

Estudo morfoanatômico comparativo entre a poaia (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes - Rubiaceae) obtida da região Amazônica (*habitat* original) e proveniente de processo biotecnológico submetida a diferentes tratamentos de interceptação da radiação solar

Rafael Sanzio Diniz Lacerda Gomes,¹ Virgínia Del Carmem Oliveira,² Rose Lisieux Ribeiro Paiva Jácome,¹ José Eduardo Brasil Pereira Pinto,³ Osmar Alves Lameira,⁴ Ana Maria Dantas Barros*¹

¹Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, 31270-010 Belo Horizonte-MG, Brasil,

²Fundação Ezequiel Dias, 30510-010 Belo Horizonte-MG, Brasil,

³Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, 37200-000 Lavras-MG, Brasil,

⁴Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, 66095-100 Belém-PA, Brasil

RESUMO: A poaia ou ipeca (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes.-Rubiaceae) apesar de seu valor farmacológico e sócio-econômico é cada vez menos freqüente no seu *habitat*. O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo comparativo dos aspectos morfoanatômicos entre a espécie originária da Amazônia Brasileira e a obtida *in vitro* submetidas a diferentes tratamentos de interceptação de radiação solar, visando, desta forma, dar suporte a estudos com fins de preservação, cultivo, validação farmacognóstica/farmacopéica e ampliar o conhecimento biotecnológico desta espécie. A espécie nativa foi obtida de fragmento de mata (fase vegetativa) e empregada para micropropagação através do cultivo *in vitro* de fragmentos de segmentos internodais sobre meio de cultivo Murashige & Skoog com o regulador de crescimento BAP (2,0 mg/l de meio). Obtiveram-se plântulas que foram transferidas para casa de vegetação por 2 anos sob dois tipos de ambiente e três diferentes tratamentos de interceptação da radiação solar. Foi feito o estudo morfoanatômico, analisado estatisticamente. Verifica-se que as plantas originadas por processo biotecnológico e submetidas aos diferentes tratamentos apresentam morfologia semelhante à planta nativa, no entanto constatou-se um maior número de raízes secundárias, não há diferença significativa entre larguras e comprimentos de folhas, comprimento de raízes, estípulas, peso de raízes e rizomas. Mas, observou-se diferença estatística no comprimento do caule em relação à nativa.

Unitermos: *Psychotria ipecacuanha*, Rubiaceae, morfoanatomia, biotecnologia.

ABSTRACT: "Morphoanatomy comparative study between "poaia" (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes - Rubiaceae) from the Amazon region (original *habitat*) and from biotechnology process, subjected to different treatments of interception of solar radiation". The poaia or ipeca (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes.-Rubiaceae) although its pharmacological and partner-economic value is each less frequent time in its *habitat*. The objective of this work was to carry through the comparative study of the morfo-anatomics aspects between the originary species of the Brazilian Amazônia and gotten *in vitro* submitted the different treatments of interception of solar radiation, aiming at, of this form, to give has supported the studies with preservation ends, culture, pharmacognostic/pharmacopeic validation and to extend the biotechnological knowledge of this species. The native species was gotten of breaks up of bush (phase vegetative) and used for micropropagation through the culture *in vitro* of fragments of internodais segments on way of culture Murashige & Skoog with the plant growth regulator BAP (2.0 mg/l growth). Plantlet was gotten that they had been transferred to house of vegetation per 2 years under two types of environment and three different treatments of interception of the solar radiation. The morfo-anatomic study was made, statistics analyzed. And is verified that the plants originated for biotechnological process and submitted to the different treatments present similar morphology to the native plant, however evidenced a bigger number of secondary roots, does not have significant difference between widths and lengths of leaves, length of roots, internodais, stipules, weight of roots and rhizomes. But, difference was observed statistics in the length of stem in relation to the native.

Keywords: *Psychotria ipecacuanha*, Rubiaceae, morfo-anatomy, biotecnology.

INTRODUÇÃO

Psychotria ipecacuanha (Brot.) Stokes apesar do valor farmacológico e sócio/econômico, é cada vez menos freqüente nos locais de ocorrência espontânea (Silva, 2000). A decocção de suas raízes é usada contra febres e malária (Agra et al., 2008). Pertence às Rubiaceas, grupo taxonomicamente bem definido que segundo Cronquist (1981) tem cerca de 450 gêneros e 6500 espécies, e o gênero *Psychotria* cerca de 800 espécies. É nativa de regiões sombreadas, úmidas de florestas tropicais da América, prefere solos silico-argilo-humífero, ricos em ferro. A dificuldade do cultivo convencional é a perda rápida do poder germinativo da semente, sua propagação é realizada através de estacas de fragmentos de caules e raízes. Recomenda-se colher a planta desenvolvida no cultivo sob sombreamento artificial (sombrite), sugere-se uma semana antes remover a cobertura para induzir aumento de emetina nas raízes (Lameira, 2002). Uma alternativa é o cultivo *in vitro*. Há possibilidade de otimizar o cultivo biotecnológicos através da seleção, tratamentos culturais, e do uso de determinados estímulos na produção (Vasconsuelo & Boland, 2007). E, a micropropagação oferece rapidez na obtenção de mudas, erradicação das pragas e doenças, e útil na preservação de espécies (Pletsch, 1998). Este trabalho realizado com a *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes teve como objetivo comparar os aspectos morfoanatômicos entre a espécie da Amazônica Brasileira, coletada em fragmento de mata nativa, e as cultivadas *in vitro*, submetidas a diferentes tratamentos de interceptação da radiação solar. Visando, assim, dar suporte a estudos com fins de preservação, cultivo, validação farmacognóstica/farmacopéica, e ampliar o conhecimento biotecnológico desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Espécie nativa: as amostras foram fornecidas pelo Dr. Osmar Alves Lameira, pesquisador da EMBRAPA Amazônia Oriental, coletadas em fragmento de mata nativa, próximo ao Horto Florestal da EMBRAPA, no município de Belém, PA (localização 1° 27' 21" S de latitude e 48° 30' 14" W de longitude, com altitude de 10 metros). O material foi coletado na fase vegetativa de desenvolvimento.

Espécies cultivadas in vitro e tratamentos: as amostras empregadas para o presente estudo foram fornecidas pelo Prof. Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto Laboratório de Biotecnologia (UFLA) da Universidade de Federal de Lavras. A região se encontra a 21°14'S de latitude, 45°00'W de longitude e a 918 metros de altitude, na região do sul de Minas Gerais. Inicialmente a espécie nativa da Amazônia foi multiplicada através do cultivo *in vitro*, partindo de

fragmentos de segmentos internodais, sobre o meio de cultura: Murashige & Skoog (1962), com o regulador de crescimento BAP (2,0 mg/l). Este processo permitiu a obtenção de plântulas. Estas plântulas foram transferidas para casa-de-vegetação por dois anos, sob dois tipos de ambiente. O primeiro ambiente se caracterizou por 40% de interceptação da radiação solar incidente, por meio de tela refletora comercialmente denominada "aluminete®". O segundo ambiente se caracterizou por 80% de interceptação da radiação solar incidente, pelo mesmo tipo de tela. As plantas obtidas após estes dois anos de cultivo formaram dois grupos: Grupo 40% (G40) e Grupo 80% (G80). As plantas do G40 e G80 receberam três tipos de tratamento e se dividiram em subgrupos: o primeiro subgrupo foi submetido a um estresse de luminosidade por dez dias com 0% de interceptação da radiação solar (L). O segundo subgrupo foi submetido a um estresse por dez dias, com interceptação de 100% da radiação solar (escuro) (E). O terceiro subgrupo permaneceu sob os respectivos "aluminetes®" até o dia da coleta (N).

Os grupos e subgrupos formados estão indicados nas Tabelas 1.

Para os procedimentos das análises realizadas, os subgrupos de cada ambiente foram coletados todos ao mesmo tempo, na fase vegetativa, originando as amostras tratadas: G40L, G40E, G40N; G80L, G80E, G80N.

Estudo morfológico

A caracterização botânica macroscópica foi realizada nas partes aéreas, folhas (forma e dimensão), caule (forma e dimensão) e nas raízes (forma, dimensão e peso) de amostras nativas e cultivadas/tratadas de *P. ipecacuanha*. As observações e medidas foram feitas a olho nu, com dispositivo semelhante a um paquímetro e balança analítica. Empregou-se material vegetal fresco.

Estudo anatômico

A caracterização botânica microscópica foi realizada nas partes aéreas (caule), raízes e rizomas de amostras nativas e cultivadas, ainda frescas. Estas foram fixadas em FAA 70 (Johansen, 1940) e conservadas em álcool 70%. Foram realizadas secções transversais e longitudinais à mão livre e coradas com solução de azul de astra e safranina segundo técnica descrita por Johansen (1940). As fotomicrografias obtidas em microscópio Olympus CX-31, acoplado a uma câmara fotográfica Olympus SC-35.

Análise dos dados

À medida que a coleta de dados e os doseamentos eram processados, procedeu-se a entrada no banco de dados do programa Epi-Info, versão 6.04b (Dean, 1995).

Para a análise das variáveis contínuas foram aplicados os testes paramétricos, “t” de Student e “F” (ANOVA). Obedeceram-se os pressupostos de homogeneidade nas variâncias e normalidade nas curvas padrões. Caso estes pressupostos fossem quebrados, o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis poderia ser utilizado.

Na presença de diferença estatisticamente significativa em mais de dois grupos, o teste de comparação múltipla de Newman-Keuls foi aplicado. Em todos os testes, considerou-se o valor de $\alpha = 5\%$, ou seja, $p < 0,05$ para medida de significância estatística (Siegel & Castellan, 1988; Vieira, 1991).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo morfológico

Descrição macroscópica da espécie nativa

Sabe-se que possíveis variações morfológicas entre as populações vegetais podem ocorrer (Assis, 1992; Assis & Giulietti, 1999; Garcia, 2001). Verificou-se a ocorrência de variações significativas entre a espécie nativa e as submetidas aos diferentes tratamentos, avaliando os principais caracteres morfológicos. Nas medidas tomou-se como base a maior folha, maior raiz e o maior caule da planta. Os limites dos caracteres analisados estão relacionados: folhas (comp.): 3,1 - 12,0 cm, (larg.): 1,5 - 6,1; caule (comp.): 21,5 - 30,0 cm; raiz (comp.): 1,0 - 16,0 cm; estípulas (comp.): 0,7 - 1,0 cm.

Assis (1992) realizou um extenso estudo comparativo de caracteres morfológicos de *P. ipecacuanha* que ocorrem na Floresta Amazônica, América Central, Colômbia e Mata Atlântica, usando nove caracteres no seu estudo. Esta análise mostrou que todos os indivíduos, ao longo de toda a distribuição geográfica, não apresentaram diferenças morfológicas significativas para uma separação infra-específica. Poucas diferenças foram observadas como à presença de acúmulo na folha mais desenvolvida em uma população fora do Brasil e também na pilosidade. Para Kay (1984) considera que a maioria das descontinuidades

morfológicas das plantas simpátricas é consequência de polimorfismo genético, enquanto que a descontinuidade morfológica em plantas alopátricas comumente resulta de barreiras ao fluxo gênico. Também, deve-se considerar variações crípticas como aspectos citogenéticos, fisiológicos e bioquímicos.

Para a espécie nativa observou-se todas as características das folhas, pecíolos, estípulas, caule, rizoma, raiz e as mesmas foram semelhantes aos dados obtidos com àqueles descritos por Assis (1992), Farmacopéia Brasileira (1996), Lameira (2002).

Descrição macroscópica das espécies submetidas aos diferentes tratamentos

Os limites dos caracteres analisados foram: folhas (comp.): 0,7 - 9,0 cm (larg.): 0,4 - 4,5; caule (comp.): 2,5 - 13,5 cm; raiz (comp.): 6,0 a 20,0 cm; estípulas (comp.): 0,3 - 1,4 cm.

Considerando os limites inferiores e superiores de Assis (1992) para o comprimento das folhas (2,3 - 18,3 cm) observadas nas três regiões estudadas, o valor encontrado neste experimento foi inferior (0,7 cm). O mesmo foi observado com relação à largura, cujo limite é de 1,1 - 9,4 cm, segundo Assis (1992) e o experimental é de 0,4 cm.

Todas as medidas e pesos mensurados para cada amostra, nativas e submetidas a diferentes tratamentos, estão reunidos na Tabela 1.

No aspecto geral as plantas cultivadas, originadas por processo biotecnológico e submetidas aos diferentes tratamentos, apresentaram morfologia semelhante à planta nativa, observada através da descrição morfológica. No entanto, constatou-se um maior número de raízes secundárias. Lameira (2002) verificou que em plantas de 3 anos de idade, obtidas pelo processo natural, pode-se produzir uma raiz primária contendo oito raízes secundárias/planta, pesando 30-40 g. Pela micropropagação, o número pode chegar até 15 raízes secundárias /planta. Este aumento já foi observado em *Curcuma longa* L. obtida por processo biotecnológico (Perét-Almeida, 2006).

Tabela 1. Indivíduos de *P. ipecacuanha* cultivados e seus respectivos tratamentos.

Tratamentos	Subgrupos	G40	G80
0% de interceptação da radiação solar (por dez dias)	L	01	12
		02	13
		03	14
100% de interceptação da radiação solar (por dez dias)	E	04	15
		05	16
		06	17
Nenhum estresse	N	07	18
		08	19
		09	20
		10	21
		11	-

Tratamentos estatísticos

As médias e medidas dos desvios padrões estão indicadas na Tabela 2.

Na Tabela 3 estão indicados os resultados da análise estatística para os comprimentos das folhas (cm); na Tabela 4 para as larguras das folhas (cm); na Tabela 7

para comprimento de estípulas (cm): na Tabela 6 para os comprimentos das raízes (cm); na Tabela 8 para os pesos das raízes (g). Em nenhum destes parâmetros foram observadas diferenças estatisticamente significativas, seja em relação à nativa, seja entre os tratamentos ou estas entre si. Na Tabela 5 estão indicados os resultados da análise estatística para os comprimentos dos caules

Tabela 2. Análise descritiva da média e desvio-padrão das folhas (comprimento e largura), caule (comprimento), raiz (comprimento), estípulas (comprimento) e raízes (peso) de amostras de *P. ipecacuanha* nativas e cultivadas sob a influência de ambientes (G40 e G80) e três níveis de interceptação da radiação solar.

Ambientes	Tratamentos	Número de amostras	Folhas compr. (cm)	Folhas largura (cm)	Caule compr. (cm)	Raiz compr. (cm)	Estípulas compr. (cm)	Raiz peso (g)
Habitat	-	06	8,350 ±3,729	3,967 ±2,116	26,117 ±3,567	6,833 ±5,419	1,383 ±0,071	0,683 ±0,172
G40	L	03	7,500 ±1,323	4,133 ±0,231	8,367 ±1,767	15,000 ±4,359	3,967 ±2,013	1,133 ±0,153
	E	03	5,333 ±2,930	2,367 ±1,012	9,117 ±1,711	13,667 ±5,132	3,800 ±2,931	1,067 ±0,351
	N	05	4,840 ±2,357	2,420 ±1,130	6,340 ±1,824	11,000 ±4,242	2,260 ±1,405	0,760 ±0,358
G80	L	03	6,500 ±2,500	3,600 ±1,559	7,133 ±2,811	12,000 ±2,646	2,267 ±0,971	0,833 ±0,231
	E	03	5,233 ±3,037	2,600 ±1,389	8,167 ±5,501	13,333 ±6,110	2,933 ±3,017	0,900 ±0,300
	N	04	3,050 ±2,740	1,575 ±1,457	8,175 ±1,929	15,750 ±4,193	3,850 ±2,050	0,800 ±0,294

Tabela 3. Análise comparativa das médias dos comprimentos das folhas de amostras de *P. ipecacuanha* nativas e cultivadas sob a influência de ambientes (G40 e G80) e de três níveis de interceptação da radiação solar.

Ambientes	Tratamentos	Número de amostras	Folhas compr. (cm)	Teste "t"/F	p
Habitat	-	06	8,350 ±3,729	1,710	0,1702
G40	L	03	7,500 ±1,323		
	E	03	5,333 ±2,930		
	N	05	4,840 ±2,357		
G80	L	03	6,500 ±2,500		
	E	03	5,233 ±3,037		
	N	04	3,050 ±2,740		

Tabela 4. Análise comparativa das médias das larguras das folhas de amostras de *P. ipecacuanha* nativas e cultivadas sob a influência de ambientes (G40 e G80) e três níveis de interceptação da radiação solar.

Ambientes	Tratamentos	Número de amostras	Folhas larg. (cm)	Teste "t"/F	p
Habitat	-	06	3,967 ±2,116	1,64	0,1881
G40	L	03	4,133 ±0,231		
	E	03	2,367 ±1,012		
	N	05	2,420 ±1,130		
G80	L	03	3,600 ±1,559		
	E	03	2,600 ±1,389		
	N	04	1,575 ±1,457		

(cm) de amostras nativas e cultivadas. A espécie nativa apresentou maior comprimento para caule, que grupos tratados. Mas, as tratadas entre si não apresentaram diferença. Pelo estudo de Assis (1992) observa-se uma extensa variedade com relação às formas das folhas, e uma grande variação nas dimensões dos caracteres apontados, o que leva a admitir mudanças nestes caracteres, sem maiores conseqüências fisiológicas ou

bioquímicas. Porém, processos fisiológicos das plantas estão sujeitos à interferência dos fatores ambientais e nas plantas medicinais, o ambiente pode interferir também na composição química, limitando a concentração (Melo et al., 2004).

Tabela 5. Análise comparativa das médias dos comprimentos dos caules de amostras de *P. ipecacuanha* nativas e cultivadas sob a influência de ambientes (G40 e G80) e três níveis de interceptação da radiação solar.

Ambientes	Tratamentos	Número de amostras	Caule comp. (cm)	Teste "t"/F	p
<i>Habitat</i>	- (1)	06	26,117 ±3,567	30,28	<0,001
G40	L (2)	03	8,367 ±1,767		
	E (3)	03	9,117 ±1,711		
	N (4)	05	6,340 ±1,824		
G80	L (5)	03	7,133 ±2,811		
	E (6)	03	8,167 ±5,501		
	N (7)	04	8,175 ±1,929		

Teste de comparação múltipla de Newman-Keuls: 1 > 4, 5, 6, 7, 2 e 3.

Tabela 6. Análise comparativa das médias dos comprimentos das raízes de amostras de *P. ipecacuanha* nativas e cultivadas sob a influência de ambientes (G40 e G80) e três níveis de interceptação da radiação solar.

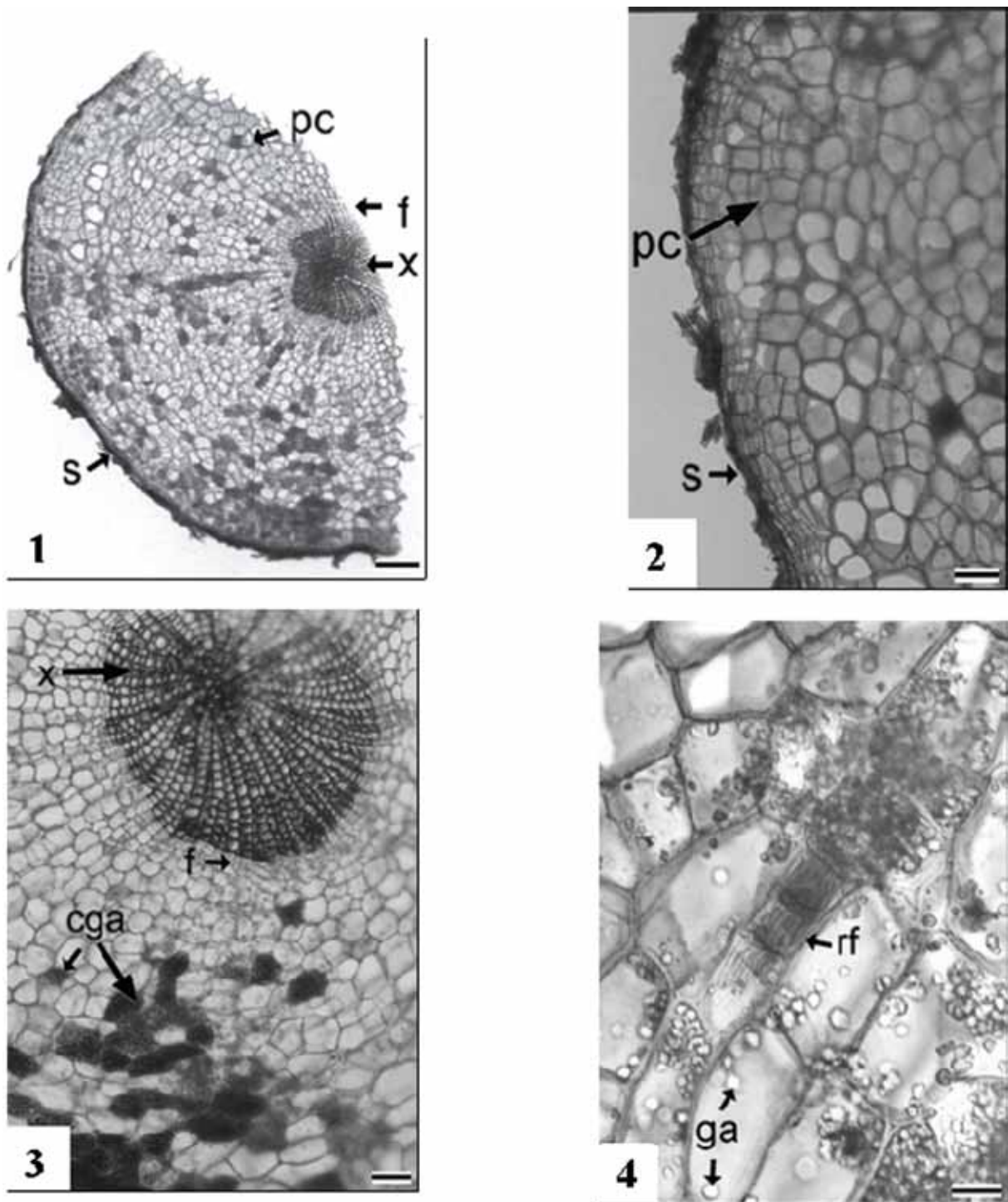
Ambientes	Tratamentos	Número de amostras	Raízes comp. (cm)	Teste "t"/F	p
<i>Habitat</i>	-	06	6,833 ±5,419	1,94	0,1243
G40	L	03	15,000 ±4,359		
	E	03	13,667 ±5,132		
	N	05	11,000 ±4,242		
G80	L	03	12,000 ±2,646		
	E	03	13,333 ±6,110		
	N	04	15,750 ±4,193		

Tabela 7. Análise comparativa das médias dos comprimentos das estípulas de amostras de *P. ipecacuanha* nativas e cultivadas sob a influência de ambientes (G40 e G80) e três níveis de interceptação da radiação solar.

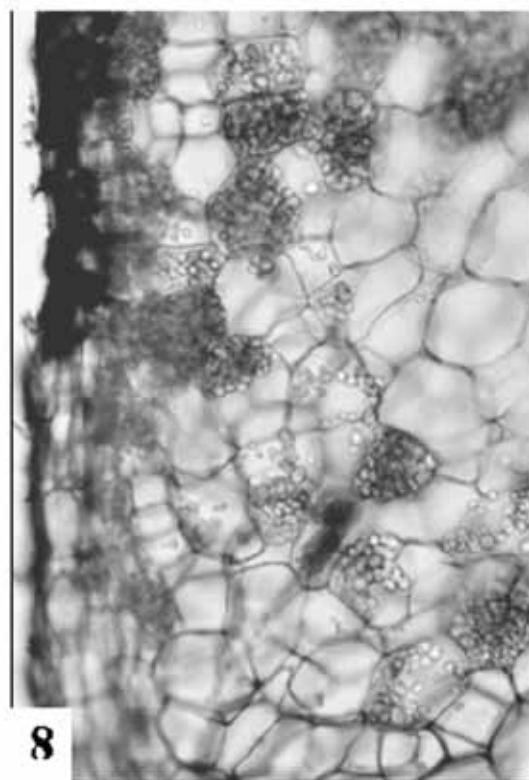
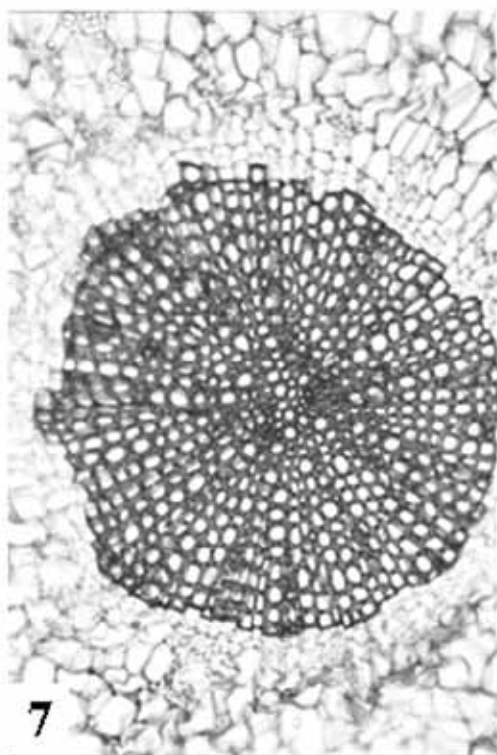
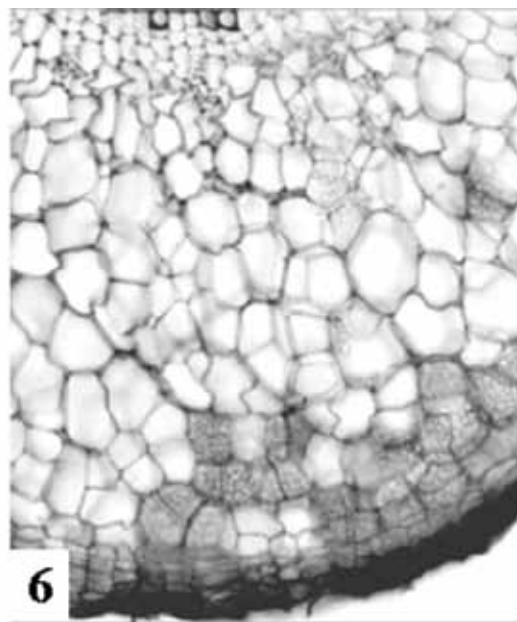
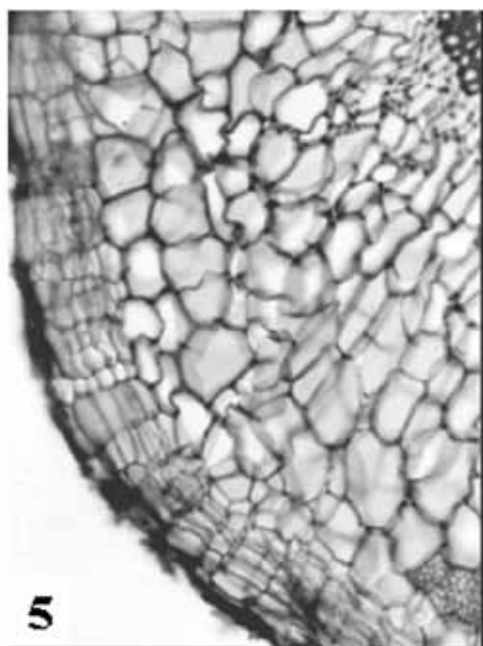
Ambientes	Tratamentos	Número de amostras	Estípula comp. (cm)	Teste "t"/F	p
<i>Habitat</i>	-	06	1,383 ±0,071	1,30	0,3001
G40	L	03	3,967 ±2,013		
	E	03	3,800 ±2,931		
	N	05	2,260 ±1,405		
G80	L	03	2,267 ±0,971		
	E	03	2,933 ±3,017		
	N	04	3,850 ±2,050		

Tabela 8. Análise comparativa das médias dos pesos das raízes de amostras de *P. ipecacuanha* nativas e cultivadas sob a influência de ambientes (G40 e G80) e três níveis de interceptação da radiação solar.

Ambientes	Tratamentos	Amostra	Raiz Peso (g)	Teste "t"/F	p
<i>Habitat</i>	-	06	0,683 ±0,172	1,35	0,2818
G40	L	03	1,133 ±0,153		
	E	03	1,067 ±0,351		
	N	05	0,760 ±0,358		
G80	L	03	0,833 ±0,231		
	E	03	0,900 ±0,300		
	N	04	0,800 ±0,294		



Figuras 1-4. Raiz de *Psychotria ipecacuanha*. 1. seção transversal mostrando súber (s), parênquima cortical (pc), floema (f) e xilema (x), (barra = 200 μ m). 2. detalhe do súber (s) e parênquima cortical (pc), (barra = 20 μ m). 3. seção transversal mostrando células com grãos de amido (cga), floema (f) e xilema (x), (barra = 20 μ m). 4. detalhe das células com grãos de amido (ga) e ráfides (rf), (barra = 10 μ m).



Figuras 5-8. Raiz de *P. ipecacuanha*. 5. secção transversal mostrando súber (s) e parênquima cortical (pc), (barra = 10 μ m). 6. detalhe do súber (s) e parênquima cortical (pc), (barra = 10 μ m). 7. secção transversal mostrando o cilindro vascular, região do floema (f) e xilema (x), (barra = 10 μ m). 8. detalhe das células com grãos de amido (ga) e ráfides (rf), (barra = 10 μ m).

Estudo anatômico**Descrição microscópica da espécie nativa**

Araiz, em secção transversal, possui o súber com três a quatro camadas de células tabulares, achatadas, de paredes finas (Figuras 1 e 2). O parênquima cortical possui várias camadas de células, com numerosos grãos de amido e algumas com ráfides de oxalato de cálcio (Figuras 3 e 4). Todas as características observadas para raiz, rizomas, grãos de amido confirmam as literaturas consultadas (Oliveira et al., 1998; Assis & Giulietti, 1999; Farmacopéia Brasileira, 1996). Segundo Alencar & Santos (1980), as observações anatômicas de *C. ipecacuanha* revelam características de espécies típicas de locais sombreados.

Descrição microscópica da espécie cultivada in vitro, submetidas aos diferentes tratamentos (G40L, G40E, G40N; G80L, G80E, G80N)

Um dos pilares da anatomia aplicada ao cultivo *in vitro* é a comparação com um padrão *in vivo* e a anatomia pode auxiliar na compreensão aos vários fenômenos relacionados ao corpo vegetal, dentre os quais as respostas ao cultivo *in vitro*. As condições de cultivo podem tanto permitir a continuidade de um padrão de desenvolvimento, quanto promover a desdiferenciação e a neomorfogênese vegetal, e estas serem detalhadas pelo emprego de técnicas de análise anatômica (Rodrigues et al., 2004).

Observou-se no estudo: raiz em secção transversal apresenta um súber com três a quatro camadas de células tabulares, achatadas e de paredes finas (Figuras 5 e 6). O parênquima cortical possui várias camadas de células, com numerosos grãos de amido e algumas com ráfides de oxalato de cálcio (Figuras 7 e 8). Todas as características anatômicas observadas para a planta nativa também puderam ser observadas nas plantas cultivadas tratadas. Nenhuma diferença marcante nas características microscópicas das plantas submetidas aos diferentes tratamentos pôde ser constatada, em relação à espécie nativa.

CONCLUSÃO

No aspecto geral verificou-se que as plantas cultivadas, originadas por processo biotecnológico e submetidas aos diferentes tratamentos, apresentaram morfologia semelhante à planta nativa, observada através da descrição morfológica. No entanto, constatou-se um maior número de raízes secundárias. Não há diferença estatisticamente significativa entre o comprimento e largura das folhas, entre os comprimentos de raízes, comprimentos de estípulas, peso das raízes e rizomas, seja em relação à nativa, seja entre as submetidas aos tratamentos, ou entre ambas. Através da análise estatística realizada, a única diferença observada foi entre os comprimentos de caule, mas apenas entre a espécie nativa e as submetidas aos tratamentos, mas não estas entre si.

REFERÊNCIAS

Agra MF, Silva KN, Basílio IJLD, França PF, Barbosa-Filho JM 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 18: 472-508.

- Alencar BMCM, Santos AVP 1980. Contribuição ao conhecimento da anatomia foliar de Ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* Rich.). *Cienc Cult* 32: 868-872.
- Assis MC 1992. *Aspectos taxonômicos, anatômicos e econômicos da "ipeca"* *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes. (Rubiaceae). 135p. Dissertação de mestrado - Universidade de São Paulo. São Paulo. 1992.
- Assis MC, Giulietti AM 1999. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de "ipecauanha" - *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes. (Rubiaceae). *Rev Bras Bot* 22: 205-216.
- Cronquist A 1981. *An integrate system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press.
- Dean AG 1995. *Epi-Info, version 6.04b: a word-processing, database, and statistics program for public health on IBM-compatible computers*. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention.
- Farmacopéia Brasileira 1996. São Paulo: Atheneu 4 ed.
- Garcia RMA 2001. *Variação sazonal do conteúdo de alcalóides e anatomia de raiz e caule de Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae) em populações nativas. 73p. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa 2001.
- Johansen DA 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw Hill, 523.
- Kay QON. 1984. Variation, polymorphism and gene-flow within species. In: Heywood VH, Moore DM. *Current concepts in plant taxonomy*. London: Academic Press.
- Lameira OA 2002. *Cultivo da Ipecacuanha* [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes]. *EMBRAPA, Circular técnica* 28: 1-4.
- Melo HC, Barbosa JPRAD, Bonome LTS, Deuner S 2004. Caracterização ambiental e aspectos fotossintéticos em cultivo sombreado de guaco. *Relatório de Ecofisiologia Vegetal* Departamento de Biologia. Universidade Federal de Lavras.
- Murashige T, Skoog FA 1962. Revised médium for rapid growth and bio-assays with tabaco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Oliveira F, Akisue G, Akisue MK 1998. *Farmacognosia*. 1 ed., São Paulo: Ateneu, 412.
- Perét-Almeida L 2006. *Curcuma longa L. - Caracterização, separação, avaliação da atividade antimicrobiana, morfogênese in vitro e produção de pigmentos curcuminóides*. 136f. Tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte 2006.
- Pletsch M 1998. Compostos naturais biologicamente ativos. *Biotechnologia: Ciência e Desenvolvimento*. Brasília, DF 4: 12-15.
- Rodrigues LR, Oliveira JMS, Mariath JEA 2004. Anatomia vegetal aplicada ao estudo de sistemas androgênicos *in vitro*. *Rev Bras Biocienc* 2: 159-167.
- Siegel S, Castellan NJ 1988. *Non parametric statistics for behavior and science*. 2 ed. New York: McJeaw-Book, 399.
- Silva AF 2000. Floresta Atlântica. In: Mendonça MP, Lins LV. *Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais*. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, p. 45-53.
- Vasconsuelo A, Boland R 2007. Molecular aspects of early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Scienc* 172: 861-875.
- Vieira S 1991. *Introdução à Bioestatística*. 2 ed. Rio de Janeiro: Campus, 203.