

ESTUDO FITOQUÍMICO E MOLECULAR DE SEIS “VARIEDADES” DE ERVA-MATE

LAGOS, J. B.;¹ AMARAL, F. M. R.;² NAKASHIMA, T.;³
MAZZA, M. C. M.;⁴ MEDRADO, M. J. ⁵

Os programas de manejo e melhoramento de recursos genéticos de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. carecem de informações básicas sobre o comportamento do padrão fitoquímico e a variabilidade genética, passíveis de serem correlacionados com a qualidade industrial do produto e incorporado aos trabalhos de melhoramento. Dentre as características da erva-mate, o maior destaque é atribuído a suas propriedades medicinais e efeitos fisiológicos. Uma boa parte das ações fisiológicas atribuídas a erva-mate deve-se à presença da cafeína, a qual possui várias ações farmacológicas comuns de interesse terapêutico. Ela relaxa a musculatura lisa, notadamente a musculatura brônquica, estimula o sistema nervoso central e a musculatura cardíaca e age nos rins como diurético. Porém

¹ Acadêmico de Farmácia Industrial da UFPR, estagiário da *Embrapa Florestas*. Estrada da Ribeira, Km 111. Caixa postal, 319. CEP 83411-000. Colombo-PR.

² Acadêmico de Ciências Biológicas da UFPR, estagiário da *Embrapa Florestas*. Estrada da Ribeira, Km 111. Caixa postal, 319. CEP 83411-000 Colombo-PR.

³ Professora Dra. do Setor de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia da UFPR. Av Pref Lothário Meissner, 3400. CEP 80210-170 Curitiba-PR.

⁴ Zootecnista MSc. Pesquisadora da *Embrapa Florestas*. Estrada da Ribeira, Km 111. Caixa postal, 319 - CEP 83411-000- Colombo-PR. e-mail: cristina@cnpf.embrapa.br

⁵ Eng. Agr. Dr. Pesquisador da *Embrapa Florestas*. Estrada da Ribeira, Km 111. Caixa postal, 319. Fone (41) 666-1313. CEP 83411-000. Colombo-PR.

existem poucas informações sobre a variação do padrão fitoquímico para usos futuros e alternativos da erva-mate. Uma grande variabilidade tem sido associada ao germoplasma de erva-mate, principalmente devido à sua ampla distribuição natural, ocupando 5% do território nacional e 3% da América do Sul (considerando também a ocorrência em território argentino e paraguaio). Tem sido observada, visualmente, grande variabilidade fenotípica em populações de erva-mate, principalmente quanto às características cor do talo da folha (roxo, branco ou amarelo), tamanho da folha (grandes ou pequenas), pilosidade das folhas (com ou sem pêlos) e susceptibilidade à queda de folhas. Técnicos e produtores envolvidos com a silvicultura da espécie têm se referido a essa variabilidade com o termo "variedades" de erva-mate (Resende *et al.*, 1995). Essas "variedades" ocorrem simultaneamente no mesmo erval e são utilizadas sem distinção pela indústria ervateira. Carvalho (1994) relata que, além da variedade típica da *Ilex paraguariensis* A. St. Hil., existem mais duas variedades botânicas: *I. paraguariensis* A. St. Hil. var. *vestita*, conhecida como erva-mate peluda, com ocorrência em Minas Gerais, Paraná e São Paulo e *I. paraguariensis* A. St. Hil. var. *sincorensis*, com ocorrência na Serra de Sincorá, na Bahia, a 1.500 m de altitude. Estudos recentes, utilizando marcadores RAPD, em populações do Mato Grosso, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, tem mostrado alta variabilidade genética na espécie (Gauer, 1999). Entretanto, pouco se conhece sobre a variabilidade obtida por marcadores moleculares e a variação do padrão fitoquímico na espécie, e menos ainda quando se consideram as "variedades". O objetivo deste estudo foi ajustar protocolo para a extração e posterior doseamento de cafeína e também ajustar protocolo para a extração de DNA para utilizá-los em RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*), visando à avaliação da diversidade fitoquímica e genética entre as "variedades" populares da erva-mate. Para isso, a coleta do material botânico foi realizada na Fazenda Vila Nova em Ivaí (PR) constando de duas amostras das folhas de cada variedade de erva-mate: nativa, folha grande, folha brilhosa, talo-roxo, folha chumbo e peluda. Após a coleta, as folhas foram secas em estufa a 60°C por 10 horas, moídas e conservadas em frasco de vidro até o momento das análises. Foram realizadas extrações com diferentes metodologias, e a avaliação

foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), em que se determinou o perfil cromatográfico para a visualização da cafeína testando-se diversas fases móveis e visualizadores. As melhores condições para a CCD foram conseguidas utilizando-se a fase móvel toluol:acetato de etila:dietilamina (7:2:1) e o visualizador iodo-iodeto de potássio descrito por Wagner (1983), no qual a cafeína apresentou um $R_f = 0,43$. Dentre as metodologias de extração de cafeína analisadas, a que apresentou menor quantidade de impurezas na análise da placa cromatográfica sob luz UV e após revelação, foi a que usou clorofórmio, com duas alterações no pH, proporcionando uma purificação prévia da amostra. A quantificação da cafeína foi feita em espectrofotômetro UV no comprimento de onda 276,5 nm. Na metodologia de extração de DNA, testou-se os detergentes CTAB (cationic hexadecyl trimethyl ammonium bromide) e SDS (sodium dodecyl sulfate) no tampão de extração e clorofórmio-isoamílico-fenol para retirar as proteínas solúveis e carboidratos em sua maioria. A precipitação do DNA foi realizada pela adição de etanol absoluto e isopropanol em duas etapas. A qualidade do DNA foi verificada em gel de agarose corado com brometo de etídio e quantificado por espectrofotometria. O conhecimento sobre a diversidade genética dessa espécie e o perfil de substâncias químicas que influenciam nas características desejáveis dos produtos comercializados abrem perspectivas para o aumento de competitividade por meio da melhoria da qualidade do produto final oferecido pelas indústrias da região.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVALHO, P. E. R. *Espécies florestais brasileiras; recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*. Colombo: Embrapa-CNPQ; Brasília: Embrapa-SPI, 1994.
- GAUER, L. Variabilidade genética em populações naturais de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil., Aquifoliaceae) usando marcadores RAPD. 80 f. Porto Alegre. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) Universidade Federal do Rio Grande do Sul 1999.
- RESENDE, M. D. V.; STURION, J. A.; MENDES, S. *Genética e melhoramento da erva-mate (Ilex paraguariensis St. Hill.)* Embrapa - CNPQ, Colombo, PR 1995.
- WAGNER, H. et al. *Drogenanalyse dünnschichtchromatographische analyse von arzneidrogen*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1983.