



## AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA COMPARATIVA ENTRE *Palicourea marcgravii* St. Hil e *P. officinalis* Mart. (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: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012

### 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. officinalis*, *P. crocea* e *P. australis*. A *P. officinalis*, um sub-arbusto, encontrada nos cerrados abertos do Distrito Federal, Goiás e Minas Gerais. Alguns autores tratam *P. marcgravii* e *P. officinalis* como espécies distintas, e outros como sinônimos, causando considerável confusão na literatura especializada. *Palicourea marcgravii* foi bastante estudada em relação à toxicidade, entretanto, não há experimentos que visem diferenciá-la de outras espécies. 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. officinalis* apresentou CL50±EPM > 400 µg/mL. Baseando nesses valores, concluímos que das duas espécies estudadas, a *P. marcgravii* é uma espécie altamente tóxica para microcrustáceos, enquanto que a *P. officinalis* 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. officinalis* Mart. (RUBIACEAE) IN *Artemia salina* Leach

### 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. officinalis*, *P. crocea* and *P. australis*. *P. officinalis* is a subshrub found in the open cerrado vegetation of the Distrito Federal, Goiás and Minas Gerais. Some authors treat *P. marcgravii* and *P. officinalis* as distinct species and others as synonyms, causing considerable confusion in the specialized literature. The toxicity of *Palicourea marcgravii* has been considerably studied, but no experiments have been performed for the other mentioned species. 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. officinalis* presented a LC50±EPM of > 400 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. officinalis* 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; 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 &

MARAVALHAS, 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. officinalis*, *P. crocea* e *P. australis*. A *P. officinalis* (Figura 2) é um sub-arbusto, encontrada nos cerrados abertos do Distrito Federal, Goiás e Minas Gerais. Alguns autores tratam *P. marcgravii* e *P. officinalis* como espécies distintas, e outros como sinônimos, causando considerável confusão na literatura especializada (CONSOLARO et al., 2009).





**Figura 2.** Fotos do hábito de vida da *Palicourea officinalis* 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-do-mato”, “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;).

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. officinalis*, visando evidenciar suas ações tóxicas e esclarecer a partir desse critério se são integrantes da mesma espécie ou de espécies diferentes.

## METODOLOGIA

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

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.

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).

## Animais

A *A. salina* é um microscrustáceo de água salgada, utilizado como alimento vivo para peixes, sendo que seus ovos são facilmente encontrados em lojas de aquaristas. A simplicidade do bioensaio TAS favorece sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido no próprio laboratório de fitoquímica.

## 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 officinalis* Mart.

GOIÁS: CATALÃO: BR-050, em direção para Davinópolis, ca. 7km do trecho de catalão entrada para o Rancho Ilha Bela, ca. 9km da Rodovia (depois do Rancho Ilha Bela). Vegetação de Cerrado fechado. Planta perene com caules eretos de 10-70cm. Caules basalmente lenhosos e folhas coriáceas, discoloras, 3 ou 4 por nó. Raquis alaranjado-vermelho. Botões florais amarelos, com manchas vermelhas no ponto de inserção das anteras (entre os lobos). Corolas amarelas, com manchas vermelhas entre os lobos. Crescendo somente na beira da estrada e nas trilhas dentro do cerrado, P.G.Delprete, L.F.Silva & H.Ferreira 9185 (23.12.2004) UFG.

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

Inicialmente 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 passado em papel filtro e o líquido obtido, encaminhado para 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).

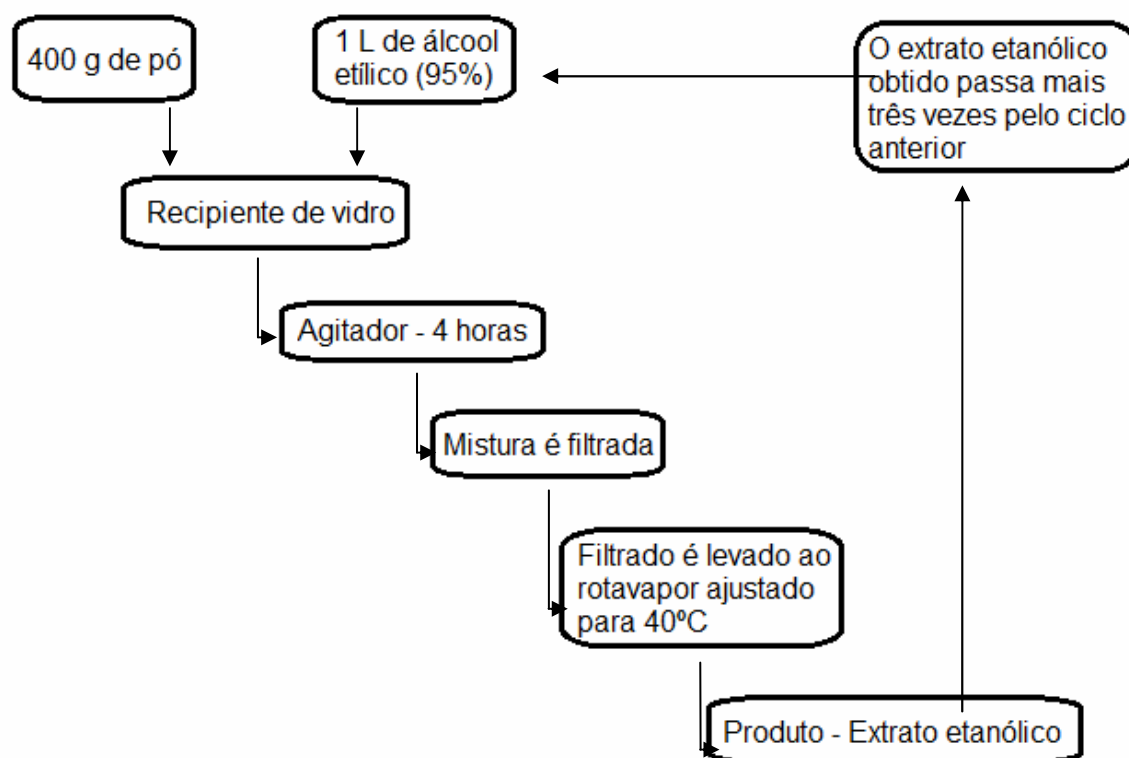


Figura 3. Procedimentos adotados para formulação do extrato etanólico das plantas.

A partir do momento em que o extrato esteve pronto para ser testado, os ovos do microcrustáceo foram preparados para eclosão. Para isso,

preparou-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 eclodiu, podendo assim as larvas ser utilizadas para o bioensaio.

Foram submetidos ao bioensaio extratos de folhas de *P. marcgravii* e *P. officinalis*. Para cada teste foi utilizada uma solução composta por 120 mg do extrato de uma das plantas, 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: 5 µl, 10 µl, 25 µl, 50 µl, 100 µl, 125 µl, 200 µl, e 250 µl, sendo o 9º grupo o controle, em que se colocou apenas 250µl da solução controle (10 mL 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.

### **Análise estatística**

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**

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 1 e 2).

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

Ao lançar todas as médias dos resultados obtidos no programa de regressão linear, para a *P. officinalis*, não houve a determinação da CL50. Isso se justifica devido ao baixo grau de toxicidade da mesma, o que gerou pouca diferença nas médias apesar do aumento da concentração. Assim, para estimar o valor de CL50, foram desconsiderados os valores repetidos e utilizaram-se apenas os outros, resultando em CL50 429,13 $\pm$ 2,26 µg/mL (IC95% 0,000047 – %390556495 0,21538 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	Probit
1	10	1.000000	10	3	1.107845	3.777635
2	20	1.301030	10	2	2.226884	4.236854
3	100	2.000000	10	3	6.191041	5.303128
4	150	2.176091	10	3	7.162559	5.571754
5	200	2.301030	10	4	7.770737	5.762348
6	250	2.397940	10	5	8.186371	5.910183
7	400	2.602060	10	7	8.890644	6.221567
8	500	2.698970	10	8	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. officinalis* (Grupo controle: 10 larvas; uma morte).

Grupo	Dose (µg/mL)	Log dose	Número de larvas	Resposta	Frequência Esperada	Probit
1	10	1.000000	10	6	4.555006	4.888224
2	20	1.301030	10	6	4.636806	4.908835
3	100	2.000000	10	5	4.827284	4.956692
4	150	2.176091	10	5	4.875346	4.968748
5	200	2.301030	10	6	4.909462	4.977303
6	250	2.397940	10	6	4.935924	4.983938
7	400	2.602060	10	6	4.991671	4.997913
8	500	2.698970	10	7	5.018143	5.004549

Resultados: **CL50 = 429,130458 µg/mL**; Log(CL50) = 2,632589; Regressão linear ponderada: probit = 0,068461 x Log(Dose) + 4,819770; Erro padrão de Log(CL50) = 3,550624E-01; Inclinação = 0,299354; IC95% de CL50 = 0,000047 – %390556495 0,21538 µg/mL; Grau de Liberdade = 0; Teste do QUI-QUADRADO não realizado.

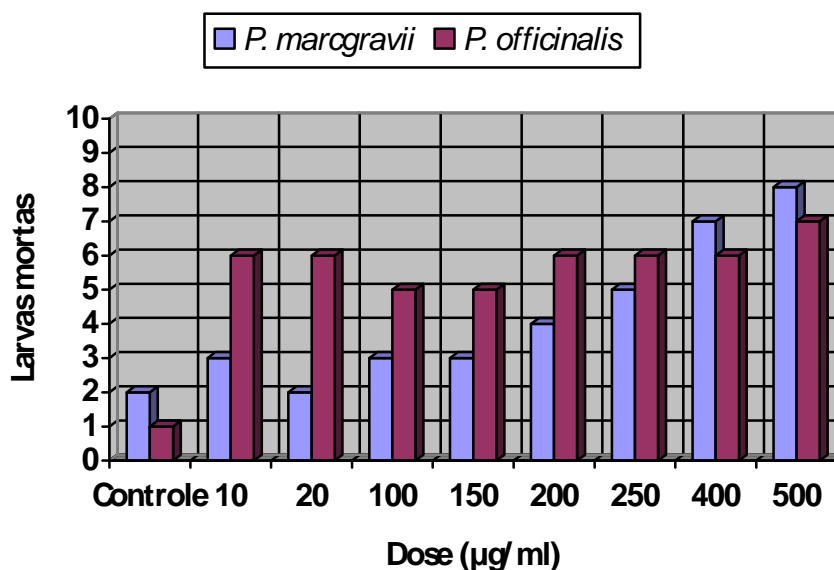
Como consequência deste bioensaio, depreende-se que existem substâncias nos extratos das duas espécies que interferem de maneira prejudicial à sobrevivência das larvas de *A. salina*. No caso da *P. marcgravii* a substância provável responsável pela efeito toxicológico é o o monofluoroacetato ou ácido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

Ao se obter o valor de CL50±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 µg/mL). Esta apresentou menor valor de CL50 (63,28 µg/mL).



**GRÁFICO 1.** Comparativo do índice de mortalidade da *A. salina* após administração de solução preparada com extrato de *P. marcgravii* e *P. officinalis* 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. officinalis* o efeito tóxico medido foi bem menos acentuado, apresentando em média seis (6) larvas mortas, independente da concentração do extrato etanólico. Na Tabela 2 foi possível observar a baixa toxicidade, representada por elevados valores da CL50 (429 µg/mL), denotando a destacada diferença com a *P. marcgravii*.

Devido à confusão das 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<sub>50</sub>±EPM = 63.28±1,8 µg/mL), enquanto que *P. officinalis* apresentou baixo efeito toxicológico (CL<sub>50</sub>±EPM = 429,13±3,5 µg/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 BIBLIOGRÁFICAS

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

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.; GÓRNIK, 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.

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, **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p.362 2012

R. S.; RIBEIRO, J. Toxicidade de manipueira de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) 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 Sperm-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, 2008,. 580p

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.

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, 1995, 248p

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* R. et Sch., *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, M. D.; PEREIRA, N. F. G.; GARCEZ, W. S.; BOAVENTURA, M. A. D. 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 Colombia. **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, 2000,. 310p.