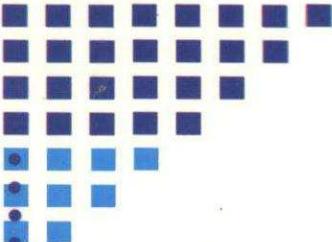




MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA - MAARA  
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA  
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU



JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY



# GERAÇÃO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRÓPICO ÚMIDO

Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA  
1990 - 1995



00326

Geração de tecnologia

1996

LV-2005.00326

Belém, PA

1996



30936-1

ISSN 0101-2835



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA - MAARA  
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA  
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU



JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY

# GERAÇÃO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRÓPICO ÚMIDO

Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA  
1990-1995

Belém, PA  
1996

EMBRAPA - CPATU. Documentos, 85

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

EMBRAPA - CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n

Telefones: (091) 226 - 6612, 226 - 6622

Telex: (91) 1210

Fax: (091) 226 - 9845

Caixa Postal, 48

66095 - 100 - Belém, PA

Tiragem: 200 exemplares

Unidade: <u>AI - Sede</u>
Valor aquisição: _____
Data aquisição: _____
N.º N. Fiscal/Fatura: _____
Fornecedor: _____
N.º OCS: _____
Origem: <u>Doce</u>
N.º Registro: <u>326/05</u>

### Comissão Editorial

Coordenação: Célio Francisco Marques de Melo

Dilson Augusto Capucho Frazão

Francisco José Câmara Figueirêdo

Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos

Composição: Ana Mirtes Maciel Fouró

Paulo Sérgio Oliveira

Silvia Helena Carneiro Matos

Vitor Guilherme de Sousa

Capa: Euclides Pereira dos Santos Filho

EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). **Geração de tecnologia agroindustrial para o desenvolvimento do trópico úmido.** Belém: EMBRAPA - CPATU / JICA, 1996. p. 305 (EMBRAPA - CPATU. Documentos, 85).

Convênio EMBRAPA - CPATU / JICA

1. Agroindústria - Tecnologia - Brasil - Amazônia.

I. Título. II. Série

CDD: 630.720811

© EMBRAPA - 1996

## COLETA, PROPAGAÇÃO E AVALIAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS DA AMAZÔNIA

Irenice Alves Rodrigues<sup>1</sup>  
Sérgio de Mello Alves<sup>2</sup>  
Olinto Gomes da Rocha Neto<sup>3</sup>  
Edson José Artiaga de Santiago<sup>4</sup>  
Claudio José Reis de Carvalho<sup>3</sup>  
Hiroyuri Kamakura<sup>5</sup>  
Osamu Shirota<sup>5</sup>  
Hiromasa Izumi<sup>5</sup>  
Takashi Watanabe<sup>5</sup>  
Kiichiro Kawaguchi<sup>5</sup>

**Resumo:** O processo de desenvolvimento da região amazônica requer estratégias apropriadas nos diferentes setores organizados da sociedade, na busca do bem-estar socioeconômico da população. A utilização racional dos recursos naturais passa a ter grande importância nesse contexto, à medida que os produtos florestais, madeireiros e não-madeireiros, passam a ser explorados economicamente. O presente segmento de pesquisa tem por objetivo coletar, conservar e promover a domesticação de espécies medicinais nativas de importância econômica, através de esforço integrado e interdisciplinar, visando indicar materiais genéticos selecionados que possam ser utilizados em sistemas de produção viáveis agronomicamente, com retornos econômicos que garantam a sustentabilidade de áreas agrícolas da região, e a sua utilização como matéria-prima na produção de novos medicamentos sem a destruição do material genético nativo. Foram selecionadas para os estudos iniciais de domesticação as espécies *Cephaelis ipecacuanha* (Ipeca) e *Pilocarpus microphyllus* (Jaborandi), tendo-se coletado materiais botânicos em vários acessos em áreas de ocorrência natural. Foram realizados experimentos para a propagação das espécies, verificando-se que o melhor material para a propagação de ipeca são as estacas de raízes e para o jaborandi, as sementes. Estão sendo conservadas as coleções destas espécies em duas áreas distintas, uma em sub-bosque e outra a pleno sol. Avaliações fitoquímicas periódicas de emetina em ipeca e pilocarpina em jaborandi vêm sendo realizadas nas

<sup>1</sup> Farm. Biol. M.Sc. EMBRAPA-CPATU. Caixa Postal 48, CEP 66.017-970. Belém, PA.

<sup>2</sup> Quim. Ind. M.Sc. EMBRAPA-CPATU.

<sup>3</sup> Eng. Agr. Ph.D. EMBRAPA-CPATU.

<sup>4</sup> Eng. Agr. EMBRAPA-CPATU.

<sup>5</sup> Consultor da Japan International Cooperation Agency - JICA. Av. Nazaré 272, Sala 105. Ed. Clube de Engenharia, CEP 66.035-170. Belém, PA.

plantas das coleções, tendo-se adaptadas metodologias para a determinação desses princípios ativos. Foram iniciados estudos agronômicos e fisiológicos, visando à domesticação destas espécies. Está sendo elaborado um "Guia de plantas medicinais, com ênfase nas espécies da Amazônia". Até o momento foram realizadas descrições botânicas, "screening" químico e fotografadas algumas espécies.

## COLLECTION, PROPAGATION AND EVALUATION OF MEDICINAL PLANTS OF AMAZONIA

**Abstract:** The process of development in the Amazon region requires appropriate strategies in the different organized sectors of society, seeking the socio-economic well-being of the population. The rational use of natural resources thus takes on a greater importance in this context, in that, timber and non-timber forest products are able to be harvested economically. The objective of this project is to collect, conserve and promote the domestication of native medicinal species of economic value, through an integrated and multidisciplinary effort, in order to identify selected genetic material that can be utilized in agronomically feasible production systems. This material must provide sufficient economic returns to guarantee the sustainability of agricultural areas in the region, and that their utilization as a raw material for producing new medications does not jeopardize the native genetic material. For the initial studies of domestication were selected the species *Cephaelis ipecacuanha* (Ipeca) and *Pilocarpus microphyllus* (Jaborandi). It was also collected many access on the areas of natural occurrence. Experiments for the propagation of the species were made. The results showed that the best material for ipeca propagation are the stacks of roots and for the jaborandi the seeds. The collections of these species have been preserved in two specific areas, one in shrub and the other at the sun. Periodic phytochemistry evaluations of emetine in ipeca and pilocarpine in jaborandi has been done in plants of the collections. Methodologies were adapted for the determination of those active principles. Agronomical and physiological studies have been done for the domestication of these species. It has been made a "Guide of Medicinal Plants" with emphasis in the Amazonian species. At this moment it was made the plants descriptions, the chemical screening and photographed some of the species.

## **Objetivo**

Selecionar plantas da Amazônia com tradição fitoterapêutica visando utilizá-las como insumo à indústria farmacêutica nacional.

## **Justificativa**

As plantas medicinais oriundas da flora amazônica vêm sendo utilizadas há décadas pela população, sendo que algumas espécies são tradicionalmente usadas em tratamentos fitoterápicos, onde o conhecimento popular tem grande relevância na aplicação dos princípios ativos. Muitas dessas espécies estão passíveis de extinção, seja pela erosão genética provocada pela coleta indiscriminada e/ou pelos freqüentes desmatamentos das áreas de ocorrência natural.

No momento em que a comunidade internacional empenha-se para colaborar na preservação da biodiversidade da floresta amazônica, torna-se oportuno o desenvolvimento de ações de pesquisa que visem, principalmente, promover a domesticação de espécies de valor econômico reconhecido, favorecendo, dessa forma, a preservação e conservação dos recursos genéticos, além de contribuir significativamente para o desenvolvimento regional.

## Resultados parciais

### Experimento 1 - Coleta, propagação e conservação de *Cephaelis ipecacuanha* (Brot) A. Rich, ipeca; *Pilocarpus microphyllus* Stapf., jaborandi

As espécies medicinais nativas estudadas foram escolhidas com base em critérios que priorizaram o potencial econômico e o risco de erosão genética, evidenciada pelo extrativismo indiscriminado, e pelas alterações provocadas por ações de desmatamentos nas áreas de ocorrência natural.

Com a finalidade de programar as expedições de coleta foram efetuados levantamentos bibliográficos e de herbários, para a obtenção do conhecimento sobre a distribuição geográfica das espécies.

#### Ipeca

A ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* (Brot) A. Rich) pertence à família Rubiaceae, sendo também conhecida cientificamente por *Psychotria ipecacuanha* (Brot) Stokes e, popularmente, como ipecacuanha, ipecacuanha anelada poaia e poaia do mato. É uma planta arbustiva e reptante, cujo habitat natural no Brasil é representado pelas matas dos Estados de Rondônia, Mato Grosso, Pará, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Pernambuco.

A importância econômica desta espécie é devida ao seu potencial medicinal, representado pelo alcalóide emetina, sintetizado principalmente nas raízes, além de outros de menor percentagem. É usada como expectorante, no tratamento de diarreias comuns e amebíase. Atualmente, encontra-se em fase de extinção, devido à coleta indiscriminada e à derrubada das matas sob as quais se dá a ocorrência natural da espécie, fatos esses observados em diversos locais onde foram procedidas as coletas realizadas pelo CPATU, quando foi constatado o desaparecimento de várias populações. Essa situação determinou a necessidade de se conservar parte da variabilidade genética da espécie fora do ambiente natural (conservação ex-situ), tarefa essa iniciada no Brasil pelo CPATU.

As coletas de germoplasma de ipeca foram realizadas em quatro expedições botânicas nas áreas de ocorrência natural da espécie, nos Estados de Mato Grosso, Rondônia, Espírito Santo, Minas Gerais e Bahia. Coletaram-se sementes, mudas, estacas (de raiz e caule), além de amostras para a herborização e análises fitoquímicas (Tabela 63).

**Tabela 63 - Quantificação do material genético de Ipeca coletado em diferentes regiões brasileiras e introduzidas no BAG de plantas medicinais do CPATU**

Locais	Nº de acessos
<b>MATO GROSSO</b>	
Barra do Bugre	15
Salto do Céu	03
Cáceres	01
Mirassol	01
Novo Horizonte	01
Pontes de Lacerda	01
Vila Bela SSM <sup>a</sup> Trindade	01
Tangará da Serra	03
Rio Branco	01
<b>Total</b>	<b>27</b>
<b>RONDÔNIA</b>	
Rolim de Moura	21
Costa Marques	12
Cacoal	01
Cerejeiras	01
<b>Total</b>	<b>35</b>
<b>ESPÍRITO SANTO</b>	
Linhares	03
Lajinha	01
<b>Total</b>	<b>04</b>
<b>RIO DE JANEIRO</b>	
Ponciuncula	02
<b>MINAS GERAIS</b>	
Caratinga	02
<b>BAHIA</b>	
Bicará	01

Após vários experimentos verificou-se que o melhor material para propagação foram as estacas de raízes, cortadas em pedaços de aproximadamente 7cm de comprimento, colocadas inclinadas em câmara úmida, em substrato de areia lavada, onde permaneceram por cerca de 90 dias. Em seguida foram transplantadas, deixadas em viveiro por um período de 180 dias, sendo em seguida transferidas para as áreas de plantio definitivo – sub-bosque, com espaçamento de 30cm x 40cm; e em canteiros semi-sombreados e irrigados, com espaçamento de 25cm x 25cm.

Os primeiros testes com plantas estabelecidas em canteiros foram realizados em 1992, sendo estes localizados na encosta da mata, de modo que as plantas mesmo estando a “Céu Aberto”, recebiam apenas a radiação direta por cerca de seis horas diárias. Os canteiros foram preparados com esterco de gado curtido, e as plantas irrigadas por gotejamento.

Os resultados preliminares mostraram algumas vantagens desse sistema sobre o plantio no sub-bosque ( simulação do habitat natural ), principalmente no que diz respeito a maior produtividade do sistema radicular. Nessas condições, obteve-se em oito meses um volume radicular só conseguido aos 24 meses nos plantios de sub-bosque ( 18 gr / planta ). Além disso, a facilidade observada na operação de coleta das raízes nos canteiros, contrasta com as dificuldades observadas na mesma operação quando o plantio é no sub-bosque, onde o entrelaçamento das raízes de Ipeca com outras do sistema, provoca perdas de tempo e de material botânico.

Do sistema de plantio em canteiros a pleno sol por meio dia, evoluiu-se para o plantio de canteiros cobertos por palhas ( folhas de palmeiras ) ou por canteiros estabelecidos sob coberturas com plantas trepadeiras, como por exemplo o maracujá (*Passiflora edulis* ), de acordo com a Fig. 93.



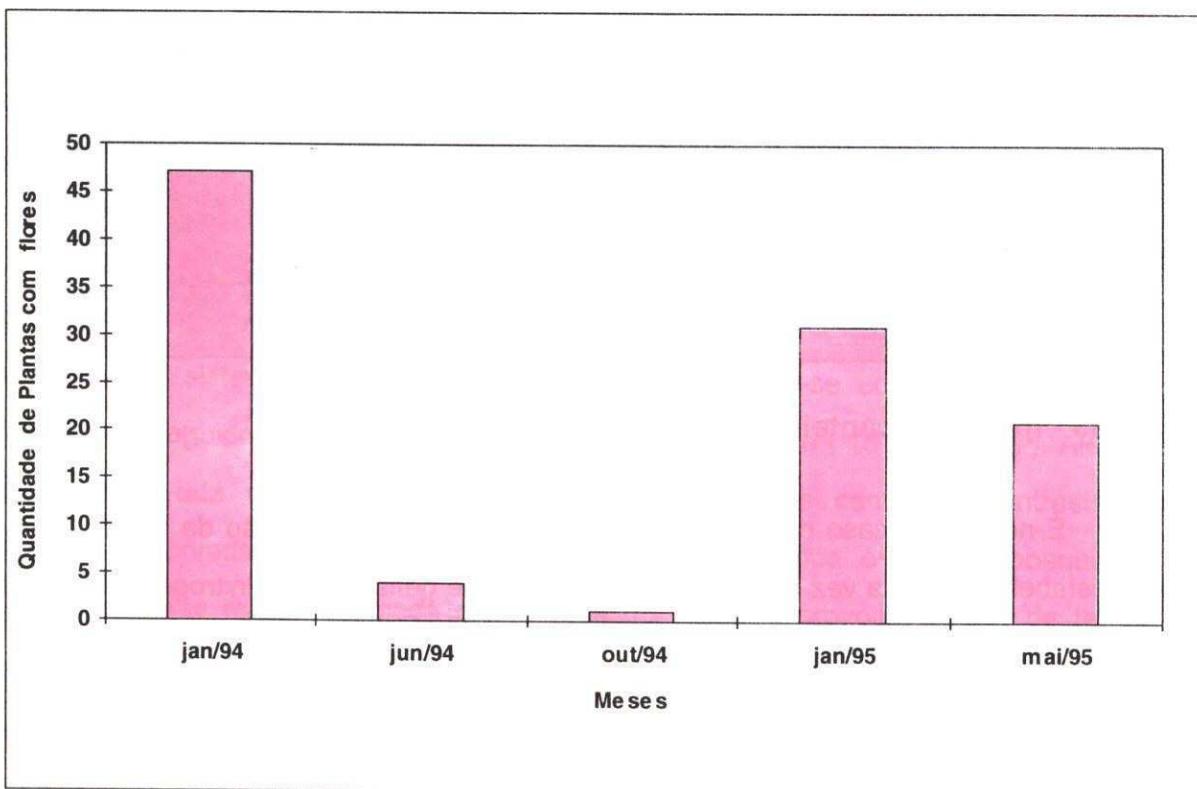
**FIG. 93 - Ipeca em canteiros semi-sombreados e irrigados.**

É notório no caso da Ipeca, que a relação radiação X nutrição da planta deva ser muito bem estabelecida, uma vez que os sintomas visuais de deficiência de nitrogênio em plantas a pleno sol é marcante nessa espécie .

Realizaram-se observações fenológicas nas plantas das coleções, tanto de sub-bosque como de canteiros, verificando-se o florescimento em mais de uma época do ano, porém, a maior incidência ocorreu no período chuvoso (janeiro a março), registrando-se a produção de sementes, após cerca de 150 dias do início da floração. As sementes coletadas foram remetidas ao Laboratório de Sementes do CPATU para diversos testes. Os resultados obtidos mostraram que as sementes apresentam germinação extremamente lenta e com acentuada desuniformidade, iniciando a emergência das plântulas aos 130 dias após a sementeira e estabilizando por volta de 560 dias, quando a percentagem de germinação atingiu 66%. É possível que o duro e espesso endocarpo que envolve as sementes seja a causa da dormência verificada nessa espécie. O peso

verificada nessa espécie. O peso de 100 sementes, com umidade de 26,0%, apresentou valor médio de 1,882g e cada fruto continha duas sementes.

As plantas de ipeca que foram transplantadas para os canteiros semi-sombreados e irrigados, no final de 1992 e início de 1993, estão com desenvolvimento normal e regularidade de floração e frutificação, enquanto que as da área do sub-bosque vêm tendo a floração e a frutificação prejudicadas pelo constante ataque de gafanhotos. Estão sendo realizadas observações fenológicas para as fenofases de floração e frutificação (Figs. 94, 95, 96 e 97)



**FIG. 94 - Avaliação da floração de ipeca no período de janeiro de 1994 a maio de 1995.**

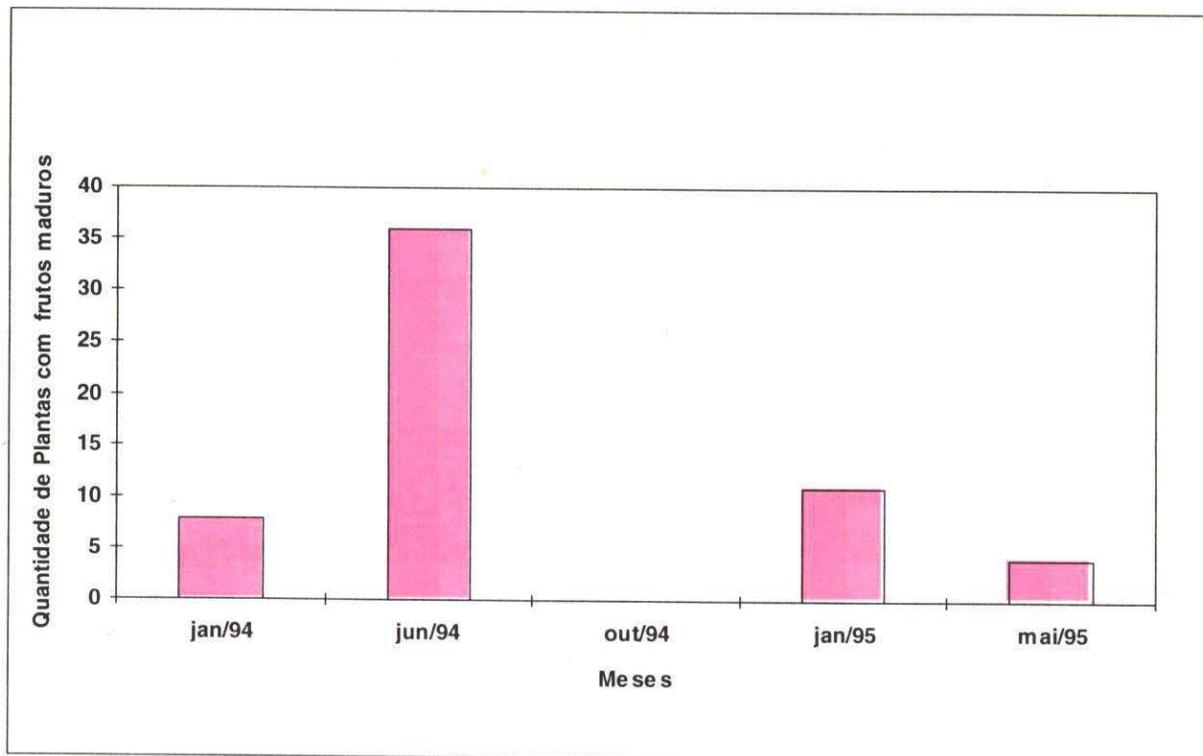


FIG. 95 - Avaliação da frutificação de ipeca no período de janeiro de 1994 a maio de 1995.

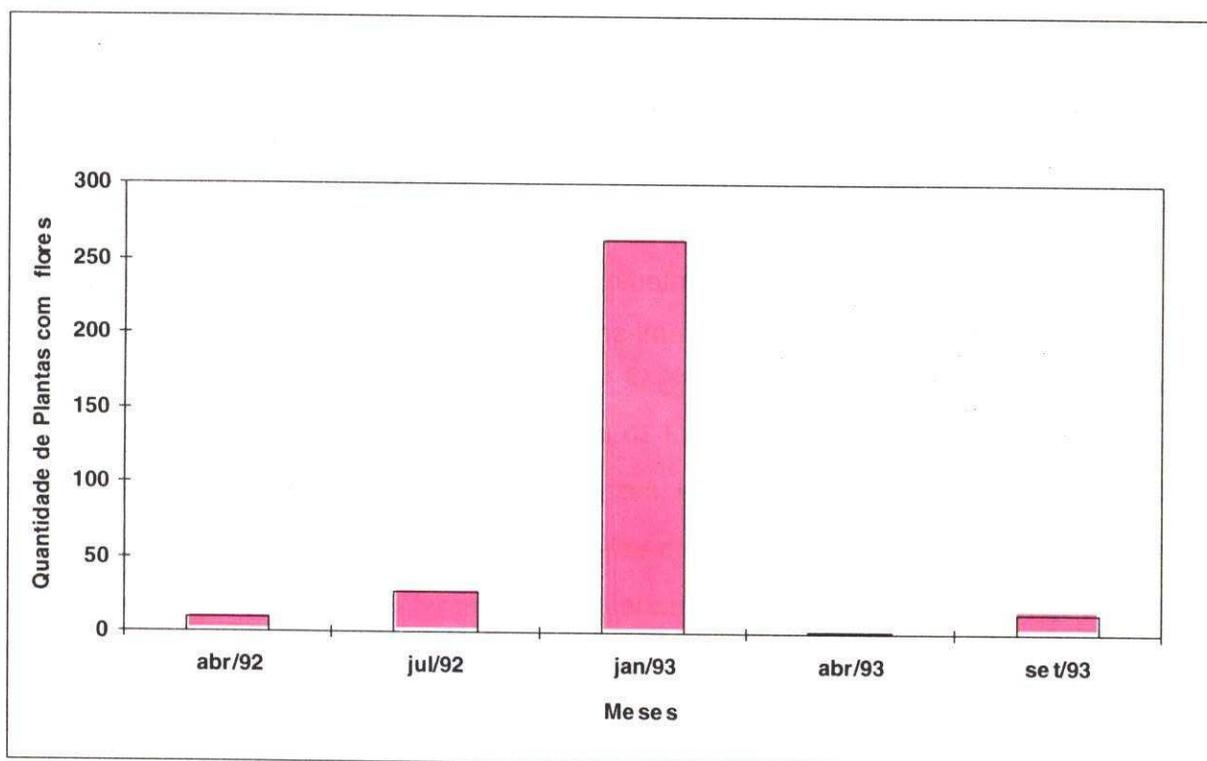
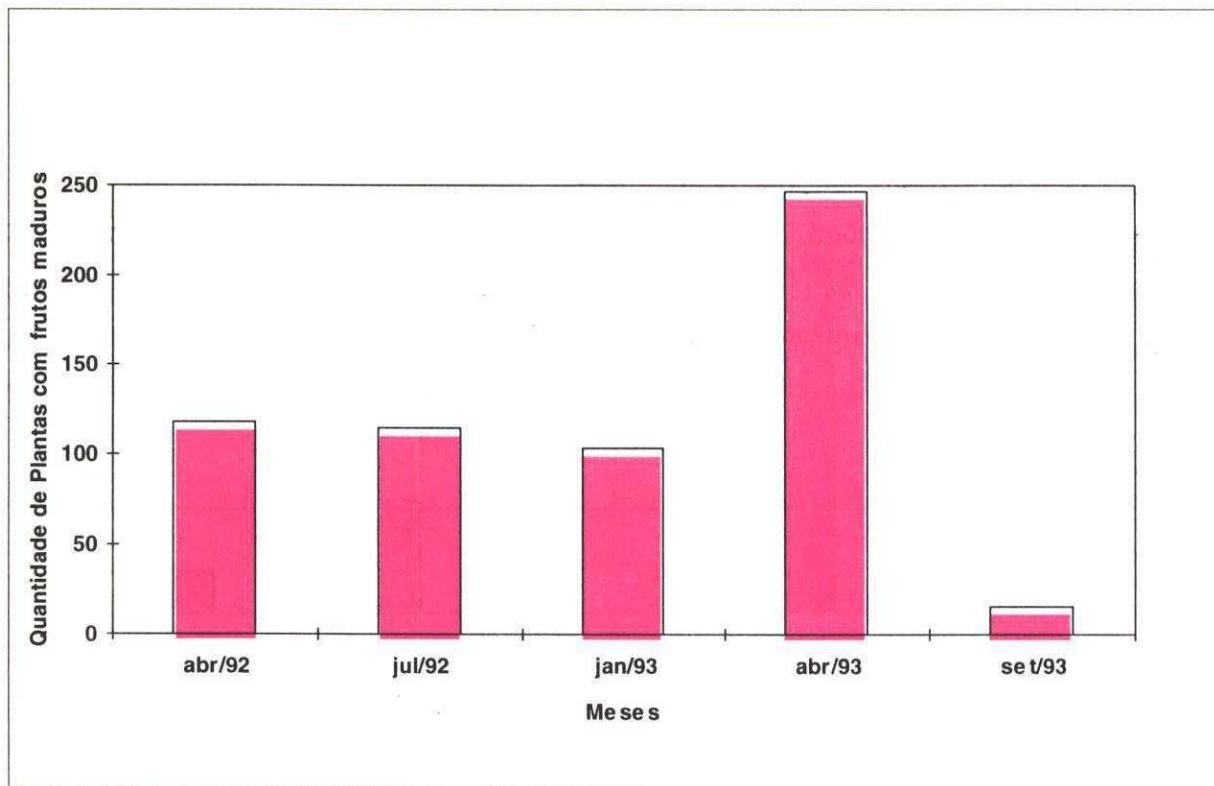


FIG. 96 - Avaliação da floração de ipeca no período de abril de 1992 a setembro de 1993.



**FIG. 97 - Avaliação da frutificação de ipeca no período de abril de 1992 a setembro de 1993**

Os estudos de caracterização das diferentes populações de Ipeca coletadas, deverão ser iniciados em 1996, com a utilização de marcadores izoenzimáticos através da técnica de eletroforese, e através do processo convencional de descritores botânicos.

As plantas de ipeca provenientes da micropropagação através da cultura de tecidos estão sendo cultivadas nos canteiros semi-sombreados e irrigados, com desenvolvimento satisfatório.

## Jaborandi

O jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf.), também conhecido como joãoborandi, arruda e arataia, pertencente à família Rutaceae, é uma planta arbustiva a subarbórea, com 2,5m a 6,0m de altura e habitat natural em mata aberta e campinarana dos Estados do Pará e Maranhão.

O valor econômico da planta é devido a um dos alcalóides contidos nas folhas, a pilocarpina. Desde muito tempo as folhas dessa espécie são usadas em forma de chá, como anti-infecciosas e antifebrífugas, e industrialmente, na confecção de xampu e mais recentemente na composição de medicamentos oftalmológicos, recomendados na forma de colírios para o tratamento do glaucoma.

A sobrevivência do jaborandi está ameaçada devido à coleta indiscriminada e destruidora para comercialização das folhas, em armazéns de revenda no Estado do Maranhão ou compradores de folhas no Estado do Pará.

Da mesma forma como ocorreu com a ipeca, procurou-se viabilizar a conservação do germoplasma de jaborandi no CPATU. Em 1991, iniciaram-se as coletas de germoplasma em áreas de ocorrência natural, nos Estados do Maranhão (Açailândia, Mata Roma, Brejo e Santa Quitéria) e do Pará (Serra dos Carajás, áreas da Companhia Vale do Rio Doce-CVRD), tendo sido coletadas apenas sementes.

Em 1992 foram realizadas duas expedições, uma à Serra do Carajás e outra ao município de Moju (fazenda Maisa). Em ambos os locais foram coletadas estacas da parte aérea, além de plântulas obtidas sob as plantas matrizes, em decorrência da inexistência de sementes. As estacas foram utilizadas em testes de enraizamento, sendo tratadas com fitohormônio (Ácido Indol Butírico), porém, apresentaram taxa de enraizamento muito baixa (20%). As mudas das plântulas foram enviveiradas e as mais uniformes utilizadas em testes de respostas a diferentes níveis de luminosidade, observando-se que as melhores taxas de crescimento foram constatadas em plantas sob sombrite com 50% de interceptação de luz.

Em 1993 foram coletadas na Serra dos Carajás poucas sementes, algumas plântulas e material para análise fitoquímica e preparo de exsiccatas.

Em junho de 1994 foram recebidas da Serra dos Carajás algumas sementes que produziram mudas, no momento enviveiradas em sacos de polietileno.

No final de julho de 1994 foi realizada uma expedição de coleta abrangendo as regiões de Altamira, Breu Branco e Moju, no Estado do Pará. Em Altamira só foram coletadas folhas para análise fitoquímica, uma vez que não haviam sementes. Nos outros locais foram coletadas sementes e plântulas, além de folhas para análises fitoquímicas.

No período de 1991 a 1994 foi coletado um total de 35 acessos de jaborandi, conforme está demonstrado na Tabela 64.

**TABELA 64 - Locais de coleta e material coletado de jaborandi**

Primeira coleta (julho de 1991)	Material coletado/ quantidade	Segunda coleta (julho de 1992)	Material coletado/ quantidade
<b>Pará</b> (Moju e Parauapebas - Serra dos Carajás)	Sementes 659	<b>Pará</b> (Moju e Parauapebas - Serra dos Carajás)	Estacas 30 Mudas 575
<b>Maranhão</b> (Brejo, Sta. Quitéria, Mata Roma, Açailândia)	Sementes 625		
Terceira coleta (Junho de 1993)	Material coletado/ quantidade	Quarta coleta (Junho de 1994)	Material coletado/ quantidade
<b>Pará</b> (Parauapebas - Serra dos Carajás)	Sementes 156 Mudas 139	<b>Pará</b> (Parauapebas - Serra dos Carajás, Moju, Novo Breu Branco)	Sementes 513 Mudas 142

As sementes apresentaram percentual de germinação satisfatório (em torno de 80%) e o início da germinação ocorreu entre dez a quinze dias, porém, com 30 dias, as plântulas foram repicadas para sacos de polietileno, onde permaneceram aproximadamente 100 dias em viveiro semi-sombreado.

As plântulas apresentaram um padrão de crescimento e desenvolvimento lento, porém, com poucos registros de perdas. O transplântio para a área definitiva foi realizado no período chuvoso, uma vez que foram registradas perdas de plantas já estabelecidas no campo, durante o período de estiagem, provavelmente devido ao estresse hídrico.

Uma parte das plantas da primeira coleta foi transplântada para área de sub-bosque, consorciada com a ipeca; a outra, para área de céu aberto, consorciada com bananeiras, além de um outro grupo, cultivado em plantio isolado com espaçamento de 2,50m x 2,50m (Fig. 98).



**FIG. 98 - Jaborandi, em sub-bosque, consorciado com ipeca.**

Verificou-se pequena perda de plantas nas áreas de céu aberto, principalmente naquelas consorciadas com bananeiras, devido ao ataque de nematóides e insetos . Entretanto, apresentaram desenvolvimento melhor que as do sub-bosque, já tendo iniciado a floração e a frutificação.

Na área de sub-bosque não foram registradas perdas, todavia, as plantas apresentam pouco desenvolvimento.

Atualmente o BAG de jaborandi conta com 35 acessos. E, além das plantas do Banco de Germoplasma (BAG), foram estabelecidas no campo, a céu aberto, outras espécies medicinais de interesses econômico-regionais e introduzidas, constituindo uma coleção de trabalho (horto de espécies medicinais mais utilizadas pela população), que poderá subsidiar futuros estudos, com o fornecimento de material botânico (Tabela 65 e Fig. 99).

Na área de sub-bosque não foram registradas perdas, todavia as plantas apresentam pouco desenvolvimento.

O manejo e os tratos culturais dispensados às plantas que constituem o BAG de plantas medicinais, estão sendo realizados com base nas informações obtidas em estudos fitotécnicos preliminares, sendo modificados gradativamente à medida em que os estudos agronômicos e fisiológicos forem delineando o sistema de produção mais adequado para cada espécie.

TABELA 65 - Lista das plantas medicinais introduzidas no Horto do CPATU.

Nome científico	Nome vulgar	Família
<i>Hyptis suaveolens</i> Port.	Alfavacão	Labiatae
<i>Portulaca pillosa</i> L.	Amor crescido	Portulacaceae
<i>Dorstenia asaroides</i> Gard.	Apii	Moraceae
<i>Vernonia condensata</i> Baker	Boldo	Compositae
<i>Physalis angulata</i> L.	Camapu	Solanaceae
<i>Costus spicatus</i> (Jacq.)s.w.	Canarana	Zingiberaceae
<i>Pseudocalymma alliaceum</i> Sandw.	Cipó d' alho	Vitaceae
<i>Cissus sicyoides</i> L.	Cipó-pucá	Vitaceae
<i>Pfafia glomerata</i> (Spreng.) Peterson	Corrente	Amaranthaceae
<i>Symphytum officinale</i> L.	Confrei	Boraginaceae
<i>Maytenus elicifolia</i> Mart.	Espinheira Santa	Celastraceae
<i>Cordia verbenacea</i> D.C	Erva-baleeira	Boraginaceae
<i>Cajanus cajan</i> (L.) Mill	Feijão-guandu	Leguminosae
<i>Zingiber officinalis</i> Rosc.	Gengibre	Zinziberaceae
<i>Cephaelis ipecacuanha</i> (Brot.) A. Rich.	Ipeca	Rubiaceae
<i>Pilocarpus microphyllus</i> Stapf.	Jaborandi	Rutaceae
<i>Eupatorium triplinerve</i> Vahl	Japana branca	Compositae
<i>Elephantopus scaber</i> L.	Lingua-de-vaca	Compositae
<i>Ocimum minimum</i> L.	Mangericão	Labiatae
<i>Eltheuterina plicata</i> Herb.	Marupazinho	Iridaceae
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Mastruço	Chenopodiaceae
<i>Evolvulus</i> sp.	Melhoral	Convolvulaceae
<i>Petiveria alliacea</i> L.	Mucura caá	Phitolacaceae
<i>Pogostemon heyneanus</i> Benth.	Oriza	Labiatae
<i>Arrabidaea chica</i> Verlot.	Pariri	Bignoniaceae
<i>Vitex agnus castus</i> L.	Pau d'angola	Verbenaceae
<i>Sambucus nigra</i> L.	Sabugueiro	Caprifoliaceae
<i>Croton cajuçara</i> Benth.	Sacaca	Euphorbiaceae
<i>Hyptis crenata</i> Pohl	Salva-do-maraçó	Labiatae
<i>Unxia camphorata</i> L.	São João	Compositae
<i>Mikania humilifolia</i> DC.	Sucuriju	Compositae
<i>Himanthus sucuba</i> Spruce	Sucuba	Apocynaceae
<i>Trifolium medium</i> L.	Trevo-roxo	Papilionaceae
<i>Scoparia dulcis</i>	Vassourinha	Scrophulariaceae
<i>Borreria verticillata</i> (Gen.) Hayer	Vassoura-de-botão	Rubiaceae



**FIG. 99 - Visão do horto de plantas medicinais.**

### **Considerações sobre a elaboração do “Guia de Plantas Medicinais Nativas da Amazônia”**

Com o objetivo de consolidar as informações sobre plantas medicinais nativas da Amazônia, geradas durante a vigência do projeto, foi acertada, entre representantes do CPATU e da JICA, a elaboração de um Guia de Plantas Medicinais Nativas da Amazônia.

Algumas ações conjuntas foram implementadas, como os levantamentos bibliográfico, fotográfico e de herbário. Como resultado desse trabalho, estão disponíveis parte dos 490 slides de plantas, além da compilação de uma série de informações que deverão ser processadas.

## **Experimento 2 - Análise fitoquímica de plantas medicinais**

Para a quantificação da emetina na raiz da ipeca foi introduzido, testado e aprovado o seguinte método: pesar 20mg de amostra seca e moída, agitar com 0,5ml de hidróxido de amônio a 10% por um minuto, depois juntar 5ml de éter etílico e agitar por cinco minutos; e retirar 1ml da parte etérea e evaporar até a secura; em seguida dissolver em 1ml de metanol e analisar em HPLC.

A coluna utilizada é de ODS, a uma temperatura de 40°C e o solvente é a mistura de acetonitrila e ácido trifluoracético a 0,1%, na proporção de 18 para 82, respectivamente, com a vazão de 1ml/min. O detector utilizado é o de fluorescência e o comprimento de onda Ex 283nm e Em 318nm.

O método para determinação de emetina já está sendo utilizado rotineiramente no Laboratório de Agroindústria do CPATU.

Algumas amostras extraídas da coleção do CPATU foram analisadas e apresentaram os seguintes resultados de acordo com a Tabela 66.

**TABELA 66 - Resultados analíticos de amostras de ipeca da coleção do CPATU.**

Amostra	Idade/meses	Emetina (%)
Cacoal RO 819-P5	22	0,60
Barra do Bugres MT 690-P3	34	0,70
Barra do Bugres MT 589-P6	47	0,66
Costa Marques RO 612-P5	47	0,63
Costa Marques RO 840-P3	22	0,62
Costa Marques RO 839-P8	22	0,69
Costa Marques RO 838-P9	22	0,63
Rio Branco MT 714-P10	34	0,71
Rio Branco MT 712-P5	34	0,61
Barra do Bugres MT 695-P3	34	0,64
Ibicaraí BA Kamakura 767-2 Sub-bosque	51	0,73
Porciuncula Rio Canteiro Kamakura 745-9	12	0,55
Rolim de Moura RO Kand Canteiro 808-8	12	0,61
Caratinga MG 751-4	51	0,66
Linhares ES 760-4	51	0,74
Tangará da Serra MT 702-4 Sub-bosque	55	0,84
Rio Branco MT 719-9 Sub-bosque	55	0,66
Cacoal RO 819-13 Canteiro	12	0,67
Cerejeiras RO 845-16 Canteiro	12	0,67
Ponta Lacerda MT 602-P34	47	0,87
Salto do Céu MT 590-8	47	0,96
Mirassol MT 595-P2	47	0,74
Novo Horizonte MT 596-52	47	0,66
Ponte Lacerda MT 719-P4	34	0,63
Cáceres MT 594-93	47	0,61
Costa Marques RO 837-P6	22	0,67
Costa Marques RO 827-P12	22	0,67
Cerejeira RO 845-P10	22	0,65
Costa Marques RO 826-P5	22	0,64
Cacoal RO 816-P2	22	0,64

**- Operações para o isolamento de alcalóides**

A metodologia utilizada para o "screening" fitoquímico está baseada em reações de precipitação e coloração. Na Tabela 67 encontram-se os resultados de 27 plantas estudadas.

**TABELA 67 - "Screening" fitoquímico de 27 plantas da coleção do CPATU analisadas em outubro, novembro e dezembro de 1994.**

Nome vulgar	Mutamba	Caapeba	Quebra-pedra-vermelha
Nome científico	<i>Guazuma ulmifolia</i> HBK	<i>Potomorphe peltata</i> (L.) Miq.	<i>Phyllanthus urinari</i> Aubl.
Família	Sterculiaceae	Piperaceae	Rubiaceae
Parte usada	Folha	Folha	Folha
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P	P	P
Açúcares redutores	P	N	P
Alcalóides	P	N	N
Antraquinonas	N	P	P
Azulenos	M	M	M
Carotenóides	P	P	P
Catequinas	M	M	M
Depsídeos e depsidonas	M	P	P
Derivados benzoquinonas	N	M	N
Derivados da cumarina	N	N	N
Esteróides e triterpenóides	N	P	P
Flavonóides	P	M	M
Glicosídeos cardíacos	N	M	M
Lactonas	N	M	P
Polissacarídeos	N	N	N
Proteínas e aminoácidos	P	P	N
Purinas	N	N	P
Saponina espumílica	P	P	P
Taninos	P	P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

**TABELA 67 - Continuação ...**

Nome vulgar	S. João-caá	Angico	Sucuba
Nome científico	<i>Unxia camphorata</i> (Spreng) Peters	<i>Anadenanthera</i> <i>peregrina</i> (L.) Benth	<i>Himatanthus</i> <i>sucuuba</i> Spruce
Família	Compositae	Leguminosae – Mimosoideae	Apocynaceae
Parte usada	Folha/raiz	Casca/vagem	Casca
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P/P	P/P	P
Açúcares redutores	P/P	P/P	P
Alcalóides	N/N	N/N	N
Antraquinonas	N/N	N/N	P
Azulenos	M/P	N/N	N
Carotenóides	P/N	N/N	N
Catequinas	N/N	P/N	P
Depsídeos e depsidonas	P/P	P/N	N
Derivados benzoquinonas	N/N	M/M	N
Derivados da cumarina	N/P	N/N	N
Esteróides e triterpenóides	P/P	N/N	N
Flavonóides	P/P	N/N	N
Glicosídeos cardíacos	N/N	N/N	N
Lactonas	N/N	N/N	N
Polissacarídeos	N/N	N/N	N
Proteínas e aminoácidos	P/N	P/N	N
Purinas	N/N	N/N	N
Saponina espumígena	P/P	P/P	P
Taninos	P/P	P/P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

**TABELA 67 - Continuação ...**

Nome vulgar	Vassoura-de-botão	Verônica-vermelha	Vassourinha
Nome científico	<i>Borreria vermiculata</i> (L.) Meyer	<i>Dalbergia monetaria</i> L.	<i>Scoparia dulcis</i> L.
Família	Rubiaceae	Leguminosae - Papilionoideae	Scrophulariaceae
Parte usada	Raiz	Casca	Raiz
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P	P	P
Açúcares redutores	P	P	P
Alcalóides	N	N	P
Antraquinonas	N	N	N
Azulenos	N	N	N
Carotenóides	N	N	P
Catequinas	P	N	N
Depsídeos e depsidonas	N	P	P
Derivados benzoquinonas	N	P	M
Derivados da cumarina	N	N	N
Esteróides e triterpenóides	N	N	P
Flavonóides	N	P	M
Glicosídeos cardíacos	N	P	N
Lactonas	N	P	N
Polissacarídeos	N	N	N
Proteínas e aminoácidos	N	N	N
Purinas	N	M	N
Saponina espumídica	P	P	P
Taninos	P	P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

**TABELA 67 - Continuação ...**

Nome vulgar	Graviola	Carambola	Castanha-do-brasil
Nome científico	<i>Annona muricata</i> L.	<i>Averrhoa carambola</i> L.	<i>Bertholletia excelsa</i> H.&B
Família	Anonaceae	Oxalidaceae	Lecythidaceae
Parte usada	Folha	Folha	Umbigo do ouriço
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P	P	P
Açúcares redutores	P	P	P
Alcalóides	P	P	N
Antraquinonas	N	N	N
Azulenos	N	P	N
Carotenóides	P	P	P
Catequinas	N	P	N
Depsídeos e depsidonas	M	M	P
Derivados benzoquinonas	N	N	N
Derivados da cumarina	N	N	N
Esteróides e triterpenóides	P	P	P
Flavonóides	P	M	P
Glicosídeos cardíacos	N	N	N
Lactonas	N	N	P
Polissacarídeos	N	N	N
Proteínas e aminoácidos	P	P	P
Purinas	P	P	N
Saponina Espumílica	P	P	P
Taninos	P	P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

**TABELA 67 - Continuação ...**

Nome vulgar	Língua-de-vaca	Pau-para-tudo	Ginja ou Pitanga
Nome científico	<i>Elephantopus mollis</i> HBK	<i>Simaba cedron</i> HBK	<i>Eugenia uniflora</i> L.
Família	Compositae	Simarubaceae	Myrtaceae
Parte usada	Folha/raiz	Casca	Folha
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P/P	P	N
Açúcares redutores	P/P	P	P
Alcalóides	N/N	P	P
Antraquinonas	N/N	N	N
Azulenos	M/P	P	P
Carotenóides	P/N	P	M
Catequinas	N/N	N	P
Depsídeos e depsidonas	M/P	N	M
Derivados benzoquinonas	N/N	N	N
Derivados da cumarina	N/P	N	N
Esteróides e triterpenóides	P/N	P	N
Flavonóides	M/P	N	M
Glicosídeos cardíacos	M/N	N	N
Lactonas	M/N	N	N
Polissacarídeos	N/N	N	N
Proteínas e aminoácidos	P/P	P	P
Purinas	P/N	N	P
Saponina espumílica	P/P	P	P
Taninos	P/P	P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

**TABELA 67 - Continuação ...**

Nome vulgar	Picão	Damiana	Marupazinho
Nome científico	<i>Bidens pilosa</i> L.	<i>Turnera ulmifolia</i> L.	<i>Eleutherine plicata</i> Herb.
Família	Compositae	Turneraceae	Iridaceae
Parte usada	Folha/talo	Folha	Batata
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P/P	P	P
Açúcares redutores	P/P	P	P
Alcalóides	N/N	N	N
Antraquinonas	P/N	N	N
Azulenos	M/P	M	N
Carotenóides	P/P	P	P
Catequinas	M/N	P	N
Depsídeos e depsidonas	P/P	N	P
Derivados benzoquinonas	N/N	N	N
Derivados da cumarina	N/P	N	P
Esteróides e triterpenóides	P/N	P	N
Flavonóides	M/N	M	N
Glicosídeos cardíacos	M/N	M	N
Lactonas	P/N	P	N
Polissacarídeos	N/N	N	N
Proteínas e aminoácidos	P/N	P	P
Purinas	P/P	P	N
Saponina espumílica	P/P	P	P
Taninos	P/P	P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

TABELA 67 - Continuação ...

Nome vulgar	Caamembeca	Sucuriju	Pariri
Nome científico	<i>Polygala spectabilis</i> D.C.	<i>Mikania humilifolia</i> D.C.	<i>Arrabidaea chica</i> Verlot.
Família	Polygalaceae	Compositae	Bignoniaceae
Parte usada	Raiz	Folha	Folha
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P	P	P
Açúcares redutores	P	N	P
Alcalóides	N	P	P
Antraquinonas	N	N	P
Azulenos	N	N	N
Carotenóides	N	N	P
Catequinas	N	M	N
Depsídeos e depsidonas	P	P	P
Derivados benzoquinonas	N	M	M
Derivados da cumarina	P	N	N
Esteróides e triterpenóides	N	N	P
Flavonóides	N	M	M
Glicosídeos cardíacos	N	M	N
Lactonas	N	M	P
Polissacarídeos	N	N	N
Proteínas e aminoácidos	N	P	P
Purinas	N	N	P
Saponina espumílica	P	P	P
Taninos	N	P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

**TABELA 67 - Continuação ...**

Nome vulgar	Açaí	Pata-de-vaca	Canarana com pelo
Nome científico	<i>Euterpe oleracea</i> Mart	<i>Bauhinia</i> sp.	<i>Costus spicatus</i> (Jacq. SW)
Família	Palmae	Leguminosa-Caesalpinoideae	Zingiberaceae
Parte usada	Caroço	Folha	Folha
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P	N	P
Açúcares redutores	P	P	P
Alcalóides	N	N	N
Antraquinonas	M	N	N
Azulenos	N	N	N
Carotenóides	N	P	P
Catequinas	M	P	N
Depsídeos e depsidonas	P	N	P
Derivados benzoquinonas	N	N	N
Derivados da cumarina	P	N	N
Esteróides e triterpenóides	N	P	P
Flavonóides	M	N	N
Glicosídeos cardíacos	N	N	N
Lactonas	P	M	N
Polissacarídeos	N	P	N
Proteínas e aminoácidos	P	P	P
Purinas	M	P	N
Saponina espumílica	P	P	P
Taninos	P	P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

TABELA 67 - Continuação ...

Nome vulgar	Canarana sem pelo	Erva Balieira	Inajá
Nome científico	<i>Costus spiralis</i> Rosc.	<i>Cordia verbenacea</i> D.C.	<i>Maximiliana maripa</i> (C. Serra) Drude
Família	Zingiberaceae	Compositae	Palmae
Parte usada	Folha	Folha	Casca do fruto
Teste/resultado			
Ácidos orgânicos	P	N	N
Açúcares redutores	P	P	P
Alcalóides	N	N	N
Antraquinonas	N	N	N
Azulenos	P	N	N
Carotenóides	P	P	N
Catequinas	N	N	P
Depsídeos e depsidonas	N	P	N
Derivados benzoquinonas	N	N	P
Derivados da cumarina	N	N	P
Esteróides e triterpenóides	P	P	P
Flavonóides	N	N	P
Glicosídeos cardíacos	N	N	N
Lactonas	N	N	N
Polissacarídeos	N	N	N
Proteínas e aminoácidos	P	P	P
Purinas	N	N	N
Saponina espumílica	P	P	P
Taninos	N	P	P

P = positivo; N = negativo; M = mascarado

Continua ...

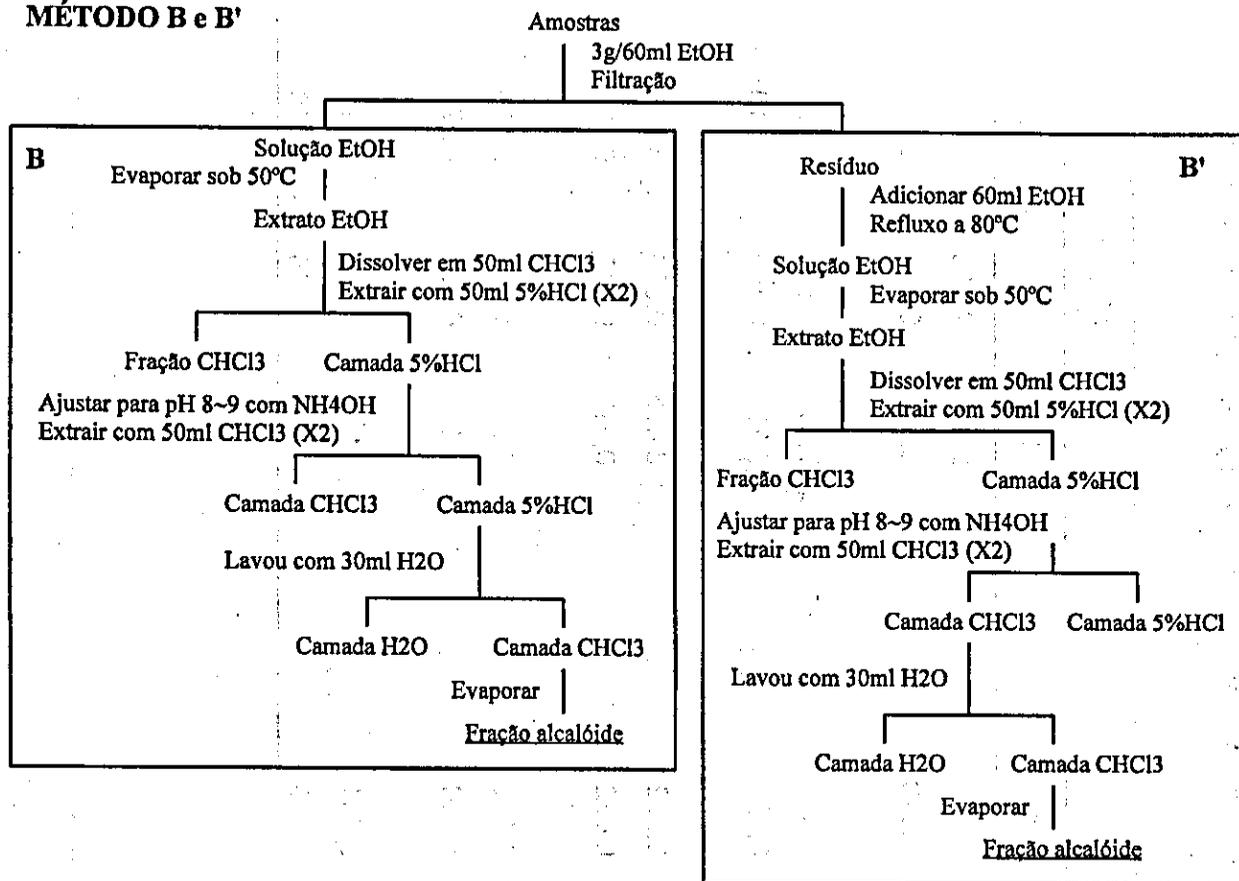
Foram iniciadas as análises para determinação de pilocarpina em duas amostras secas de jaborandi - L<sub>1</sub>N<sub>1</sub> e L<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, separadas em caule e folhas, trituradas em moinho de facas e divididas em duas partes. Cada parte foi submetida a extrações diferenciadas (contínua e descontínua), usando metanol como solvente, para eleger o melhor método de processamento. As soluções metanólicas foram concentradas em evaporador rotativo até à secura, pesadas e submetida a uma seqüência de operações específicas para o isolamento de alcalóides. Uma parte do extrato alcalóidico foi utilizada para o isolamento e purificação da pilocarpina, quando então foram discutidos os métodos cromatográficos.

Com os resultados obtidos ficou estabelecido que a pilocarpina encontrava-se exclusivamente nas folhas do vegetal, podendo-se, portanto, descartar o caule. Utilizando-se a técnica de cromatografia em coluna de sílica gel isolou-se certa quantidade de alcalóide com grau de pureza superior a 95%, porém este método foi muito demorado e oneroso.

A pilocarpina de cinco amostras de jaborandi, enumeradas, segundo o local de procedência, de 1 a 5 (1 - Lado esquerdo do cano C.C.M.; 2 - Fazenda Água Azul, folha; 3 - Novo Breu Branco, Sítio do Japonês; 4 - Fazenda Mafsa; e 5 - Sítio do Sr. Wilson Açaizal 62, margem do rio Caiari) foi extraída de acordo com os métodos B - C', (Fig. 100), e analisada por HPLC, (Tabela 68). A extração pelos métodos C, C' foi pelo menos três vezes mais eficiente que os métodos B, B'. Essas metodologias não demonstraram boa eficiência na extração de pilocarpina, e não devem ser recomendadas para análise de rotina, por causa dos complicados procedimentos.

Na tentativa de se obter nova metodologia, com solução tampão de fosfato, foi utilizada a amostra 5. Foram pesadas amostras, em triplicata, que variaram de 10mg a 60mg, adicionado 5ml da solução de fosfato, e agitado de cinco a 20 minutos (Tabela 69), filtrado em membrana de 0,45 µm e injetado 10µl em HPLC para determinação de percentual de pilocarpina (Tabela 70). A análise estatística desses dados é mostrada na Tabela 71.

### MÉTODO B e B'



### MÉTODO C e C'

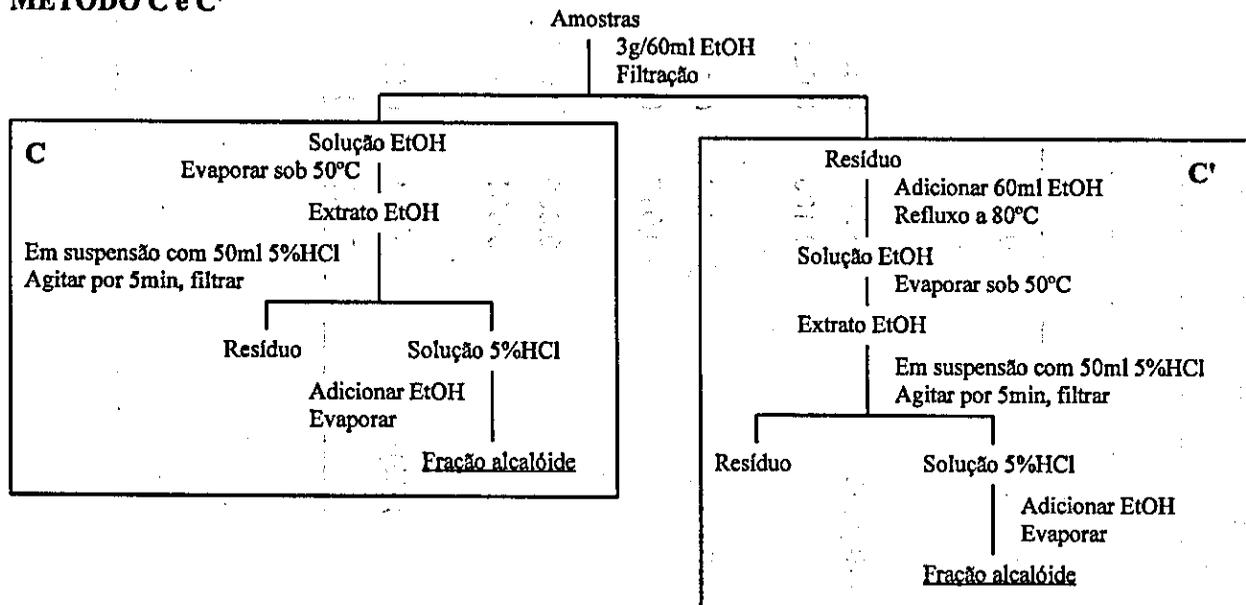


FIG. 100 - Métodos de extração de pilocarpina de jaborandi.

**TABELA 68 - Percentagem de pilocarpina em cinco amostras de jaborandi, correspondentes às procedências de 1 a 5.**

Nº de amostra	Método			Método		
	B	B'	Total	C	C'	Total
1 - ( $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ ) (%)	0,305	0,002	0,307	2,844	2,138	4,982
	0,010	-	0,010	0,095	0,071	0,166
2 - ( $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ ) (%)	3,248	0,636	3,884	7,913	4,538	12,451
	0,108	0,021	0,129	0,260	0,150	0,410
3 - ( $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ ) (%)	0,492	0,480	0,972	3,478	0,386	3,864
	0,016	0,016	0,032	0,016	0,013	0,129
4 - ( $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ ) (%)	0,030	0,002	0,032	4,314	1,021	5,335
	0,001	-	0,001	0,144	0,034	0,178
5 - ( $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ ) (%)	5,541	0,020	5,561	11,858	1,954	13,812
	0,185	0,001	0,186	0,395	0,065	0,460

**TABELA 69 - Diferentes pesos de jaborandi, em mg, das procedências de 1 a 5, e os tempos de agitação para determinar as melhores condições de extração da poliacarpina.**

Massa (mg)	Tempo de agitação (min)	⊙	⊗	⊗
10	5	10,5	10,2	10,6
	7,5	10,6	10,3	10,1
	10	10,3	10,9	10,5
	15	10,1	10,1	10,1
	20	10,1	10,2	10,1
20	5	20,3	20,2	20,2
	7,5	20,3	20,2	20,2
	10	20,2	20,1	20,0
	15	20,1	20,4	20,3
	20	20,7	20,8	20,4
30	5	30,2	30,1	30,2
	7,5	30,2	30,3	30,1
	10	30,0	30,3	30,0
	15	30,2	30,1	30,3
	20	30,3	30,4	30,1
40	5	40,6	40,0	40,0
	7,5	40,4	40,0	40,3
	10	40,2	40,2	40,2
	15	40,2	40,0	40,2
	20	40,0	40,2	40,0
50	5	50,4	50,2	50,2
	7,5	50,2	50,2	50,0
	10	50,4	50,0	50,1
	15	50,2	50,0	50,6
	20	50,8	50,8	50,3
60	5	60,3	60,1	60,0
	7,5	60,7	60,2	60,0
	10	60,2	60,7	60,8
	15	60,3	60,2	60,5
	20	60,4	60,4	60,1

min = minutos; ⊙, ⊗, ⊗ = peso em mg de amostras de jaborandi.

**TABELA 70 - Percentagem de pilocarpina em jaborandi, em cinco amostras correspondentes às procedências de 1 a 5, em diferentes condições de extração.**

Massa (mg)	Tempo de agitação (min)					Média
	①	②	③	④	⑤	
10	5	0.880	0.918	0.898	0.899	0.899
	7.5	0.908	0.876	0.857	0.880	0.880
	10	0.963	0.950	0.930	0.948	0.948
	15	0.896	0.841	0.871	0.869	0.869
	20	0.938	0.930	0.914	0.927	0.927
20	5	0.965	0.964	0.964	0.964	0.964
	7.5	1.038	0.966	0.987	0.997	0.997
	10	1.005	1.046	0.995	1.015	1.015
	15	0.934	0.915	0.928	0.926	0.926
	20	0.891	0.908	0.905	0.901	0.901
30	5	0.960	0.966	0.950	0.959	0.959
	7.5	0.952	0.968	0.958	0.959	0.959
	10	1.014	0.999	0.994	1.002	1.002
	15	1.038	1.026	1.025	1.030	1.030
	20	0.931	0.936	0.944	0.937	0.937
40	5	0.905	0.901	0.945	0.917	0.917
	7.5	0.953	0.927	0.969	0.950	0.950
	10	0.937	0.959	0.931	0.942	0.942
	15	0.976	0.948	0.937	0.954	0.954
	20	0.936	0.979	0.982	0.966	0.966
50	5	1.010	1.027	1.064	1.034	1.034
	7.5	1.048	1.024	0.993	1.022	1.022
	10	1.056	1.113	1.106	1.092	1.092
	15	1.004	1.040	0.968	1.004	1.004
	20	0.989	1.003	1.028	1.006	1.006
60	5	0.984	0.989	0.977	0.983	0.983
	7.5	0.979	0.964	0.972	0.972	0.972
	10	1.009	1.025	1.014	1.016	1.016
	15	0.984	0.984	1.007	0.992	0.992
	20	0.997	1.029	0.959	0.995	0.995

min = minuto; ①, ②, ③ = repetição de cada amostra.

**TABELA 71 - Análise estatística dos resultados da determinação de pilocarpina em amostras de jaborandi.**

Descrição das variáveis e fatores do modelo							
Fatores	# Níveis	Níveis					
pa	6	10	20	30	40	50	60
ta	5	5	7.5	10	15	20	

pa = peso da amostra; ta = tempo de agitação; pp = percentagem de pilocarpina.

Variável dependente: pp  
 Número de observações lidas: 90  
 Número de observações utilizadas: 90  
 Média: 0,96858889  
 Raiz Quadrada Qmres.: 0,02072599  
 Coeficiente de Variação: 2,13981291

**Comparação de médias para pesos de amostras <sup>a</sup>**

pa	n	pp	grupo
50	15	1.031533	a
60	15	0.991533	b
30	15	0.977400	b c
20	15	0.960733	c d
40	15	0.945667	d
10	15	0.904667	e

pa = peso da amostra; n = número de repetições; pp = percentagem de pilocarpina.

Teste "Tukey" para a variável: "pp."

g.l = 60      qme = 0.0004      alfa = 0.05

Médias ligadas com uma mesma letra não são significativamente diferentes.

## Comparação de médias para pesos de amostras <sup>b</sup>

ta	n	pp	grupo
10	18	1.002556	a
7.5	18	0.963278	b
15	18	0.962333	b
5	18	0.959278	b
20	18	0.955500	b

ta = tempo de agitação; n = número de repetições; pp = percentagem de pilocarpina.

Teste "Tukey" para a variável: "pp."

g.l = 60

qme = 0.0004

alfa = 0.05

Médias ligadas com uma mesma letra não são significativamente diferentes.

Pode-se concluir que as melhores condições de extração são 50 mg de peso e dez minutos de agitação, segundo as seguintes bases:

Condições do HPLC.

Instrumento: Shimadzu LC - 9 A system

SPD - 6AV (UV - VIS detector)

SCL - 6B (system controller)

C - R 4 A (Chromatopac)

Coluna: PEGASIL ODS 4,6mm  $\phi$  x 150mm

Fase móvel: Dissolver 50 g de fosfato monobásico de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) em 900 ml de água e 30 ml de metanol. Ajustar o pH da solução para 2,5 com ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 85%, completar o volume para 1.000ml com água.

Vazão: 1,5ml/minuto.

Temperatura da coluna: 40°C

Comprimento de onda: 216 nm

Análise quantitativa por HPLC

A partir da pilocarpina clorídrica ( $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$  MW = 244,7) da Wako Pure Chemical Industries, LTD, foi preparada a curva de calibração de soluções padrão contendo 1,469; 0,748; 0,374 µg de pilocarpina/10µl de metanol.

Para confirmar a eficácia da metodologia, foram feitos três experimentos no sentido de recuperar a pilocarpina.

No primeiro experimento foi escolhido o picão, *Bidens pilosa* L., Compositae, por não conter pilocarpina + solução fosfato. O segundo foi constituído de picão + solução fosfato + pilocarpina (50,3 µg/10µl). Do terceiro constou apenas a solução fosfato + pilocarpina. O percentual de recuperação pode ser considerado bom, com 97,8% e 99,2% para o segundo e o terceiro experimentos, respectivamente.

As quatro primeiras amostras (Tabela 67) foram analisadas pela nova metodologia, conforme resultados apresentados na Tabela 72. Analisando-se os dados da Tabela 69 com os da Tabela 71, conclui-se que a metodologia usada na solução de fosfato como extrator é mais eficiente.

**TABELA 72 - Percentagem de pilocarpina em quatro amostras de jaborandi.**

Amostra	①	②	③	Média
Local 3, lado esquerdo do cano C. C. M.	0.285	0.291	0.277	0.284
Fazenda Água Azul Folha	0.572	0.591	0.562	0.575
Novo Breu Branco Sítio Japonês	0.321	0.336	0.311	0.323
Fazenda Maisa	0.301	0.290	0.299	0.297

### **Experimento 3 - Estudos agrônômicos e fisiológicos de plantas medicinais nativas da Amazônia em processo de domesticação**

O extrativismo indiscriminado praticado nas regiões de ocorrência natural de plantas medicinais (e inseticidas) de interesse econômico, aliado ao acelerado desmatamento da Amazônia, sugere uma rápida ação de pesquisadores, visando ao estabelecimento de estudos que propiciem a domesticação dessas espécies e a consequente participação das mesmas no processo produtivo dos agricultores da região. Nesse sentido, a presente ação de pesquisa vem procurando estabelecer, através de estudos agrônômicos e fisiológicos, as bases para o cultivo racional da ipeca, jaborandi e da quina.

Os estudos agrônômicos e fisiológicos foram iniciados em 1992, com observações preliminares sobre o comportamento de plantas de ipeca quando submetidas a níveis de radiação, irrigação e fertilidade do solo, diferentes daqueles predominantes nas áreas de ocorrência natural.

A pouca disponibilidade de material botânico (dispunha-se apenas do material excedente das coletas de germoplasma) impediu o estabelecimento de ensaios que permitissem análises mais profundas e resultados conclusivos. Assim, foram instalados pequenos canteiros experimentais que possibilitaram apenas testar a hipótese de que é possível o cultivo racional da ipeca em sistemas simples com melhor aproveitamento de raízes, do que no sistema tradicional do sub-bosque.

Foi estabelecida a metodologia para a multiplicação de material botânico, via propagação *in vitro* e por enraizamento de segmentos radiculares. Foram realizadas comparações preliminares entre os teores de alcalóides de plantas mantidas em sub-bosque e plantas cultivadas racionalmente, não tendo sido registradas diferenças relevantes entre os dois casos.

Foram testados também métodos de irrigação para ipeca, revelando-se como mais apropriado o gotejamento planta a planta.

## Anatomia foliar

Alguns aspectos da anatomia foliar da ipeca são de extrema importância para subsidiar os estudos fisiológicos previstos no subprojeto, principalmente aqueles ligados ao comportamento estomático e à produtividade primária da mesma. Para tanto, utilizou-se material botânico proveniente do BAG de plantas medicinais do CPATU, cultivadas em sub-bosques, coletando-se folhas de plantas adultas em um mesmo estágio de desenvolvimento. De cada folha foram retiradas pequenas seções de diferentes regiões, com cerca de 0,5cm<sup>2</sup>, que foram usadas na preparação das lâminas

Pode-se observar na Tabela 73 o resultado quantitativo das estruturas avaliadas (média de dez folhas de diferentes plantas) quais sejam: tricomas, cutículas, células epidérmicas, parênquimas paliádico e lacunoso, nas epidermes abaxial e adaxial de ipeca.

As folhas de ipeca no seu habitat natural apresentam características anatômicas comuns às observadas nas plantas ombrófilas, representadas por cutículas pouco espessa, parênquima lacunoso com grandes espaços intercelulares e número de estômatos em média de 90/mm<sup>2</sup>. Os valores observados estão de acordo com os apresentados por Voltan, et al. (1992), que estudaram as características anatômicas do cafeeiro (família Rubiaceae como a ipeca), submetidos a diferentes níveis de radiação, constataram que as maiores densidades estomáticas ocorriam em plantas mais sombreadas.

Registrou-se também, a presença de células piriformes entre os parênquimas paliádico e lacunoso, que invadem a nervura central. O feixe vascular do mesófilo é circundado por uma bainha parenquimática sem conteúdo. Os feixes vasculares central e colateral apresentam no ápice e no meio das folhas, a forma de arco, enquanto que na base, apresentam as extremidades curvando-se para o centro.

A densidade estomática de plantas de ipeca a pleno sol e sob sombrite, com retenção de luz de 50 e 70 %, estão contidas na Tabela 74, onde estão expressas, também, as densidades de tricomas observadas em diferentes partes das folhas.

**TABELA 73 - Valores médios dos constituintes da estrutura anatômica de folhas de Ipeca.**

Identificação	CTEp ( $\mu\text{m}$ )		ECEp ( $\mu\text{m}$ )		ECEp ( $\mu\text{m}$ )		Eep ( $\mu\text{m}$ )		EPP ( $\mu\text{m}$ )		EPL ( $\mu\text{m}$ )	
	S	I	S	I	S	I	S	I	S	I	S	I
Ápice	130,9	128,0	0,60	0,52	30,7	35,4	30,7	35,4	31,9	31,9	91,0	91,0
Base	54,6	67,4	1,51	0,36	33,6	32,5	33,6	32,5	35,4	35,4	110,0	110,0
Margem	59,9	110,6	0,24	0,37	24,0	27,8	24,0	27,8	32,5	32,5	95,8	95,8
Meio	75,5	98,8	0,68	0,22	35,4	34,9	35,4	34,9	37,2	37,2	132,0	132,0

CTEp = Comprimento do tricoma da epiderme; ECEp = espessura da cutícula da epiderme; Eep = Espessura da epiderme; EPP = Espessura do parenquima paliádico; EPL = Espessura do parenquima Lacunoso; I = inferior; S = superior.

**TABELA 74 - Densidade estomática e de tricomas em folhas de ipeca, sob diferentes níveis de sombreamento.**

Tratamento	Estômato						Tricoma					
	AP	BA	MA	ME	INT	INT	AP	BA	MA	ME	INT	INT
Pleno sol	88,4	77,9	83,1	41,0	28,4	28,4	44,2	41,0	64,2	28,4	24,2	24,2
Sombrite 50%	93,7	67,4	94,7	115,8	61,0	61,0	57,9	43,1	64,2	64,2	58,9	58,9
Sombrite 70%	90,5	92,6	78,9	81,0	80,0	80,0	69,5	62,5	37,9	47,4	47,4	47,4

AP = ápice; BA = base; MA = margem; ME = meio; INT = intermediário.

A variação na densidade estomática ao longo da folha é influenciada pelo nível do sombreamento, o mesmo ocorrendo com a presença de tricomas. Todavia, percebeu-se uma clara tendência das maiores densidades ocorrentes nas plantas sombreadas, variando a posição geográfica de acordo com o nível de sombreamento. A consolidação dessas informações favorecerá os estudos de porometria que serão conduzidos nos ensaios de campo.

Enquanto os ensaios de campo estão sendo preparados, procurou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de radiação sobre o teor de emetina em plantas jovens de ipeca.

Foram colocadas por doze dias sob sombrite, com 50% e 70% de retenção de luz, e a pleno sol (cinco plantas em cada situação), quinze plantas, cultivadas durante três meses sob condições de sombreamento pleno.

O monitoramento da radiação fotossinteticamente ativa foi realizado com um Ceptômetro da Li-Cor, registrando-se os valores de acordo com a Tabela 75.

O resultado da análise dos teores de emetina nos tecidos radiculares estão expressos na Tabela 76.

**TABELA 75 - Radiação fotossinteticamente ativa em diferentes horas do dia, e diferentes condições de cultivo.**

Radiação fotossinteticamente ativa ( $\mu\text{mol.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )			
Condição	09:00 h	12:00 h	15:00h
Pleno sol	890	1250	690
Sombrite 50%	470	715	356
Sombrite 70%	217	325	128

**TABELA 76 - Teores de emetina em raízes de plantas de ipeca sombreadas e a pleno sol.**

Condição	Massa (mg)	Concentração (mg/ml)	(%)	Média
Pleno sol (1)	20,8	0,3476	0,8376	
Pleno sol (2)	20,4	0,3225	0,7904	0,8130
Sombrite 50% (1)	20,3	0,3167	0,7800	
Sombrite 50% (2)	20,2	0,2935	0,7265	0,7533
Sombrite 70% (1)	20,6	0,3644	0,8845	
Sombrite 70% (2)	20,9	0,3747	0,8964	0,8904

Os baixos teores de emetina registrados estão, provavelmente, relacionados com a idade das plantas (muito jovem), todavia as diferenças de concentração não evidenciaram o efeito dos diferentes níveis de radiação sobre a síntese do alcalóide.

Por se tratar de estudo preliminar, os resultados são úteis no sentido do exercício da metodologia, bem como proporcionam indicações concretas para o prosseguimento dos estudos sobre os efeitos da radiação na síntese dos alcalóides.

Com relação ao jaborandi, à semelhança do que aconteceu com a ipeca, foram observados, em ensaios preliminares, os efeitos de três diferentes níveis de radiação sobre o crescimento de mudas enviveiradas.

A despeito da pouca quantidade de plantas em observação, pode-se verificar melhor performance nas plantas submetidas a níveis intermediários de sombreamento (50% em relação a radiação externa).

Foram também iniciados os estudos de anatomia foliar que darão suporte aos estudos ecofisiológicos envolvendo, principalmente, as respostas a níveis diferentes de radiação e nutrição mineral, e seus reflexos sobre a síntese dos princípios ativos, utilizando-se a técnica de Gemaque et al. (1994).

A dissociação da epiderme de folhas de jaborandi cultivadas na sombra (radiação  $>100 \mu\text{E} \times \text{cm}^{-2} \times \text{s}^{-1}$ ) ocorreu em menor tempo do que aquelas crescidas a pleno sol (radiação entre 500 a  $1.200 \mu\text{E} \times \text{cm}^{-2} \times \text{s}^{-1}$ ) (Tabela 77).

A epiderme da face adaxial das folhas sombreadas exibiu células irregulares de paredes lisas e espessas. Na nervura central as células são alongadas, de paredes retas, lisas e espessas.

Na epiderme abaxial das folhas de sombra, as células mostraram-se irregulares, com paredes retas e espessas, com estômatos anomocíticos circundados por 5-7 células epidérmicas

No corte transversal, as folhas de sombra de jaborandi apresentaram cutícula espessa e estriada. O parênquima paliçádico é constituído por uma fileira de células alongadas. No mesófilo destacam-se grandes glândulas esquizolizigenas, produtoras de óleo essencial, principalmente perto da epiderme superior, conforme descrito por Metcalfe (1950). O parênquima lacunoso é frouxo e apresenta numerosas drusas de oxalato de cálcio, o que também ocorre no parênquima paliçádico. Os feixes vasculares apresentaram-se concêntricos, com fíbrios bastante espessos, especialmente na parte da nervura central.

Nas plantas de jaborandi submetidas à radiação mais intensa, observaram-se muitas similaridades anatômicas com as plantas sombreadas. As células da epiderme adaxial apresentaram-se irregulares, de paredes anticlinais lisas e espessas, com tricomas clariformes pluricelulares. Na nervura central, as células epidérmicas são alongadas de paredes retas, lisas e espessas, sendo que nessa área é que se concentram os tricomas.

O corte transversal mostrou como diferença das plantas de sombra, apenas o parênquima lacunoso, que apresenta menos espaços intercelulares do que aquelas submetidas à maior radiação.

**TABELA 77 - Densidade estomática e de tricomas, quantificadas em diferentes partes das folhas de jaborandi.**

Tratamento	Estômatos						Tricomas					
	Abaxial			Adaxial			Abaxial			Adaxial		
	AP	ME	BA	AP	ME	BA	AP	ME	BA	AP	ME	BA
Pleno sol	287,3	277,9	281,0	x	x	x	11,58	3,68	6,31	5,26	2,10	2,63
Sombra	x	x	x	211,6	177,9	207,9	x	x	x	x	x	x

AP = ápice; ME = meio; BA = base.

## **Relações hídricas**

O trabalho desenvolvido teve como objetivo analisar a tolerância ao calor e a resistência ao déficit hídrico de ipeca (*Cephaelis ipecacuanha*) e jaborandi (*Pilocarpus macrophyllus*).

Os ensaios começaram a ser realizados em meados de Agosto de 1994. Foram utilizados materiais da coleção de trabalho do CPATU sendo selecionadas plantas jovens e sadias cultivadas sob sombrite. Como parâmetro de avaliação utilizou-se o teor de clorofila a,b e total.

### **Teste de resistência ao calor**

Foram retirados discos foliares medindo 1cm de diâmetro, lavados e, posteriormente dispostos em placas de Petri (12 discos por placa) contendo água destilada. Paralelamente foram tomados quatro grupos similares que após secagem em estufa a 80°C por 24 horas, serviram para avaliação do peso de matéria seca.

Foram construídos três grupos de quatro placas cada, os quais foram submetidos respectivamente às temperaturas de 25,35 e 45°C, durante uma noite em incubador com ventilação forçada após o tratamento. Os conjuntos de discos foliares foram macerados com acetona a 80% e areia (para facilitar a maceração) centrifugados 2500 rpm por 15 min. e a clorofila no sobrenadante foi estimado espectrofotometricamente .

## Teste de tolerância ao déficit hídrico

A metodologia básica foi a mesma do ensaio anteriormente descrito, porém os discos foram dispostos sobre uma camada de papel de filtro com solução de polietileno glicol (PEG) 600, nas concentrações de 0, 5, 10, 15, 20, 25% (P/V) e incubados durante uma noite a 30°C.

Em seguida, os discos foram retirados, lavados com água destilada, seguindo-se a extração de clorofila como descrito anteriormente.

A extração de clorofila foi feita segundo ARNON\* (1949), avaliando-se a absorvância nos comprimentos de onda: 623, 645, 663 (nm). Os tubos com os extratos, foram protegidos com papel alumínio para evitar a degradação da clorofila.

Os teores de clorofila (mg de clorofila/g de matéria seca) foram calculados usando-se as equações abaixo:

$$\text{a) mg de clorofila } a / \text{ g de tecido} = [12,7(A_{663}) - 2,69(A_{645})] \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{b) mg de clorofila } b / \text{ g de tecido} = [22,9(A_{645}) - 4,68(A_{663})] \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{c) mg de clorofila total / g de tecido} = [20,2(A_{645}) - 8,02(A_{663})] \times V / (1000 \times W)$$

Para o teste de déficit hídrico, foi utilizado polietileno glicol (PEG 600) nas concentrações: 5, 10, 15, 20, 25% (P/V). Os potenciais osmóticos das soluções de PEG usadas foram medidos em um osmômetro Wescor modelo 1500 CXR, calibrado segundo uma curva padrão de NaCl a várias concentrações molais

---

\* ARNON, D.I. - Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24(1):1-15, 1949.

Os resultados mostraram que existem diferenças nos teores de clorofila das espécies estudadas, quando submetidas a diferentes temperaturas e concentrações de polietileno glicol ( PEG ), como pode ser observado nas tabelas abaixo.

### Teste de resistência ao déficit hídrico

#### Ipeca

Concentração de PEG (%)	Clorofila <sup>a</sup> (mg/g MS)	Clorofila <sup>b</sup> (mg/g MS)	Clorofila Total (mg/g MS)
0.0	8.07	3.87	10.68
5.0	7.10	2.70	8.86
10.0	7.33	3.01	9.16
15.0	7.93	3.60	10.31
20.0	8.20	4.17	11.14
25.0	7.56	3.27	9.62

PEG = Polietileno glicol; MS = matéria seca.

#### Jaborandi

Concentração de PEG (%)	Clorofila <sup>a</sup> (mg/g MS)	Clorofila <sup>b</sup> (mg/g MS)	Clorofila Total (mg/g MS)
0.0	2.67	0.82	3.14
5.0	2.95	1.10	3.56
10.0	3.04	0.87	3.65
15.0	2.60	0.85	3.03
20.0	2.44	0.76	2.88
25.0	2.24	0.65	2.65

PEG = Polietileno glicol; MS = matéria seca.

## Teste de resistência ao calor

### Ipeca (clorofila<sup>a</sup>)

TRAT(°C)	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	MÉDIA	Sd	CV (%)
25	13.682	13.770	16.915	16.525	15.223	1.736	11.41
35	15.966	17.281	13.188	15.834	15.567	1.715	11.02
45	16.228	15.825	12.088	13.533	14.419	1.955	13.56

R = Repetição; Sd = desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

### Ipeca (clorofila<sup>b</sup>)

TRAT(°C)	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	MÉDIA	Sd	CV (%)
25	0.587	0.576	0.866	0.798	0.707	0.147	20.85
35	0.744	0.875	0.585	0.728	0.733	0.119	16.18
45	0.808	0.731	0.498	0.658	0.674	0.132	19.62

R = Repetição; Sd = desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

### Ipeca (clorofila total)

TRAT(°C)	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	MÉDIA	Sd	CV (%)
25	17.422	17.375	23.021	21.988	19.952	2.978	14.93
35	20.959	23.426	16.526	20.682	20.398	2.861	14.03
45	21.849	20.704	15.163	18.055	18.943	2.979	15.73

R = Repetição; Sd = desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

### Jaborandi (clorofila<sup>a</sup>)

TRAT(°C)	RI	RII	RIII	RIV	MÉDIA	Sd	CV (%)
25	4.001	3.809	3.614	3.830	3.814	0.158	4.15
35	3.995	3.961	3.860	3.552	3.842	0.202	5.25
45	3.820	3.321	3.084	3.429	3.414	0.307	8.99

R = Repetição; Sd = desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

### Jaborandi (clorofila<sup>b</sup>)

TRAT(°C)	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	MÉDIA	Sd	CV (%)
25	0.177	0.161	0.135	0.156	0.157	0.017	11.02
35	0.182	0.177	0.161	0.132	0.163	0.023	13.82
45	0.162	0.122	0.113	0.132	0.132	0.021	16.10

R = Repetição; Sd = desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

### Jaborandi (clorofila total)

TRAT(°C)	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	MÉDIA	Sd	CV (%)
25	5.162	4.832	4.397	4.795	4.797	0.313	6.53
35	5.210	5.131	4.872	4.314	4.882	0.405	8.30
45	4.846	4.016	3.732	4.208	4.201	0.473	11.25

R = Repetição; Sd = desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

A exposição dos tecidos foliares das duas espécies à temperatura entre 35 e 45 °C provoca degradação principalmente da clorofila total.

O déficit hídrico isoladamente causou menor degradação das clorofilas nas duas espécies. É possível que esse efeito possa ser potencializado, se combinado com altas temperaturas, como ocorre de fato nas condições de campo.

### Caracterização de sintomas de deficiência e nutrição mineral

Os estudos de caracterização de sintomas de deficiência mineral em plantas de jaborandi foram desenvolvidos em casa-de-vegetação, utilizando-se mudas crescidas em vasos plásticos, tendo como substrato quartzo moído e nutridas com solução de Bulle - Jones completa e com exclusão dos macro e micronutrientes.

Os resultados mostraram os sintomas característicos das deficiências de macro e micronutrientes em plantas jovens de jaborandi, devendo os mesmos serem objeto de publicação específica.

A ação de pesquisa "Efeito de doses de NPK em mudas de jaborandi" teve início em fevereiro de 1995, tendo sido utilizadas mudas provenientes de propagação sexuada, com cerca de cinco meses de idade.

Como fonte de nutrientes foram empregados superfosfato simples, cloreto de potássio e uréia. O fósforo foi aplicado de uma única vez, na implantação do experimento, enquanto que as doses de nitrogênio e potássio foram parceladas em três aplicações, sendo a primeira juntamente com o fósforo e as restantes em intervalos de 45 dias. Os adubos foram aplicados em cobertura, pelo fato das mudas se encontrarem plantadas nos sacos, na ocasião da implantação do experimento. A primeira avaliação das variáveis - altura das plantas e contagem do número de folhas - foi realizada 30 dias após a implantação do experimento.

Deu-se prioridade ao aumento do estoque de material botânico e ao estabelecimento das coleções de trabalho que possam apoiar os experimentos de nutrição mineral e manejo de plantas, tanto que dispõem-se de mais ou menos 300 mudas de jaborandi enviveiradas.

### **Conclusões preliminares**

As coletas de ipeca cobriram as principais áreas de ocorrência natural da espécie, resultando numa significativa amostragem que representa a sua dispersão na amazônia brasileira.

As coletas de jaborandi foram prejudicadas pela indisponibilidade de recursos financeiros nas melhores épocas de produção de sementes, resultando na formação de um BAG contendo apenas a espécie *Pilocarpus microphyllus* Stapf.

Os melhores resultados de propagação da ipeca foram obtidos de forma assexuada, através do enraizamento de segmentos de rizomas ou caulículos subterrâneos. No caso do jaborandi, a propagação sexuada foi a forma mais eficiente.

Os estudos agrônômicos e fisiológicos estão em andamento, tendo-se obtido resultados preliminares básicos quanto à anatomia foliar comparada das espécies, comportamento estomático de plantas em diferentes níveis de radiação e exigências nutricionais de plantas jovens de ipeca e jaborandi.

Foram estabelecidas as coleções de trabalho de ipeca e jaborandi, que proporcionarão a disponibilidade de material botânico para o prosseguimento dos estudos agrônômicos e fisiológicos.

### **Difusão de tecnologia**

Os resultados da pesquisa foram divulgados através de cursos, palestras, seminários, painéis, informações à imprensa televisionada e escrita, visitas ao campo experimental, laboratórios e casas-de-vegetação, além de publicação de resultados preliminares em anais de congressos e revistas especializadas.