apresentarem tecido vascular e tampouco emitem raízes laterais. Dessa forma, as raízes de poaia devem ser consideradas como segmentadas, com os segmentos possuindo aspecto anelar. Wallis (1966) caracteriza as raízes de poaia como marcadas por estrangulamentos transversais e com aproximadamente 8 segmentos anulares por centímetro.

A seqüência de eventos contida na figura 14 mostra o processo de redução do córtex com perda das protuberâncias. Na figura 14a nota-se o contorno irregular da raiz, com pontos onde o parênquima cortical está mais expandido, constituindo a protuberância; e nas figuras 14c e 14d, fragmentos de parênquima cortical sendo eliminados, já numa etapa final do processo, demonstrando o dinamismo do mesmo.

Observa-se a suberificação de uma faixa de células da protuberância, da periferia para o centro, o que compromete a translocação de substâncias para as células mais externas. Abaixo dessa faixa de células, um novo felogênio começa a se formar, como já relatado (Figura 13). Com a suberificação acentuada da protuberância, principalmente na região periférica, as células do córtex, completamente isoladas do restante da raiz pela nova periderme já instalada, perdem seu aspecto típico e são descamadas (Figuras 14b e 14c).





Na figura 14d vê-se a raiz totalmente separada das células da protuberância, que já se destacaram. Na região onde havia a protuberância, a nova periderme está intacta e contínua, de modo que, a não ser pelos restos celulares ao redor, não há evidências da formação e perda da protuberância, conforme descrito acima. Assim, conclui-se que os restos celulares visualizados constantemente ao redor da raiz são oriundos de descamação por formação de sucessivos felogênios.

Não foram encontrados na literatura explicações de como os “anéis” da raiz de poaia se formam.

No macerado do xilema da raiz observou-se fibras septadas contendo amido, e outras não septadas, libriformes, em grande quantidade (Figura 15), além de traqueídes contendo pontoações areoladas e elementos de vaso estreitos e relativamente curtos, com apêndices inclinados, placas de perfuração simples muito pequenas e pontoações areoladas (Figuras 16 e 17), bem como células parenquimáticas alongadas e de parede espessada (Figura 18 e 19). Traqueídes com pontoações areoladas foram observados, em *P. ipecacuanha*, bem como lenho pouco desenvolvido e com estrutura radiada pouco distinta, o mesmo ocorrendo no floema, o qual é evidenciado como alguns cordões de tubos crivados junto ao lenho (Moeller, 1927; Cruz, 1935; Silva, 1936; Costa, 1975; Oliveira et al, 1991). Solereder (1908) menciona a ocorrência de placas de perfuração simples em espécies do gênero *Psychotria*. Moeller (1927) mostra, ainda, a ocorrência de elementos de vaso com pontoações areoladas. Estes elementos do xilema foram também observados por Lemesle (1947).

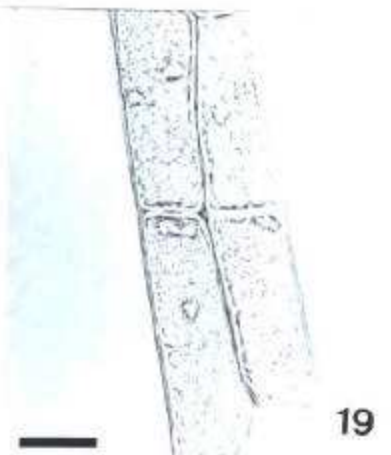
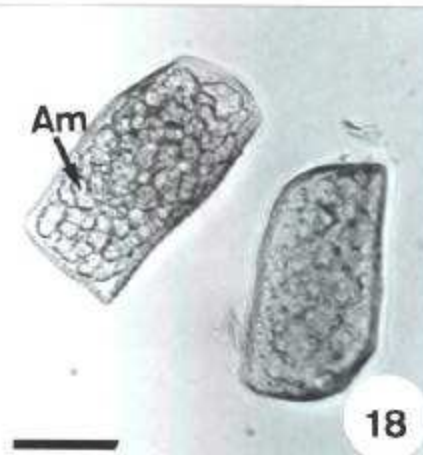
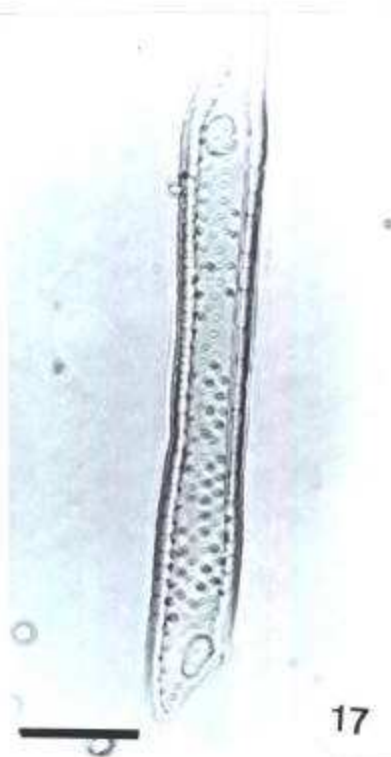
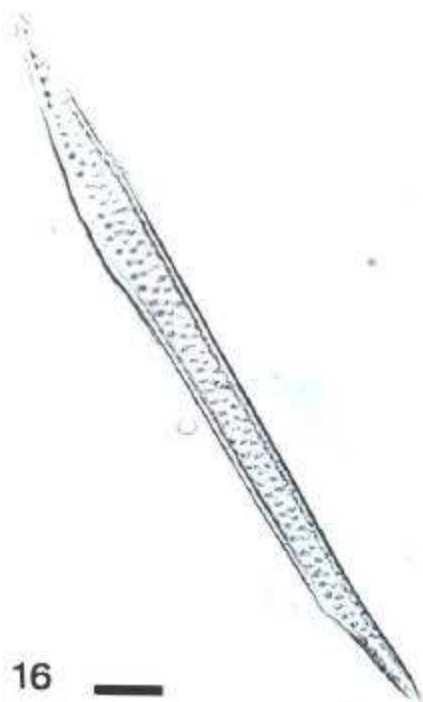
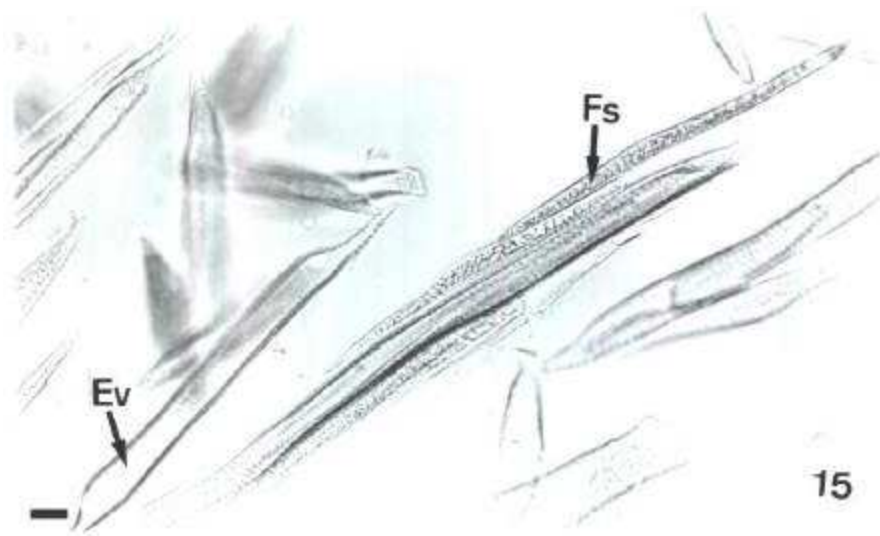
Sendo os alcalóides metabólitos secundários com propriedades alelopáticas comprovadas, incluindo os alcalóides da poaia (Wink & Twardowski, 1992), pode-se aventar a hipótese de que este processo de eliminação contínua de tecido cortical da raiz represente uma forma de excreção de substâncias alelopáticas para a rizosfera, como

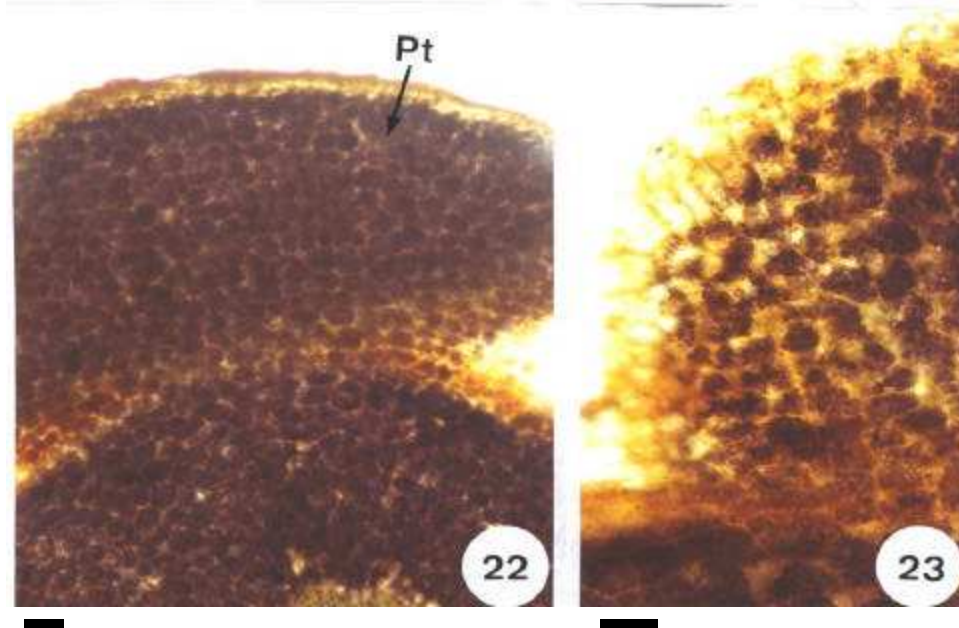
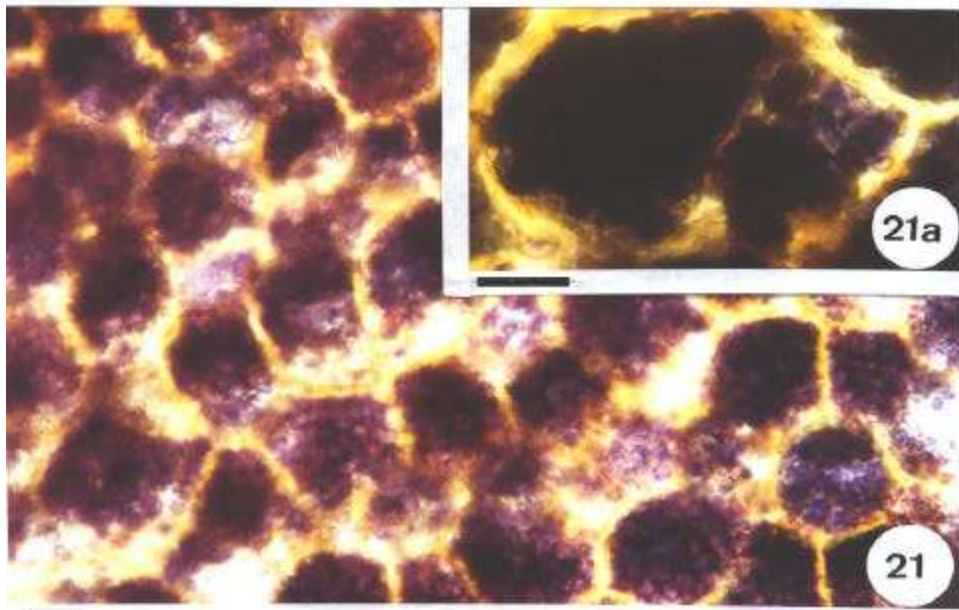
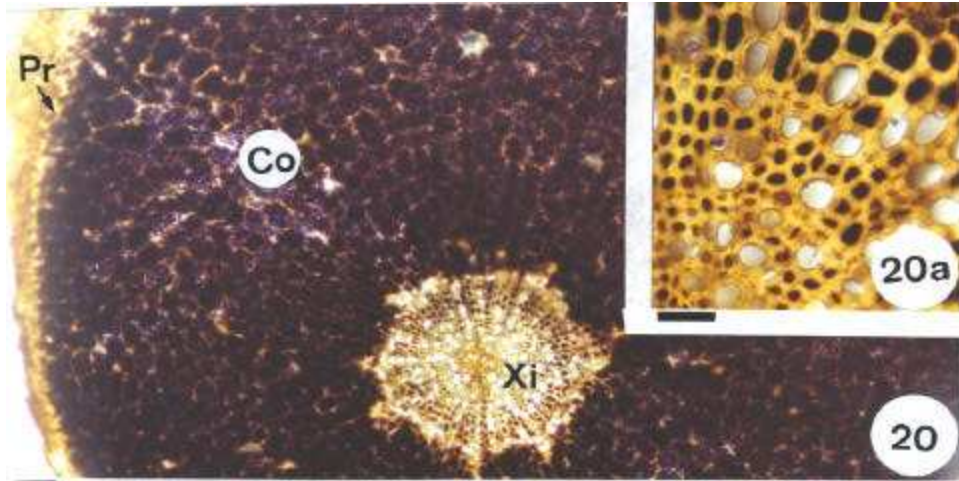
mecanismo de defesa e garantia de sobrevivência para a espécie. O fato de os indivíduos de poaia ocorrerem em reboleiras bem delimitadas, onde praticamente não se observa outras espécies, reforça essa hipótese, embora estudos futuros devam ser realizados para comprovação dessa hipótese. Wink (1983) demonstrou a ação de alcalóides quinolizidínicos de *Lupinus albus* como inibidores da germinação de sementes e constatou a eliminação dos alcalóides através das raízes dessa espécie, durante o seu crescimento.

### **3.2 - Histolocalização de alcalóides na raiz**

Os alcalóides foram evidenciados em todos os tecidos da raiz de poaia, como mostrado na Figura 20, com reação mais proeminente na região do xilema secundário (Figura 20a), onde tanto as células parenquimáticas quanto as células de condução do xilema apresentaram-se intensamente coradas. A presença de alcalóides em células de tecidos vasculares foi relatada em trabalhos como o de Corsi & Biasci (1998), que reportaram a localização de alcalóides, através de técnicas histoquímicas, em células associadas ao floema de raízes regeneradas de *Conium maculatum* L., e o de Khanam et al (2000), que localizaram alcalóides em células de xilema secundário de calos de *Duboisia myoporoides* R. Br.

Foi constatada a presença de alcalóides em todas as células da região cortical (Figura 21). Apesar da reação concomitante do reagente de Dragendorff com amido, resultando em coloração arroxeada, pôde-se perceber a coloração amarela típica, indicando a presença de alcalóides, na região periférica das células, principalmente na parede (Figura 21a).





Segundo Costa (1975), diversos constituintes farmacologicamente ativos, incluindo alcalóides, após a morte das células, são precipitados e retidos nas paredes celulares. Entretanto, neste trabalho, verificou-se o acúmulo de alcalóides nas paredes de células parenquimáticas vivas do xilema e do córtex da raiz de *P. ipecacuanha*. A região que constitui a protuberância da raiz apresentou-se com o mesmo padrão de coloração do córtex do restante da raiz, mostrando que os alcalóides também estão presentes nas células das protuberâncias, sendo liberados para o solo com a perda dessas regiões (Figuras 22 e 23).

Os cortes da raiz de *P. ipecacuanha* deixados em ácido tartárico 5% apresentaram reação positiva para alcalóides, mas com intensidade muito menor, demonstrando que para esse material, o tempo para remoção dos alcalóides deve ser maior que o proposto por Corsi & Biasci (1998) para remoção de alcalóides de raízes de *Conium maculatum* L. As figuras 24 e 25 ilustram essas observações.

Como mostrado nas figuras 26 e 27, os cortes da raiz de *Hibiscus esculentum* permaneceram sem coloração específica para alcalóides, após deixados imersos no reagente de Dragendorff por 5 minutos, demonstrando a especificidade do reagente para a coloração de alcalóides.

Khanam et al (2000), através de pesquisa em órgãos de *Duboisia myoporoides* regenerados por cultura de tecido, propuseram que o local de síntese dos alcalóides seria a raiz. Wink & Hartmann (1982a) identificaram os cloroplastos como local de síntese de alcalóides quinolizidínicos em *Lupinus albus* L. Nesta espécie, estes alcalóides são produzidos nas folhas, translocados para todas as partes da planta, via floema (Wink & Hartmann, 1982a) e acumulados principalmente em frutos e raízes (Wink & Hartmann, 1981b). A presença de alcalóides nas raízes de *P. ipecacuanha*, principalmente nos tecidos

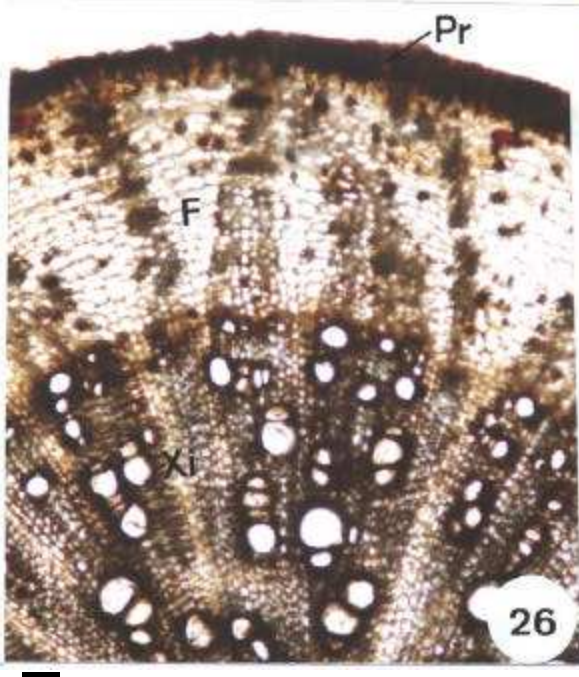
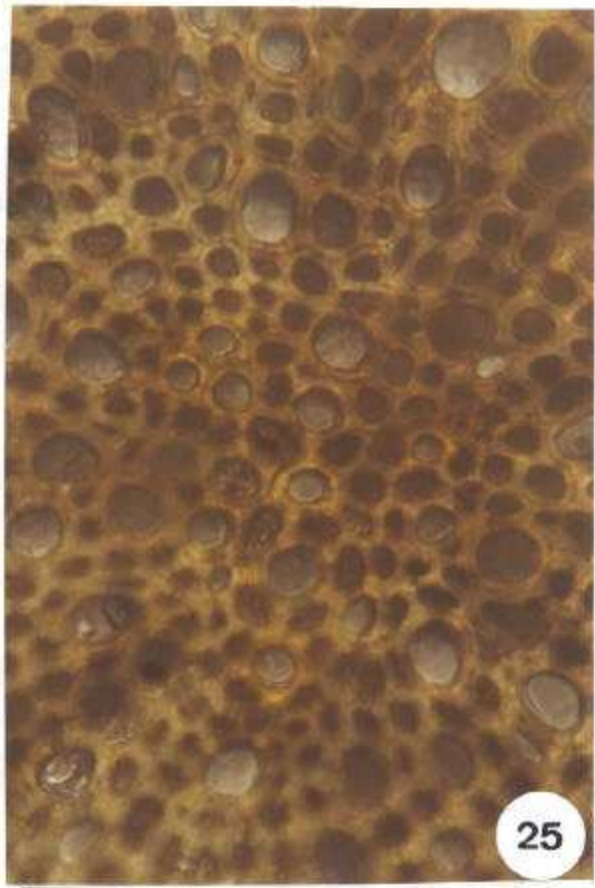
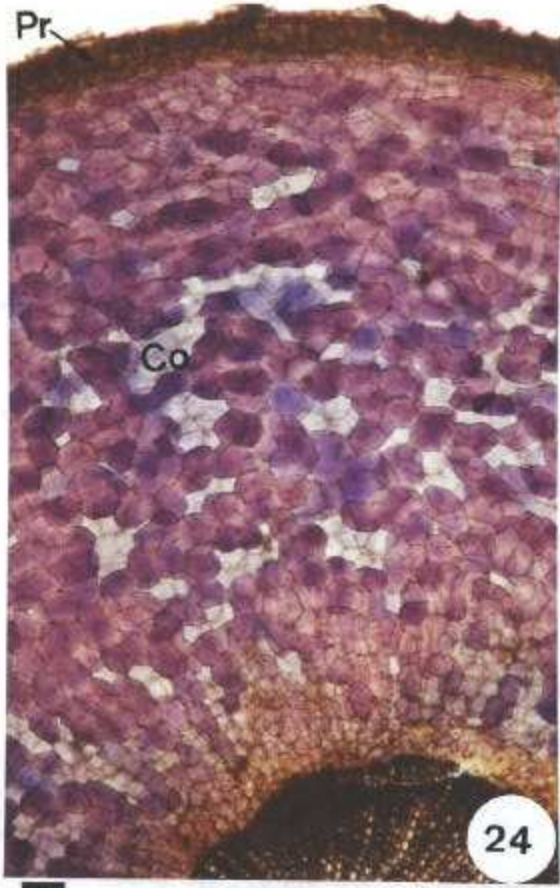
vasculares, entretanto, não permite concluir se as raízes constituem sítio de síntese dos alcalóides, ou se estas funcionam como órgãos de acumulação desses compostos.

Yoshimatsu & Shimomura (1993) verificaram, em *P. ipecacuanha*, a produção de alcalóides tanto em tecidos regenerados a partir de explantes caulinares quanto de raiz, e concluíram que a biossíntese de alcalóides eméticos ocorre em toda a planta.

### **3.3 – Caracterização anatômica do caule e histolocalização de alcalóides**

O caule aéreo de *P. ipecacuanha* apresenta crescimento secundário típico (Figuras 28 e 32). O córtex é constituído por colênquima e parênquima, cujas células de formatos e tamanhos variados, contém, em geral, amido; podendo ocorrer ráfides de oxalato de cálcio, principalmente próximo à endoderme. Na endoderme são evidentes as estrias de Caspary (Figura 29), conforme relatado por Assis & Giulietti (1999). Tais características estão de acordo com as observações de Assis (1992), segundo a qual o caule apresenta, em corte transversal, córtex bem desenvolvido, com endoderme contendo estrias de Caspary. A medula é parenquimática, constituída por células de parede espessada, contendo amido, e idioblastos cristalíferos com ráfides (Figura 31).

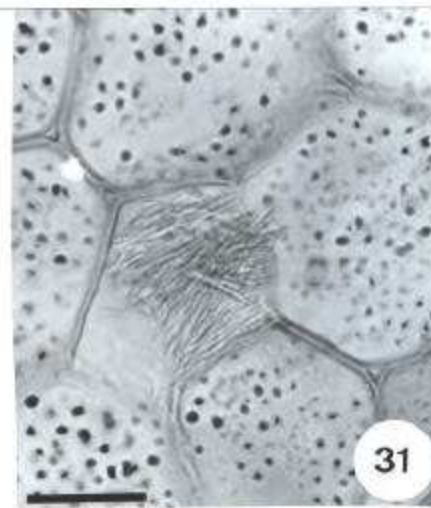
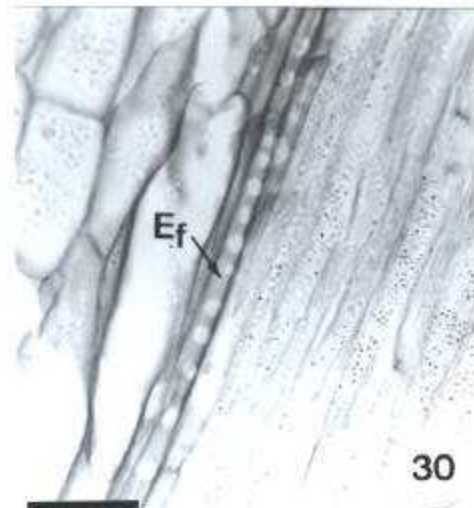
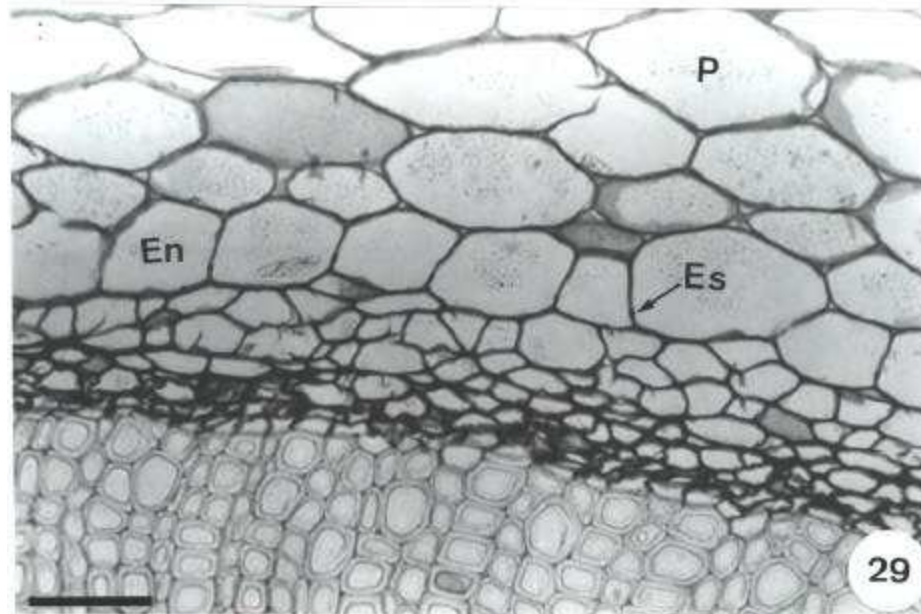
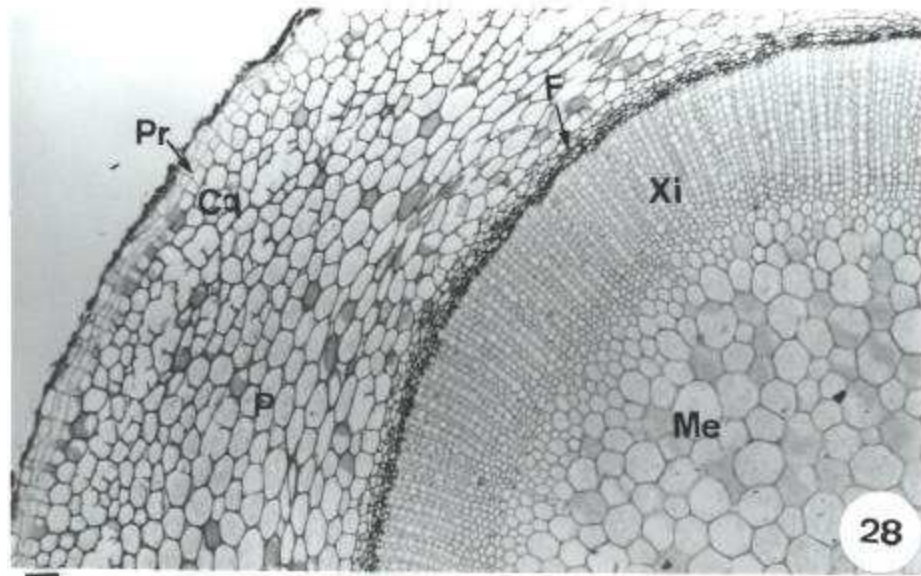
A periderme apresenta várias camadas de súber (Figura 34), alternando fileiras de células esclerificadas com fileiras de células tabulares de paredes finas, em estrutura semelhante à descrita por Solereder (1908) para alguns representantes de Rubiaceae. Sob a periderme observa-se colênquima evidente (Figura 33) e mais internamente o parênquima cortical (Figura 34).

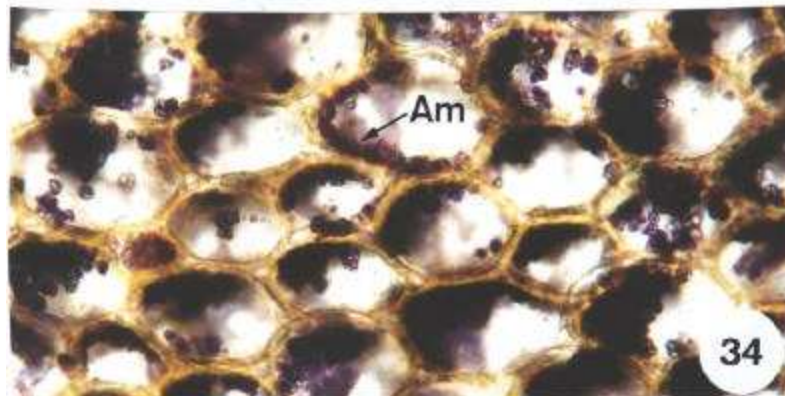
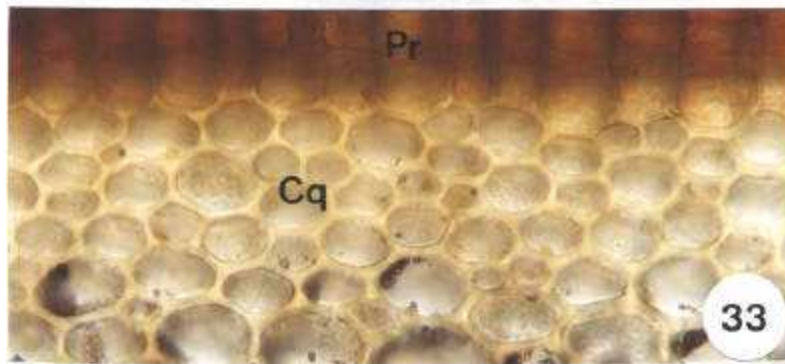
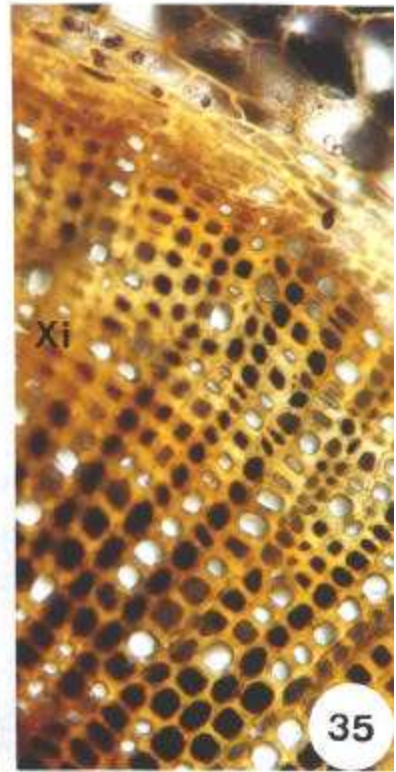
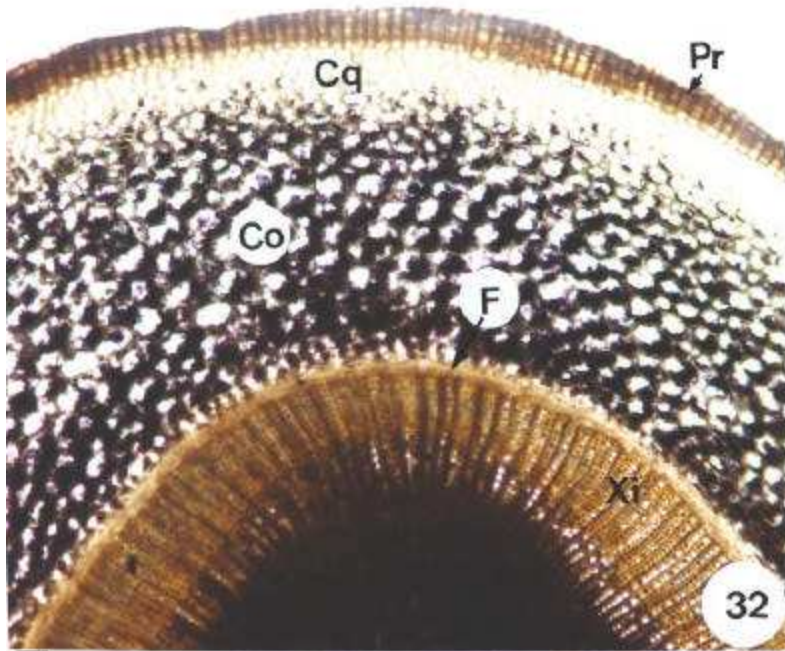


O xilema apresenta fibras septadas, algumas com amido, cujo conteúdo é bem menos abundante em relação à raiz. Estão presentes traqueídes, com pontoações areoladas, e elementos de vaso, com placas de perfuração simples, semelhantes aos observados no xilema da raiz (Figuras 15 a 19). O xilema secundário apresenta elementos de vaso com pequeno diâmetro e o floema é pouco evidente. O floema é composto por elementos com placa crivada composta (Figura 30) e células parenquimáticas.

O caule subterrâneo mantém a estrutura do caule aéreo, uma vez que é formado a partir da inclinação deste em direção ao solo, onde passa a emitir raízes laterais, de forma semelhante a um “rizoma” (Pinto, 1976).

Secções transversais do caule, submetidas à reação com o reagente de Dragendorff, desenvolveram reação positiva para alcalóides (Figuras 32 a 36), notadamente nas células do xilema (Figura 35), de forma semelhante à observada nas raízes. As paredes das células do parênquima medular e do cortical apresentaram-se coradas (Figuras 34 e 36). No parênquima cortical observou-se padrão de coloração menos intenso que o visualizado no córtex da raiz, sugerindo presença de alcalóides em menor quantidade neste local (Figura 34).





#### 4. CONCLUSÕES

As raízes da espécie *Psychotria ipecacuanha* podem ser caracterizadas como estruturas segmentadas, com os segmentos apresentando aspecto “anelado”. Tais segmentos, outrora descritos como saliências envolvendo a raiz e com capacidade de emitir raízes laterais ou ainda, como raízes laterais não desenvolvidas, constituem, na verdade, regiões da raiz onde o parênquima cortical secundário sofreu intensa expansão, devido a uma atividade diferencial do felogênio e à expansão e divisões das células da feloderme e do floema secundário, formando protuberâncias. Através de um processo dinâmico, as protuberâncias são formadas e eliminadas, com o desenvolvimento de sucessivos felogênios que reconstituem a periderme da raiz nas regiões envolvidas neste processo.

Através de teste histoquímico com o reagente de Dragendorff, os alcalóides foram evidenciados em diferentes tecidos da raiz, notadamente no xilema secundário e na parede das células corticais. Também nas protuberâncias da raiz houve evidenciação dos alcalóides, de modo que, com a descamação das células destas regiões, os alcalóides são concomitantemente liberados para o solo. Reação positiva para alcalóides, semelhante à da raiz foi visualizada nas células medulares e do xilema secundário do caule de *P. ipecacuanha*.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDOR, A. A. Considerações acerca da poaia. **Bol. Minist. Agric. (Rio de Janeiro)** v. 34, n. 5, p. 1-28, 1945.
- ALENCAR, B. M. C. M., SANTOS, A. V. P. Contribuição ao conhecimento da anatomia foliar da ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.). **Ciência & Cultura** v.32, n.7, p. 868-872, 1980.
- ASSIS, M. C. **Aspectos taxonômicos, anatômicos e econômicos da “ipeca” *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (RUBIACEAE)**. 1992. 132p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ASSIS, M. C., GIULIETTI, A. M. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de “ipecacuanha” – *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Rev. Brasil. Bot.** v. 22, n.2, p. 205-216, 1999.
- BARROSO, G. M. **Sistemática das Angiospermas do Brasil**. v. 3. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1991.
- BURHANS, W. C., VASSILEY, L. T., WU, J. M., NALLASETH, F. S., DEPAMPHILIS, M. L. Emetine allows identification of origins of mammalian DNA replication by imbalanced DNA synthesis, not through conservative nucleosome segregation. **EMBO Journal** v. 10, p. 4351-4360, 1991.

- CHOW, S. C., PETERS, I., ORRENIUS, S. Reevaluation of the role of de novo protein synthesis in rat thymocyte apoptosis. **Experimental Cell Research**. v. 216, n.1, p. 149-159, 1995.
- CORSI, G., BIASCI, D. Secretory structures and localization of alkaloids in *Conium maculatum* L. (Apiaceae). **Annals of Botany** v.81, p. 157-162, 1998.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3 ed. v. 1. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1975. 1031 p.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 2 ed. v. 3. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982. 1032 p.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. 2 ed. New York: Columbia University Press, 1981. 1262p.
- CRUZ, G. P. G. Ipecacuanha. **Revista Fl. Med.** v. 1, p. 135, 1935.
- ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2ed. New York: John Willey & Sons, 1977. 550p.
- ITOH, A., IKUTA, Y., BABA, Y., TANAHASHI, T., NAGAKURA, N. Ipecac alkaloids from *Cephaelis acuminata*. **Phytochemistry** v. 52, p. 1169-1176, 1999.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc. Graw Hill Book, 1940. 523p.
- JOLY, A. B. **Botânica – Introdução à taxonomia vegetal**. 11 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1993.
- KHANAM, N., KHOO, C., CLOSE, R., KHAN, A. Organogenesis, differentiation and histolocalization of alkaloids in cultured tissues and organs of *Duboisia myoporoides* R. Br. **Annals of Botany** v. 86, p. 745-752, 2000.
- KRAUS, J. E., SOUSA, H. C., VECCHI, C., CASTRO, N. M., RESENDE, M. H. **Métodos de coloração empregando azul de astra com fuccina básica para material botânico**. São Paulo, 1998.

- LEMESLE, M. R. La constitution anatomique du bois secondaire chez ipecacuanha vrais. **Revista Gen. De Bot.** v. 54, p. 138-151, 1947.
- LUQUE, R.; SOUSA, H. C.; KRAUS, J. E. Métodos de coloração de Roeser (1972) modificado e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra pelo azul de alcião 8GS ou 8GX. **Acta Botanica Brasilica** v.10, n. 2, p. 199-212, 1996.
- MIRANDA, G. O. **A poaia: um estudo em Barra do Bugres.** 1983. Monografia (Especialização em História) - Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso.
- MOELLER, J. **Guia para Ensayos Micro - Farmacognósticos.** Editorial Labor S. A. 1927.
- OCCHIONI, P. Sobre a ocorrência de remanescentes de “ipecacuanha” em áreas florestais do estado do Rio de Janeiro. **Rev. Leandra.** p. 53-59, 1971.
- OLIVEIRA, F., AKISUE, G., AKISUE, M. K. **Farmacognosia.** São Paulo: Ed. Atheneu, 1991. 426p.
- PINTO, C. M. D. **A ipecacuanha.** In: Simpósio Internacional sobre plantas de interesse econômico de la Flora Amazonica. IICA. Trópicos. Informes de conferencias, cursos e reuniones nº 93. Costa Rica, 1976.
- PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** v. 4. Rio de Janeiro: IBDF, 1969.
- ROBBRECHT, E. **Tropical woody Rubiaceae. Characteristics features and progressions. Contribution to a new subfamilial classification.** v. 1. Nationale Plantentuin van Belgie, 1988. 272p.
- RUNECKLES, V. C., TSO, T. C. **Structural and functional aspects of Phytochemistry-Recent advances in phytochemistry.** v. 5. New York and London: Academic Press, 1972.

- SAHU, N. P., MAHATO, S. B. Determination of emetine and cephaeline in ipecac roots by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography** v. 238, p. 525-529, 1982.
- SIDHU, J. S., OMIECINSKI, C. J. Protein synthesis inhibitors exhibit a non-specific effect on phenobarbital-inducible cytochrome P450 gene expression in primary rat hepatocytes. **Journal of Biological Chemistry** v. 273, n.8, p. 4769-4775, 1998.
- SILVA, R. A. D. Estudo das falsas poaias do Brasil. **Rev. Fl. Med.** p.197-350, 1936.
- SKORUPA, L. A., ASSIS, M. C. Collecting and conserving ipecac (*Psychotria ipecacuanha*, Rubiaceae) germplasm in Brazil. **Economic Botany** v. 52, p. 209-210, 1998.
- SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons.** v.1. Oxford: Clarendon Press, 1908. 644p.
- TESHIMA, D., IKEDA, K., STAKE, M., AOYAMA, T., SHIMOMURA, K. Production of emetic alkaloid by in vitro culture of *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard. **Plant Cell Reports** v. 7, p. 278-280, 1988.
- TORRES, L. A. C. **Contribuição al conocimiento de la *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich., com especial referencia a Colombia.** Simposio Internacional sobre plantas de interesse econômico de la Flora Amazonica, Belém. Belém: IICA, 1972, p. 123-136.
- WALLIS, T. E. **Manual de Farmacognosia.** 4ed. México, 1966.
- WINK, M. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. Aspects of allelopathy in *Lupinus albus* L. **Planta** v. 158, p. 365-368, 1983.
- WINK, M., HARTMANN, T. Activation of chloroplast – localized enzymes of quinolizidine alkaloid biosynthesis by reduced thioredoxin. **Plant Cell Reports** v. 1, p. 6-9, 1981.

- WINK, M., HARTMANN, T. Localization of the enzymes of quinolizidine alkaloid biosynthesis in leaf chloroplasts of *Lupinus polyphyllus*. **Plant Physiol.** V. 70, p. 74-77, 1982.
- WINK, M., TWARDOWSKI, T. Allelochemical properties of alkaloids. Effects on plants, bacteria and protein biosynthesis. In: S. J. Rizvi and V Rizvi (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall., 1992.
- YOSHIMATSU, K., SHIMOMURA, K. *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard (Brazilian ipecac): Micropropagation and the production of emetine and cephaeline. In: Y. P. S. Bajai (Ed.) **Biotechnology in Agriculture Forestry. Medicinal and Aromatic Plants IV**. Berlin: Springer Verlag, v.21. 1993.

## CONCLUSÕES

A realização deste trabalho possibilitou a obtenção das seguintes conclusões:

- O teor do alcalóide emetina em raízes secas de *Psychotria ipecacuanha* varia em função da origem geográfica das raízes e das condições ambientais como intensidade de radiação fotossinteticamente ativa incidente em nível das reboleiras.
- Determinadas características físicas das raízes de poaia também influenciam a quantidade de emetina obtida a partir das mesmas. Porções da raiz com maior diâmetro médio, quando secas, e mais distantes do final do filamento da raiz, apresentam maior acúmulo de emetina.
- A variação sazonal observada para o teor de emetina e de cefelina não ocorre dentro de um padrão que permita a delimitação de épocas de baixa e alta produtividade desses alcalóides. Dessa forma, não é possível estabelecer uma época ideal para coleta de raízes de *P. ipecacuanha* que resulte em altos teores de emetina e cefelina.

- Os alcalóides foram evidenciados em diferentes tecidos da raiz e caule de *P. ipecacuanha*. Também nas protuberâncias da raiz foi observada reação positiva para a presença de alcalóides.
- As protuberâncias da raiz são constituídas pela feloderme e por parênquima do floema secundário sendo formadas e eliminadas continuamente, com a liberação concomitante de alcalóides para o solo.

Figuras 1 a 6 – Estrutura da raiz de *Psychotria ipecacuanha*, em secção transversal.

Figs. 1 e 2: Raiz primária, com dois pólos de protoxilema (Px), floema primário (Fl), periciclo (Pe), endoderme (En), córtex (Co) primário e epiderme (Ep).

Figs. 3 e 4: Raiz em início de crescimento secundário. Epiderme (Ep) e córtex (Co) em processo de eliminação; xilema (Xi) e floema (F) secundários já formados; felogênio (Fe) em formação (Fig. 4).

Fig. 5: Expansão de células da feloderme (Fd) e parenquimáticas (Pf) do floema (F), dando início à formação do córtex secundário.

Fig. 6: Visão geral de uma protuberância (Pt) da raiz, com córtex (Co) secundário amplo.

Barras = 25  $\mu$  m

Figuras 7 a 10 – Crescimento secundário da raiz de *Psychotria ipecacuanha*, em secção transversal.

Fig. 7: Xilema (Xi) e floema (F) secundários; elementos condutores (Ec) do floema em meio a células parenquimáticas; parênquima cortical (Co) secundário amplo.

Fig. 8–10: expansão e divisão ( ) de células parenquimáticas do floema (F) secundário e das células da feloderme (Fd); córtex secundário em divisões adicionais (Fig. 9).

Barras = 50  $\mu$  m

Figs. 11 e 12: Secções transversais da raiz. Expansão de células da feloderme (Fd) muito próximo ao felogênio (Fe) (Fig. 11); expansão e divisão de células da feloderme (Fd) (Fig. 12).

Fig. 13: Secção longitudinal da raiz. Novo felogênio (Fe) em início de atividade, descamação de células da protuberância (Pt).

Barras = 50  $\mu$  m

Protuberância (Pt) com extremidades em descamação (14a); Suberificação da protuberância (Pt) (14b); Descamação de células da protuberância (Pt) com formação de nova periderme (Pr) (14c); Raiz sem protuberância (14d), com restos celulares (Cl) ao redor.  
Barras = 50  $\mu$  m

Figuras 15 a 19 – Células do xilema da raiz *Psychotria ipecacuanha*, após maceração.

Fig. 15: fibras septadas (Fs) e elementos de vaso (Ev).  
Figs. 16 e 17: Elementos de vaso com pontoações areoladas.  
Figs. 18 e 19: células parenquimáticas que podem conter grãos de amido (Am).  
Barras = 25  $\mu$  m

Figuras 20 a 23 – Reação positiva para alcalóides (coloração amarela) em secções transversais da raiz de *Psychotria ipecacuanha*.

Fig. 20: Aspecto geral da raiz. Xilema (Xi); córtex secundário(Co); periderme (Pr). Barra = 100  $\mu$ m. Fig. 20a: reação positiva para alcalóides nas paredes das células do xilema secundário. Barra = 25  $\mu$ m

Fig. 21: Presença de alcalóides nas paredes das células do parênquima cortical secundário. Barra = 25  $\mu$ m. Fig. 21a: célula do parênquima cortical secundário em detalhe, com reação intensa para alcalóides nas paredes celulares. Barra = 25  $\mu$ m

Fig. 22: Reação positiva para alcalóides (coloração amarela) em células da protuberância (Pt). Barra = 100  $\mu$ m

Fig. 23: Detalhe da protuberância com reação positiva para alcalóides. Barra = 50  $\mu$ m

Figuras 24 e 25 – Raiz de *Psychotria ipecacuanha* utilizada como controle negativo para reação de evidenciação de alcalóides, após extração destes com ácido tartárico 5%, em secção transversal.

Fig. 24: Periderme (Pr) e região cortical (Co) exibindo fraca reação para alcalóides; barra = 100  $\mu$  m

Fig. 25: Células do xilema fracamente coradas pelo reagente de Dragendorff; barra = 25  $\mu$  m

Figuras 26 e 27 - Raiz de *Hibiscus esculentum* utilizada como controle negativo para reação de evidenciação de alcalóides, em secção transversal. Xilema (Xi) secundário; Floema (F) secundário; Periderme (Pr).

Barras = 75  $\mu$  m

Figuras 28 a 31 – Estrutura caulinar de *Psychotria ipecacuanha*.

- Figuras 28, 29 e 31 – secções transversais do caule.

Fig. 28: Aspecto geral do caule em estrutura secundária. Periderme (Pr); colênquima (Cq); floema (F) secundário; xilema (Xi) secundário; medula parenquimática (Me). Fig. 29: Endoderme (En) com estrias de Caspary (Es). Fig. 31: Células parenquimáticas da medula, de parede espessada, contendo ráfides.

- Figura 30 - Secção longitudinal do caule evidenciando elemento de tubo crivado (Ef) do floema.

Barras = 35  $\mu$  m

Figuras 32 a 36 – Reação positiva para alcalóides (coloração amarela) em secções transversais do caule de *Psychotria ipecacuanha*.

Fig. 32: Aspecto geral do caule em estrutura secundária. Periderme (Pr); colênquima (Cq); parênquima cortical (Co); floema (F) secundário; xilema (Xi) secundário.

Fig. 33: Detalhe da região periférica do caule. Periderme (Pr); colênquima (Cq).

Fig. 34: Células corticais contendo amido (Am).

Fig. 35: Presença de alcalóides em células do xilema (Xi).

Figura 36: Parênquima medular em reação positiva para alcalóides. Medula (Me).

Barras = 50  $\mu$  m