

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA COMPARATIVA ENTRE *Palicourea marcgravii* St. Hil e *P. crocea* (Sw.) J. A. Schultes (RUBIACEAE) em *Artemia salina* Leach**

---

Laudson Ferreira da Silva<sup>1</sup>, Luiz Carlos da Cunha<sup>2</sup>, José Realino de Paula<sup>2</sup>,  
Piero Giuseppe Delprete<sup>3</sup>

1. Professor do Instituto Federal de Goiás, Câmpus Itumbiara, Goiás – Brasil (laudsonfsilva@gmail.com).
2. Professor da Faculdade de Farmácia (NEPET-UFG) da Universidade Federal de Goiás, Goiânia - Brasil
3. Pesquisador do Herbário da Guiana Francesa (IRD), Caiena – Guiana Francesa

---

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

---

### RESUMO

*Palicourea* é um gênero da família Rubiaceae, com aproximadamente 200 espécies de árvores, arbustos e subarbustos presentes na América Tropical, com características tóxicas embora sem comprovação científica. Este trabalho objetivou determinar o grau de toxicidade de duas espécies do gênero *Palicourea* em microcrustáceos (*Artemia salina*), desenvolvendo assim um método de identificação das espécies, já que ambas são bastante similares. A espécie mais tóxica do gênero é a *Palicourea marcgravii*, um arbusto de ampla distribuição no Brasil, e que desperta grande interesse pecuário, por ser a principal causa de mortes bovinas por intoxicação no país. Outras espécies, consideradas tóxicas por serem morfologicamente similares a *P. marcgravii* são *P. crocea*, *P. officinalis* e *P. australis*. A *P. crocea* é um arbusto, assim como a *P. marcgravi*, encontrada no interior de mata galeria na região de cerrado brasileiro. Alguns autores tratam *P. marcgravii* e *P. crocea* como espécies distintas, e outros como sinônimos, causando considerável confusão na literatura especializada. No presente trabalho, foram realizados testes toxicológicos comparativos de concentração letal mediana (CL50), *A. salina*, a partir dos extratos etanólicos das espécies estudadas. No teste de toxicidade a *P. marcgravii* apresentou CL50±EPM de 87,54±1,6 µg/mL, enquanto que a *P. crocea* apresentou CL50±EPM de 404,01±2,6 µg/mL. Baseando nesses valores, conclui-se que das duas espécies estudadas, a *P. marcgravii* é uma espécie altamente tóxica para microcrustáceos, enquanto que a *P. crocea* apresenta somente uma moderada toxicidade e poderia ser considerada como não tóxicas nos animais testados.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Palicourea*, Rubiaceae, toxicidade, microcrustáceos, *Artemia salina*.

### COMPARATIVE TOXICOLOGICAL EVALUATION BETWEEN *Palicourea marcgravii* St. Hil e *P. crocea* (Sw.) J. A. Schultes (RUBIACEAE) IN MICROCRUSTACEANS

## ABSTRACT

*Palicourea* is a genus of the family Rubiaceae, with approximately 200 species of trees, shrubs and subshrubs distributed throughout Tropical America, with toxic characteristics though scientifically unproven. This work aimed to determine the degree of toxicity of two species in the genus *Palicourea* in microcrustaceans (*Artemia salina*), thus developing a method for identifying the species, since both are quite similar. The most toxic species of the genus is *Palicourea marcgravii*, a shrub widely distributed throughout Brazil, that attract considerable attention in the cow-raising industry for being the principal cause of death of cows in the country. Other species, considered to be toxic for being morphologically similar to *P. marcgravii* are *P. crocea*, *P. officinalis* and *P. australis*. The *P. crocea* is a shrub, as well as *P. marcgravii*, found inside a gallery forest in the cerrado region of Brazil. Some authors treat *P. marcgravii* and *P. crocea* as distinct species and others as synonyms, causing considerable confusion in the specialized literature. In the present work, were realized an comparative drug tests of median lethal concentration (LC50) of ethanolic extracts were realized in *A. salina*. In the toxicity tests *P. marcgravii* presented a LC50±EPM of 87,54±1,6 mcg/mL, while *P. crocea* presented a LC50±EPM of 404,01±2,6 mcg/mL. Based on these results, it conclude that out of the two species studied, *P. marcgravii* is the species highly toxic in microcrustaceans, while the *P. crocea* presented only a slight toxicity and could be safely considered as non-toxic in the tested animals.

Key Words: *Palicourea*, Rubiaceae, toxicity, microcrustaceans, *Artemia salina*.

## INTRODUÇÃO

A família Rubiaceae é a quarta maior família das angiospermas, compreende cerca de 650 gêneros e aproximadamente 13.000 espécies, e no Brasil é representada por cerca de 110 gêneros e 1.600 espécies, sendo assim de distribuição geográfica e representação ecológica muito importante neste país (DELPRETE, 2004). Apesar da grande diversidade desta, são poucos os dados sobre a toxicidade e anatomia de plantas que integram esta família (PEREIRA et al., 2003).

Dentro da família Rubiaceae, o gênero que mais se destaca por agrupar várias espécies tóxicas, é a *Palicourea*. Esse gênero foi descrito por AUBLET (1775), baseado sobre a espécie-tipo *Palicourea guianensis*.

Na atualidade a *Palicourea* conta com aproximadamente 200 espécies de arbustos e pequenas árvores, distribuídas desde o México até o nordeste da Argentina (TAYLOR, 1997 e KOSCHNITZKE et al., 2009). Entre as espécies tóxicas desse gênero, a mais conhecida é a *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Figura 1), despertando grande interesse no cenário pecuário brasileiro, pois sua ingestão representa a terceira causa mais comum de morte em bovinos, perdendo apenas para o botulismo e raiva no Brasil (BARBOSA, 2004).

Estima-se que 5% do rebanho bovino brasileiro morre anualmente em decorrência de intoxicação proveniente da ingestão de plantas tóxicas, então para um rebanho de aproximadamente 160 milhões de cabeças, chega-se a um total de perdas de 800.000 a 1.120.000 (RIET-CORREA & MEDEIROS, 2001; GAGNIN & MARAVALTHAS, 1969 e LORENZI, 2008).

De acordo com TOKARNIA et al. (2000) e GONZAGA et al. (2008), esta espécie além de apresentar alta toxicidade e efeito cumulativo, possui outras

características que a torna tão importante, como sua extensa distribuição geográfica e boa palatabilidade entre os animais.

A ingestão da *P. marcgravii* é a terceira causa mais comum de morte em bovinos, perdendo apenas para o botulismo e para a raiva no Brasil (BARBOSA 2004). Esta espécie possui um efeito altamente tóxico para várias espécies animais, contudo a principal espécie animal afetada, sob condições naturais, é a bovina (TOKARNIA et al., 1993). KISSMAN & GROTH (2000), revelam ainda que mesmo com pasto farto, a planta é bastante apetecida pelo gado, sendo assim consumida. Além dos bovinos, os ovinos, caprinos e equinos, também são sensíveis ao efeito tóxico da planta.

*P. marcgravii* pertence ao grupo das plantas que causam “morte súbita”, isto é, uma intoxicação que se caracteriza por evolução geralmente superaguda. Para bovinos geralmente é de 1 a 10 minutos, no máximo até 85 minutos; nos casos de ingestão diária de frações da dose letal, a evolução pode ser mais longa, até muitas horas (TOKARNIA & DÖBEREINER, 1986).



**FIGURA 1.** Fotos do hábito de vida da *Palicourea marcgravii* e inflorescência com detalhe na corola (SILVA , 2005).

Outras espécies, consideradas tóxicas por serem morfologicamente similares a *P. marcgravii* são, *P. crocea*, *P. officinalis* e *P. australis*. Segundo, ANDRADE et al. (1968), PEIXOTO et al. (1987), PEREIRA et al. (2003), TOKARNIA et al. (1979 e 2000) e AFONSO & POTT (2001), não consideram tóxica a *P. crocea*, já KISSMAN (2000) e LORENZI (2008), consideram-na tóxica. Já outros autores que não fazem distinção desta espécie com a *P. marcgravii*, em decorrência do alto grau de similitude, considerando-as assim como tóxicas (CONSOLARO et al., 2009). A *P. crocea* (Figura 2) é um arbusto de médio para grande porte, encontrada desde a região sul do México, se estendendo pela América Central e na América do Sul, até a região sul do Brasil e Paraguai (FRANCIS, 2004).



**FIGURA 2.** Fotos do hábito de vida da *Palicourea crocea* e inflorescência com detalhe na corola (SILVA , 2005).

Além da *P. marcgravii*, TOKARNIA et al. (1979), apresentam outras duas espécies do gênero que também são tóxicas e que se encontram na Amazônia, são elas: a *P. grandiflora* (Kunth) Standl. e *P. juruana* K. Krause. A *P. marcgravii* no Brasil é bastante conhecida pelos termos populares: “erva-de-rato”, “erva-de-rato-domato”, “erva-café”, “café-bravo”, “cafezinho”, “erva-de-rato-verdadeira”, “erva-de-rato-de-são-paulo”, “erva-de-rato-da-mata”, “timbó”, “erva-de-gado”, “vick”. Sendo este último resultado do aroma exalado ao amassar as folhas, pois libera uma substância volátil (similar a silicilato de metila), a qual acredita ser o responsável pelo envenenamento dos animais. Apesar de tantos nomes TOKARNIA et al. (2000), ressaltam que tais nomes devem ser empregados com cautela, pois a maioria desses também pode ser aplicada a outras plantas, devido ao fato que muitas outras rubiáceas tem aspeto similar à *P. marcgravii* e por isso acidentalmente as consideram também tóxicas.

Através de levantamento bibliográfico pode-se constatar que a *P. marcgravii* apresenta maior riqueza de informações dentre as demais do mesmo gênero, já que constitui praticamente a única espécie desse grupo estudada com profundidade. As demais espécies do gênero possuem informações um pouco confusas, não dando lugar a conclusões definitivas (HOENE, 1939; TOKARNIA & DÖBEREINER, 1986; TOKARNIA et al., 1993; BLANCO et al., 2004; DELPRETE, 2004).

Acredita-se que parte dessas confusões e contradições tenha origem na coleta e determinação do material botânico, ou ainda devido a grande semelhança entre as várias espécies pertencentes a esse gênero (TOKARNIA et al., 1979; LORENZI 2000; DELPRETE, 2004).

Como o efeito tóxico da *P. marcgravii* St. Hil. é comprovado experimentalmente para várias espécies animais, algumas espécies deste gênero e de outros gêneros afins, devido a similitude existente entre as plantas, acabam sendo consideradas como a mesma espécie e conseqüentemente adquirem a fama de tóxicas, sem que

testes experimentais tenham sido realizados (TOKARNIA et al., 1979; TOKARNIA & DÖBEREINER, 1986; TOKARNIA et al., 1986; TOKARNIA et al., 1991; TOKARNIA et al., 1993; RIZZINI & MORS, 1995; TOKARNIA et al., 2000; PEREIRA, 2003; BLANCO et al., 2004; TOKARNIA et al., 2012).

Portanto, há necessidade de estudos morfológicos, anatômicos e toxicológicos que visem identificar e caracterizar essas espécies. Com esse objetivo realizou-se testes toxicológicos com a *P. marcgravii* e a *P. crocea*, visando evidenciar suas ações tóxicas e esclarecer a partir desse critério se são integrantes da mesma espécie ou de espécies diferentes.

## MATERIAL E METODOS

Para os testes de toxicologia aguda foram utilizadas larvas náuplios de um microcrustáceo da espécie *Artemia salina* Leach, pertencente a classe Anostraca. Para dosagem do nível de toxicidade das plantas estudadas realizou-se o teste de letalidade, do referido microcrustáceo, submetido à diferentes concentrações do extrato etanólico vegetal, a partir do qual foi possível estimar a Concentração Letal Mediana (CL50).

A presente pesquisa foi realizada no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás - UFG, durante o primeiro semestre do ano de 2012.

### Animais utilizados nos testes

A *A. salina* é um microcrustáceo de água salgada, utilizado como alimento vivo para peixes, sendo que seus ovos são facilmente encontrados em lojas de aquaristas. A simplicidade do bioensaio de toxicidade sobre *A. salina* (TAS) favorece sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido no próprio laboratório de fitoquímica, dispensando dessa forma o cadastro do projeto junto ao comitê de ética.

### Locais de coleta do material botânico

#### a. *Palicourea marcgravii* St. Hil

GOIÁS: Corumbá de Goiás: rod. BR-414, logo depois do Km 381, Sociedade Evangélica de Anápolis, Córrego Taquari, que deságua no Rio Corumbá. Floresta de galeria aos lados do córrego. Solo rico em matéria orgânica. Arbusto de 1,5-2m com folhas papiráceas, com venas brancas. Corola pubescente, com tubo amarelo e parte distal lilás; ráquis alaranjado-escuro. Crescendo em sombra da mata, P.G.Delprete & L.F.Sivla 9156 (16.12.2004) UFG.

#### b. *Palicourea marcgravii* St. Hil

GOIÁS: COCALZINHO: rod. BR-414, Km 372, Fazenda Quatro Barras, Córrego Taquaral, que deságua no Rio Corumbá. Lado direito no sentido para Niquelândia. Mata de galeria ao lado do córrego, perto de uma lagoa. Solo rico em substância orgânica. Arbustos de 1-2,5m de altura. Folhas papiráceas, verdes claras, com venas amarelas claras. Raquis da inflorescência vermelho-vináceo, pubescente. Corola com tubo amarelo, distalmente lilás-rosado, P.G.Delprete & L.F.Silva 9162 (16.12.2004) UFG.

#### c. *Palicourea crocea* (Sw.) J. A. Schultes

GOIÁS: CORUMBÁ DE GOIÁS: rod. BR-414, ponte sobre o Rio Corumbá. Mata de galeria aos lados do rio. Solo rico em substância orgânica. Arbusto de 1,5-2m de altura, folhas papiráceas, com venas brancas. Corolas glabras, com tubo amarelo e parte distal alaranjado. Raquis basalmente verde escuro e distalmente

alaranjado. Crescendo na sombra da mata, P.G.Delprete & L.F.Silva 9159 (16.12.2004) UFG.

d. *Palicourea crocea* (Sw.) J. A. Schultes

GOIÁS: GOIÂNIA (GO): setor Goiânia 2, Ribeirão João Leite, 500m antes do encontro com o Rio Meia Ponte. Vegetação secundária muito perturbada, na beira do Ribeirão João Leite. Arbustos de 50-150cm de altura, pouco ramificados. Folhas papiráceas, venas brancas-amarelas. Raquis da inflorescência basalmente vermelho-vináceo e distalmente alaranjado. Corola glabra, laranja claro. Crescendo em lugares ensolarados, com solo rico em substância orgânica, P.G.Delprete & L.F.Silva 9178 (18.12.2004) UFG.

### Metodologia de preparo do extrato etanólico

Preconizou-se o método de extração do tipo alcoólica, para a formulação do extrato a partir do pó da planta obtido das folhas que foram moídas. Assim, para cada 100g de pó foram acrescentados 500 mL de álcool etílico (95%), em um recipiente de vidro. Em seguida, esse recipiente foi colocado em um agitador por cerca de 4 horas. Passado esse período, o conteúdo do recipiente foi filtrado e o líquido obtido, encaminhado a um rotavapor (Tecnal), em que se ajustou uma temperatura de 40°C, com a finalidade de retirar o álcool da solução. Foram utilizados um total de 200 g de pó para a formulação de cada extrato de planta e o processo de agitação e rotaevaporação, foi repetido quatro vezes até obtenção final do extrato (Figura 3).

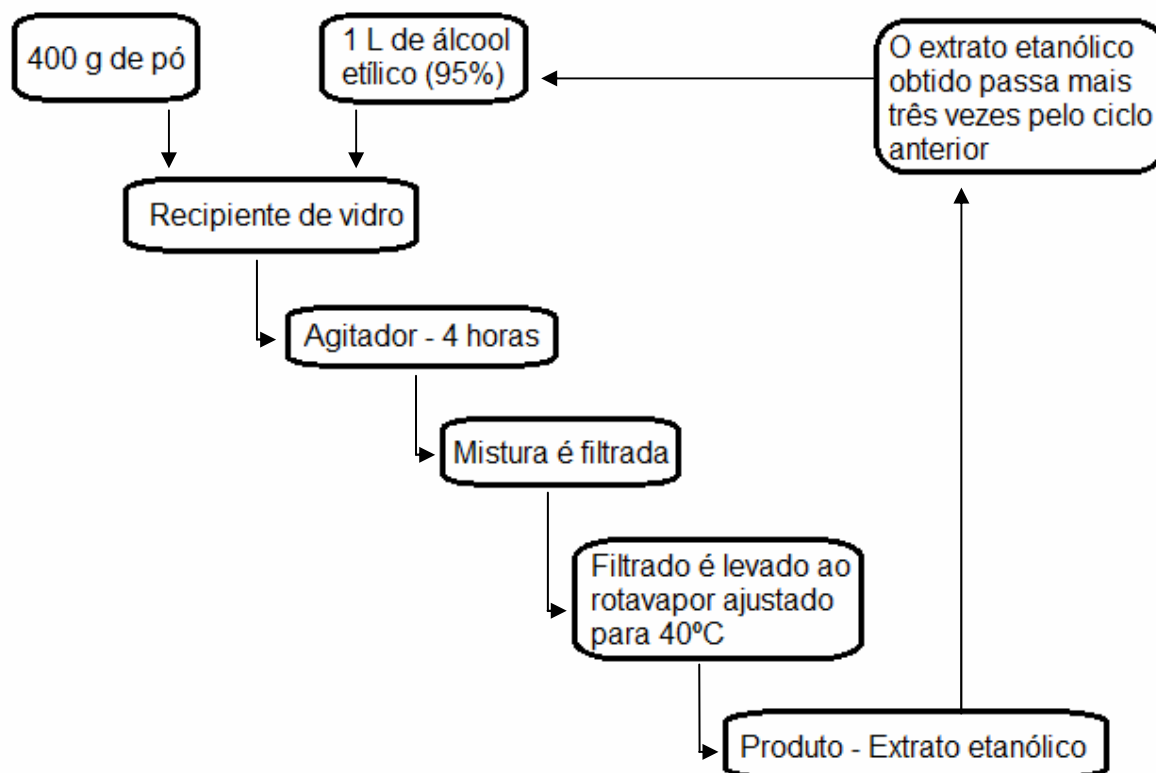


FIGURA 3. Etapas de formulação do extrato etanólico das plantas.

### Metodologia aplicada ao teste de toxicidade aguda em *A. salina*

Após a formulação do extrato etanólico os ovos do microcrustáceo foram preparados para eclosão. Para isso, elaborou-se uma solução salina de concentração 38 g de sal marinho por 1 L de água destilada, a uma temperatura de

28°C, mantida sob lâmpada incandescente (40 W). Após 24 horas, a maioria dos ovos eclodem, podendo assim as larvas serem utilizadas no bioensaio.

Foram submetidos no bioensaio extratos de folhas de *P. marcgravii* e *P. crocea*. Para cada teste foi utilizado uma solução composta por 120 mg do extrato da planta a ser testada, 400 µl de dimetilsulfóxido (DMSO) e 10 mL de solução salina.

O objetivo da utilização do DMSO foi solubilizar os respectivos extratos, sabendo que na proporção acima citada, tal não interfere nos resultados, conforme controle paralelo.

O experimento foi dividido em nove grupos, cada um com cinco tubos de ensaio e cada tubo contendo dez larvas do microcrustáceo, sendo que cada experimento foi realizado em quintuplicada. Nos tubos, inicialmente, foram colocados 1,5 mL de solução salina a 28° C e, em seguida, dez larvas. Do primeiro ao oitavo grupo foram inseridas as seguintes quantidades das soluções testes: 5µl, 10µl, 25µl, 50µl, 100µl, 125µl, 200µl, e 250µl, sendo o 9º grupo o controle, em que se colocou apenas 250µl da solução controle (10mL salina e 400 µl de DMSO).

Cada quantidade acima introduzida no tubo refere-se respectivamente as seguintes concentrações (µg/mL): 10, 20, 50, 100, 200, 250, 400 e 500. (McLAUGHLIN et al.,1995).

Após a introdução das soluções testes, os tubos foram acrescidos com solução salina até atingir o volume de 5 mL e mantidos à temperatura de 28° C, sob luz incandescente durante 24 h. Após o término desse período, as larvas mortas foram contadas.

Ao final, os valores de larvas mortas das cinco repetições para cada dose teste foram anotados para obtenção de uma média aritmética. De posse de tais médias, essas foram utilizadas para determinar o valor da concentração letal mediana (CL50), através do método estatístico de regressão linear e transformação da letalidade em probitos.

### **Método estatístico**

O valor da concentração letal mediana (CL50) apresentado na forma de média  $\pm$  EPM foi determinado através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977), utilizando o software Probitos®.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Muitos laboratórios de produtos naturais têm inserido dentro de suas rotinas de isolamento, purificação e elucidação estrutural, um ensaio biológico simples de toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS), com o objetivo de selecionar e monitorar o estudo fitoquímico de extratos de plantas, na procura de substâncias tóxicas. Este bioensaio se caracteriza por ser de baixo custo, rápido e não exigir técnicas assépticas. A partir desse bioensaio inúmeros princípios ativos ou não, têm sido isolados e testados a partir de extratos vegetais.

Estudos fitoquímicos, juntamente com ensaios biológicos, podem identificar extratos, frações ou substâncias que produzem efeitos tóxicos e/ou terapêuticos (CARVALHO et al., 2009).

Diversos trabalhos tentam correlacionar a toxicidade sobre *A. salina* com atividades como antifúngica, viruscida, antimicrobiana, parasiticida, tripanossomicida e também como avaliação prévia de atividade antitumoral citotóxica de extratos de

plantas. As frações ou substâncias ativas são posteriormente testadas em diferentes culturas de células tumorais, obtendo-se uma boa correlação (SIQUEIRA, 1998).

Dessa forma, a partir dos valores obtidos da contagem de larvas mortas, foi determinado o valor da concentração letal mediana (CL50), através do método estatístico de regressão linear e transformação de letalidade em probitos para as duas espécies estudadas (Tabelas 1e 2).

O extrato etanólico de *P. marcgravii* apresentou elevada toxicidade para as larvas de microcrustáceos com CL50 testada de 63,2±1,41 µg/mL (IC95% 32.26 – 124.12 µg/mL) (Tabela 1).

Como pode ser observado na Tabela 2, não houve resultados diferenciais expressivos a serem considerados entre as médias de mortes dos Grupos tratamento 1, 2, 3 e 4. Assim, para estimar o valor de CL50, foram desconsiderados os valores repetidos, resultando dessa forma em CL50 estimada em 404,01±2,6 µg/mL (IC95% 167.292430 – 975.687769 µg/mL) (Tabela 2).

**TABELA 1:** Mortalidade dos microcrustáceos após administração de solução preparada com extrato de *P. marcgravii* (Grupo controle: 10 larvas; duas mortes).

Grupo	Dose (µg/mL)	Log dose	Número de larvas	Resposta	Frequência Esperada	Probita
1	10	1.000000	10	3	1.107845	3.777635
2	20	1.301030	10	4	2.226884	4.236854
3	100	2.000000	10	7	6.191041	5.303128
4	150	2.176091	10	6	7.162559	5.571754
5	200	2.301030	10	8	7.770737	5.762348
6	250	2.397940	10	9	8.186371	5.910183
7	400	2.602060	10	10	8.890644	6.221567
8	500	2.698970	10	10	9.145635	6.369403

Resultados: **CL50 = 63.283677 µg/mL**; Log(CL50) = 1.801292; Regressão linear ponderada: probit = 1.525488 x Log(Dose) + 2.252151; Erro padrão de Log(CL50) = 1.492636E-01; Inclinação = 0.412290; IC95% de CL50 = 32.265650 – 124.120348 µg/mL; Grau de Liberdade = 0; Teste do QUI-QUADRADO não realizado.

**TABELA 2:** Mortalidade dos microcrustáceos após administração de solução preparada com extrato de *P. crocea* (Grupo controle: 10 larvas; duas mortes).

Grupo	Dose (µg/mL)	Log dose	Número de larvas	Resposta	Frequência Esperada	Probita
1	10	1.000000	10	3	0.202687	2.951767
2	20	1.301030	10	2	0.480158	3.335596
3	100	2.000000	10	3	2.197070	4.226817
4	150	2.176091	10	3	2.916200	4.451342
5	200	2.301030	10	4	3.485065	4.610645
6	250	2.397940	10	5	3.952007	4.734210
7	400	2.602060	10	7	4.977955	4.994473
8	500	2.698970	10	8	5.469815	5.118039

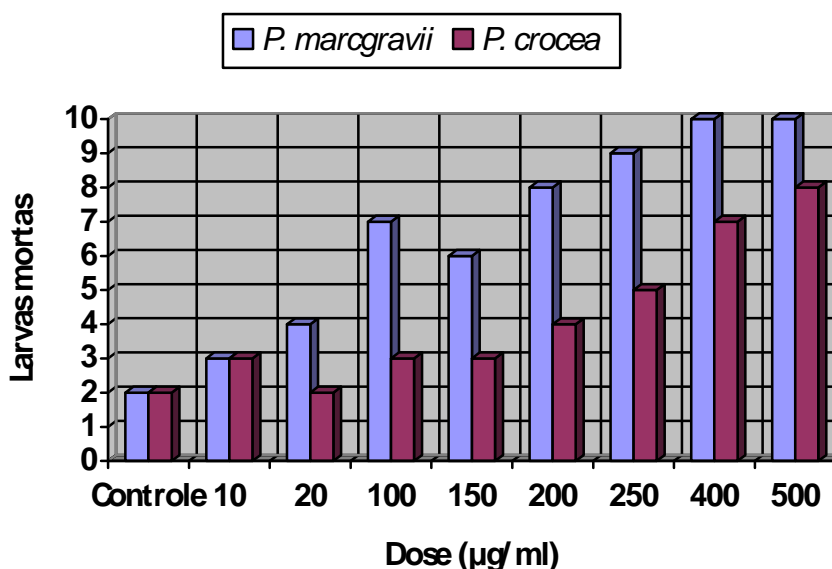
Resultados: **CL50 = 404.011359 µg/mL**; Log(CL50) = 2.606394; Regressão linear ponderada: probit = 1.275052 x Log(Dose) + 1.676713; Erro padrão de Log(CL50) = 1.953696E-01; Inclinação = 0.457369; IC95% de CL50 = 167.292430 – 975.687769 µg/mL; Grau de Liberdade = 0; Teste do QUI-QUADRADO não realizado.



Como consequência deste bioensaio, depreende-se que existem substâncias nos extratos das duas espécies que interferem de maneira prejudicial à sobrevivência das larvas de *A. salina*. No caso da *P. marcgravii* a substância provável responsável pelo efeito toxicológico é o monofluoroacetato ou ácido monofluoroacético ou AMFA (TOKARNIA et al., 1979; MORAES, 1993; KREBS et al., 1994; DE-MORAES-MOREAU et al., 1995; NOGUEIRA et al., 2010; PEIXOTO et al., 2010; PEIXOTO et al., 2011). O AMFA bloqueia a respiração celular aeróbia ao inibir a enzima aconitato desidrogenase do ciclo do ácido tricarboxílico (SHERLEY, 2004; TOKARNIA et al., 2012).

Ao se obter o valor de  $CL_{50} \pm EPM$  para cada espécie estudada, ficou evidente que todas possuem efeitos tóxicos para os microcrustáceos, com diferentes graus de toxicidade (Gráfico 1).

Dentre as espécies de plantas estudadas, a *P. marcgravii* apresentou maior toxicidade, causando elevado grau de letalidade para as larvas, à medida que a concentração do extrato etanólico aumentava, chegando a 100% de mortalidade (500  $\mu\text{g/mL}$ ). Esta apresentou menor valor de  $CL_{50}$  (63,28  $\mu\text{g/mL}$ ).



**GRÁFICO 1.** Comparativo do índice de mortalidade da *A. salina* após administração de solução preparada com extrato de *P. marcgravii* e *P. crocea* em diferentes concentrações (número inicial de larvas por concentração - 10).

O resultado foi coerente, porque esta espécie tem demonstrado elevada toxicidade em todos os ensaios publicados.

Para a *P. crocea* o efeito tóxico medido foi bem menos acentuado, apresentando em média de 2 a 3 larvas mortas, desde o Grupo Controle até a concentração do extrato etanólico de 150  $\mu\text{g/mL}$ . Entretanto, a medida que a concentração progressivamente aumentou – de 200 até 500  $\mu\text{g/mL}$  – houve um acréscimo do número de mortes: 5, 6, 7 e 8, respectivamente.

Demonstrando assim que a *P. crocea* apresenta efeito tóxico para a *A. salina* apesar de baixo, o que também pode ser demonstrado pelo elevado valor da  $CL_{50}$  - 429  $\mu\text{g/mL}$  – (Tabela 2), denotando a destacada diferença com a *P. marcgravii*.

Devido à dificuldade em diferenciar outras espécies de *Palicourea* com a *P. marcgravii* (TAYLOR, 1997; BLANCO et al, 2004), e visando estabelecer métodos que auxiliem na identificação da espécie, o uso do *A. salina* é inovador na avaliação da toxicidade para espécies desse gênero. Este microcrustáceo é empregado nos ensaios de citotoxicidade por formar cistos dormentes, que podem ser armazenados fora de culturas, sem perder viabilidade, além de ser muito sensível ao método (LIMA et al., 2009). Desta feita, os resultados obtidos com esse biomarcador confirmam que é possível diferenciar, rapidamente, extratos de plantas quanto à sua toxicidade e que a *P. marcgravii* é a espécie efetivamente mais tóxica para o modelo experimental utilizando a *A. salina*. No entanto, tais conclusões não devem ser difundidas para modelos que utilizam outras espécies animais e, sim, confrontadas com outros bioensaios e quantificações do AMFA.

## CONCLUSÕES

A partir desse bioensaio ficou evidente que existem substâncias nos extratos das duas plantas que interferem de maneira prejudicial à sobrevivência das larvas de *A. salina*, portanto possuem efeitos toxicológicos.

Conclui-se que a *P. marcgravii* demonstrou alta toxicidade ( $CL_{50} \pm EPM = 63,28 \pm 1,8 \mu\text{g/mL}$ ), enquanto que *P. crocea* apresentou baixo efeito toxicológico ( $CL_{50} \pm EPM = 404,01 \pm 2,6 \mu\text{g/mL}$ ). No entanto, tais conclusões não devem ser difundidas para outras espécies animais e, sim, confrontadas com outros bioensaios e quantificações de AMFA.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), à Fundação de Apoio à Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (FUNAPE) e ao Biotério Central da Universidade Federal de Goiás.

## REFERÊNCIAS

AFONSO, E., POTT, A. [*Palicourea*] Plantas no Pantanal Tóxicas para Bovinos. **Embrapa Informação Tecnológica**. p. 51, 2001.

AUBLET, J.B.C. **Plantas de Guianes**, v. 1, 173p, 1775.

ANDRADE, S.O. & MATOS, J.R. Contribuição do estudo de plantas tóxicas no Estado de São Paulo. **Instituto Biológico**. p. 63–66, 1968.

BARBOSA, J.D. **Plantas tóxicas**. [on line], 2004. Disponível em: [www.portalorm.com.br/edopara/interna/](http://www.portalorm.com.br/edopara/interna/). Acesso em: 13 de agosto de 2005.

BLANCO, B.S.; HARAGUCHI, M.; SILVA, J.A.; GÓRNIAC, S.L. Intoxicação Natural de Caprinos e Ovinos por *Palicourea marcgravii* St. Hil (Rubiaceae). **Caatinga**, v. 17, p. 52 - 56, 2004.

CARVALHO, C.; MATTA, S.; MELO, F.; ANDRADE, D.; CARVALHO, L.; NASCIMENTO, P.; SILVA, M.; ROSA, M. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers – Bignoniaceae): Estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, p. 51 - 57, 2009.

CONSOLARO, H.; TOLEDO, R.D.P.; FERREGUTI, R.L.; HAY, J.; OLIVEIRA, P.E. Distília e homostília em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, p. 677 - 689, 2009.

DE-MORAES-MOREAU, R.L. ; HARAGUCHI, M. ; PALERMO-NETO, J. Chemical and biological demonstration of the presence of monofluoroacetate in the leaves of *Palicourea marcgravii* St. Hil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 28, p. 685 - 692, 1995.

DELPRETE, P.G. Rubiaceae. In: N.P.Smith et al. (Eds), Flowering Plant Families of the American Tropics. **Princeton University Press/New York Botanical Garden Press**, p. 328 - 333, 2004.

FRANCIS, J. K. 2004. *Palicourea crocea*. [on line], 2004. Disponível em: [www.fs.fed.us/global/iitf/wildlands\\_shrubs.htm](http://www.fs.fed.us/global/iitf/wildlands_shrubs.htm). Acesso em: 22 de fevereiro de 2006.

HOENE, F.C. Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais. **Departamento de Botânica do Estado de São Paulo**, p. 284 - 287, 1939.

GANGIN, M.A.H.; MARAVALHAS, N. Ocorrência de alcaloides no gênero *Palicourea*. **Anais XX Congresso Nacional de Botânica**, Goiânia-GO, p. 91 - 105, 1969.

GONZAGA, A.D.; GARCIA, M.V.B.; SOUSA, S.G.A.; PY-DANIEL, V.; CORREA, R.S.; RIBEIRO, J. Toxicidade de manipueira de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hil) a adultos de *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae). **Acta Amazonica**, v. 38, p. 101 - 106, 2008.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Sperman-Karber: Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science Technology**, v. 11, p. 714 - 719, 1977.

KISSMAN, K.G.; GROTH, D. **Plantas Infestantes e Nocivas**. São Paulo, SP: Ed. Basf S.A., 623p, 2000.

KOSCHNITZKE, C.; RODARTE, A.T.A.; GAMA, R.C.R.; TÂMEGA, F.T.S. Flores ornitófilas odoríferas: duas espécies de *Palicourea* (Rubiaceae) na Estação Biológica de Santa Lúcia, ES, Brasil. **Hoehnea**, v. 36, p. 497 - 499, 2009.

KREBS, H.C. ; KEMMERLING, W.; HABERMEHL, R. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by <sup>19</sup>F-NMR spectroscopy. **Toxicon**, v. 32, p. 909 - 913, 1994.

LIMA, J.M.; SILVA, C.A.; ROSA, M.B.; SANTOS, J.B.; OLIVEIRA, T.G.; SILVA, M.B. Prospecção fitoquímica de *Soleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. **Planta Daninha**, v. 27, p. 7 - 11, 2009.

LONREZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 4. ed, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 580p, 2008.

MCLAUGHLIN, J.L.; COLMAN-SAZARBITORIA, T.; ANDERSON, J.E. Tres bioensayos simples para quimicos de productos naturales. **Revista de la Sociedad Venezolana de Química**, v. 18, p. 13 - 18, 1995.

MORAES, R.L.F. Comprovação química e biológica da presença de monofluoroacetato nas folhas de *Palicourea marcgravii* St. Hill. **Dissertação (Doutorado - Toxicologia e Análises Toxicológicas)** - Universidade de São Paulo. São Paulo, 83p, 1993.

NOGUEIRA, V.A.; FRANÇA, T.N.; PEIXOTO, T.C.; CALDAS, S.A.; ARMIÉN, A.G.; PEIXOTO, P.V.; Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em bovinos: aspectos clínicos e patológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.7, p.533-540, 2010.

PEIXOTO, P.V., TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J., PEIXOTO, C.S. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelhos. **Pesq. Vet. Bras.** 7(4): 117–129, 1987.

PEIXOTO, T.C.; NOGUEIRA, V.A.; COELHO, C.D.; VEIGA, C.C.P.; PEIXOTO, P.V.; BRITO, M.F. Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.12, p.1021-1030, 2010.

PEIXOTO, T.C.; NOGUEIRA, V.A.; COELHO, C.D.; VEIGA, C.C.P.; PEIXOTO, P.V.; BRITO, M.F. Efeito protetor da acetamida sobre as intoxicações experimentais em ratos por monofluoroacetato de sódio e por algumas plantas brasileiras que causam morte súbita. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.11, p.938-952, 2011.

PEREIRA, Z.V.; MEIRA, R.M.S.A.; AZEVEDO, A.A. Morfoanatomia foliar de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, v. 27, p. 759 - 767, 2003.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, M.T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 38 - 42, 2001.

RIZZINI, C.T.; MORS, W.B. **Botânica Econômica Brasileira**. 2. ed., São Paulo: Âmbito Cultural Edições Ltda, 248p, 1995.

SHERLEY, M. The traditional categories of fluoroacetate poisoning signs and symptoms belie substantial underlying similarities. **Toxicology Letters**, v. 151, p. 399 - 406, 2004.

SILVA, L.F. Estudo anatômico e avaliação da toxicidade aguda da *Palicourea marcgravii* St. Hill, *P. crocea* (Sw.) J. A. Schultes, *P. australis* C. M. Taylor e *P. officinalis* Mart. em microcrustáceos e camundongos. **Dissertação (Mestrado - Fisiologia)** - Universidade Federal de Goiás, 167p, 2005.

SIQUEIRA, J.M.; BOMM, N.F.G.; PEREIRA, W.S.; GARCEZ, M.A.D.; BOAVENTURA. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* (Annonaceae) biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. **Química Nova**. v. 21, p. 37 - 45, 1998.

TAYLOR, C.M. Conspectus of the genus *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotrieae) with the description of some new species from Ecuador and Colômbia. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 84, p. 224 - 262, 1997.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; SILVA, M.F. **Plantas Tóxicas da Amazônia a Bovinos e outros Herbívoros**. Manaus: INPA, 95p, 1979.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 6, p. 73 - 92, 1986.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V.; Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 6, p. 121 - 131, 1986.

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 11, p. 65 - 70, 1991.

TOKARNIA, C.H.; COSTA, E.R.; BARBOSA, J.D.; ARMIÉN, A.G.; PEIXOTO, P.V. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 13, p. 67 - 72, 1993.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Helianthus, 310p, 2000.

TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; BARBOSA, J.D.; PEIXOTO, P.V.; DÖBEREINER, J. **Plantas Tóxicas do Brasil**, 2ª edição. Rio de Janeiro: Helianthus, 586p, 2012.