

**Avaliação de Atividades Biológicas em
Plantas da Região Amazônica para
Controle de Insetos**





ISSN 1516-4675
Dezembro, 2006

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de
Impacto Ambiental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa 42 e Desenvolvimento

Avaliação de Atividades Biológicas em Plantas da Região Amazônica para Controle de Insetos

Maria Lucia Saito
Murilo Fazolin
Aline H. N. Maia
Elena Y. O. Horiuchi

Jaguariúna, SP
2006

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP 340 - Km 127,5 - Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 - Cep.13820-000, Jaguariúna, SP
Fone: (19) 3867-8750
Fax: (19) 3867-8740
www.cnpma.embrapa.br
sac@cnpma.embrapa.br

Comitê de Editoração da Unidade

Presidente: Ladislau Araújo Skorupa

Secretário-Executivo: Sandro Freitas Nunes

Bibliotecário: Maria Amélia de Toledo Leme

Membros: Cláudio César de Almeida Buschinelli; Heloisa Ferreira Filizola;
Manoel Dornelas de Souza; Maria Conceição Peres Young Pessoa; Marta
Camargo de Assis; Osvaldo Machado R. Cabral

Normalização Bibliográfica: Maria Amélia de Toledo Leme

Editoração eletrônica: Silvana Cristina Teixeira Estevão

1ª edição eletrônica**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Avaliação de atividades biológicas em plantas da região amazônica
para controle de insetos / Maria Lúcia Saito, Murilo Fazolin, Aline
de Holanda Nunes Maia e Elena Y. O. Horiushi. – Jaguariúna:
Embrapa Meio Ambiente, 2006.
18p. – (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvol-
vimento; 42).

1. Inseticida de origem vegetal. 2. Praga- Controle. I. Saito, M.L.
II. Fazolin, M. III. Maia, A.de H.N. IV. Horiuchi, E.Y. V. Série.

CDD 632.960284

©Embrapa 2006

Sumário

Resumo.....	5
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Materiais e Métodos.....	9
Resultados.....	13
Discussões.....	15
Conclusão.....	17
Agradecimentos.....	17
Referências	17

Avaliação de Atividades Biológicas em Plantas da Região Amazônica para Controle de Insetos

*Maria Lucia Saito*¹

*Murilo Fazolin*²

*Aline H. N. Maia*³

*Elena Y. O. Horiuchi*⁴

Resumo

As moléculas de origem natural são consideradas importantes fontes de novos princípios ativos para o controle de pragas agrícolas, e o conhecimento de tais substâncias e de sua biossíntese, podem também trazer conhecimentos que possibilitem o desenvolvimento de cultivares resistentes a determinadas pragas, contribuindo para a diminuição do uso de agrotóxicos. O objetivo deste trabalho foi de identificar espécies vegetais nativas da região amazônica, que apresentem atividade contra alguns insetos-pragas da agricultura, utilizando *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*, pragas das culturas de milho e soja, respectivamente como organismos-teste. Para a triagem inicial os extratos foram preparados com etanol. Foram avaliados dois tipos de atividades: a tóxica, por ingestão, e a de inibição alimentar dos insetos. Dentre os 27 extratos analisados, os das folhas, caule e casca de *Geissospermum sericeum*, folhas de *Esenbeckia almawillia*, folhas e caules de *Vismia sandwithii*, fruto de *Hymenaea* sp e raiz de *Piper ottonoides* apresentaram os melhores resultados. Nas duas primeiras espécies foram detectados alcalóides e em *Vismia*, saponinas e taninos, que podem ser responsáveis pelas atividades. Os extratos das espécies *Esenbeckia* e Quinaquina foram fracionados e as frações indicaram a natureza dos componentes ativos.

Termos para indexação:

Controle de insetos, extratos de plantas, *Spodoptera frugiperda*, *Anticarsia gemmatalis*, plantas da Amazônia.

¹ Farmacêutica-Bioquímica, Doutora em Química Orgânica, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, Km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000, Jaguariúna, SP. saito@cnpma.embrapa.br.

² Agrônomo, Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia), Embrapa Acre, Rod. BR 364 km 14, Caixa Postal 321, 69908-970, Rio Branco, AC. murilo@cpafac.embrapa.br

³ Agrônoma, Doutora em Agronomia, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000, Jaguariúna, SP. ahmaia@cnpma.embrapa.br

⁴ Farmacêutica-Bioquímica, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000, Jaguariúna, SP. elena@cnpma.embrapa.br

Evaluation of Biological Activities in Plants of the Amazon Region for Control of Insects

Abstract

Compounds from nature are important sources of new active substances for pest control. The knowledge on these substances and their biosynthetic routes show new possibilities to develop pest resistant plants, contributing to the minor use of pesticides. In this paper the objective was to identify plant species from Amazon with activity on insect pests control, and *Spodoptera frugiperda* and *Anticarsia gemmatalis*, corn and soybean pests, respectively, were used as test-insects. In the first screening, the plants were extracted with ethanol. Two types of bioassay were applied: toxic and deterrent activities. The better result was get with *Esenbeckia almawillia*, *Geissospermum sericeum*, *Vismia sandwithii*, *Hymenaea sp*'s fruit and *Piper ottonoides*' roots. The first two species possess alkaloids and in *Vismia*, saponins and tannin were identified. These groups of substances can be responsible for the activities. The *Esenbeckia* and *Geissospermum* extracts were fractionated and some fractions showed the nature of the active components.

Index terms:

Insect control, plant extract, *Spodoptera frugiperda*, *Anticarsia gemmatalis*, amazonian plants.

Introdução

Nas últimas décadas, numerosas substâncias ativas que atuam no controle populacional de insetos têm sido identificadas em diversas espécies vegetais. A maioria dessas substâncias tem origem no metabolismo secundário das plantas e sua produção e efeitos sobre os insetos são considerados resultados da diversidade de associações entre as plantas e seus hospedeiros ao longo de suas histórias evolutivas.

Os efeitos dessas substâncias sobre os insetos podem ser variados, podendo, de um modo geral, serem classificados da seguinte forma: tóxicos, atraentes, repelentes, inibidores de crescimento e desenvolvimento, esterilizantes e deterrentes alimentares (JACOBSON, 1982). Na classe de compostos tóxicos podem ser citados os nitrogenados, como aminoácidos não protéicos, glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, alcalóides, peptídeos e proteínas; e os não nitrogenados, como os iridóides, lactonas sesquiterpênicas, glicosídeos cardiotônicos, saponinas, furanocumarinas, isoflavonóides, quinonas, poliacetilenos e aflatoxinas. Entre os compostos considerados atraentes podem ser listados diversos alcalóides, flavonóides, óleos essenciais, iridóides e cumarinas. O efeito repelente geralmente está associado a uma mistura de substâncias químicas, principalmente terpenóides de baixo peso molecular (HARBORNE 1993). Várias classes de compostos estão relacionadas com a deterrência, contudo os terpenóides, alcalóides e os flavonóides estão entre os de maior potencial (TRIPATHI & JAIN, 1993).

Como exemplos de substâncias já largamente conhecidas e utilizadas no controle populacional de insetos podem ser citadas as piretrinas, rotenonas, azadiractinas, avermectinas, hormônios juvenilizantes e precocenos.

Um dos primeiros passos a serem seguidos na pesquisa de substâncias com esse propósito é a escolha do método de seleção das espécies vegetais. Esta pode se dar de forma aleatória, por meio de observações de campo e da identificação de associações de interesse inseto/planta, ou por meio de considerações baseadas em afinidades taxonômicas com plantas reconhecidamente ativas, onde, a princípio, há uma chance maior que a aleatória de haver similaridades de rotas biossintéticas para determinados compostos. Seleções baseadas em levantamentos etnobotânicos em comunidades tradicionais podem se mostrar eficientes se bem conduzidas, uma vez que podem combinar as estratégias anteriores de forma a tornar o processo objetivo, com economia de tempo e de recursos.

De um modo geral, podem ser reconhecidas duas abordagens quanto à utilização de plantas/substâncias com atividades sobre os insetos. Na primeira delas a atividade é reconhecida, os compostos são isolados, identificados e posteriormente sintetizados em larga

escala. Nesse processo há a possibilidade de alterações químicas em grupos funcionais responsáveis pela atividade de forma a acentuar os efeitos desejados ou diminuir a toxicidade, quando houver. No segundo caso, uma vez identificada a atividade inseticida em alguma espécie vegetal, sua utilização se dá na forma de extrato vegetal bruto (TANG & YANG, 1988). A escolha da melhor abordagem está relacionada à complexidade das estruturas químicas das substâncias envolvidas que viabilizará ou não sua síntese, bem como de considerações de ordens econômicas e tecnológicas.

Para a identificação da atividade, os testes são geralmente feitos nos organismos-alvo. No caso de insetos, esses ensaios podem ser inicialmente conduzidos em indivíduos adultos, nas lagartas ou nos ovos, tanto *in vitro* como nas casas de vegetação. Existe também a possibilidade de testar os extratos em enzimas que atuam em sistemas biológicos importantes dos organismos. Esse último tipo de ensaio é mais simples, apresenta resposta mais rápida, podendo ser aplicado a grande número de extratos concomitantemente, porém, os resultados devem ser confirmados no organismo vivo, devido à possibilidade de alteração na resposta, quando diferentes sistemas enzimáticos são envolvidos. Outra desvantagem do método enzimático, é que os compostos podem agir em sistemas diferentes ao daquele testado, correndo o risco de descartar extratos com atividade.

Para a separação e identificação do componente ativo, são realizados fracionamentos monitorados por bioensaios, ou seja, uma vez identificada a bioatividade, as plantas são extraídas com solventes de polaridades diferentes, e os extratos novamente avaliados quanto à atividade, para verificar em que fração se encontram os componentes ativos. O extrato que apresentar atividade é fracionado por métodos cromatográficos, e as frações são novamente avaliadas, até conhecer aquela onde se encontram os princípios ativos. A identificação da substância purificada se faz através de informações obtidas do conjunto de diversas análises espectrométricas, como ultravioleta, infravermelho, ressonância magnética nuclear protônica e de carbono 13, e espectroscopia de massa.

A pesquisa de substâncias ativas derivadas de plantas no Brasil ainda é muito insipiente. Até o início da década de 80 era estimado que menos de um por cento das espécies da flora brasileira eram conhecidas quanto aos seus constituintes químicos (GOTTLIEB & MORS, 1980). Mesmo considerando ter havido incrementos significativos a partir desse percentual nas últimas duas décadas, há, evidentemente, uma grande lacuna de conhecimento da nossa flora a ser preenchida. Nesse sentido, desenvolver ensaios, isolar, caracterizar e finalmente sintetizar ou biossintetizar compostos de interesse no controle de insetos torna-se um desafio constante (SHAPIRO, 1991).

Neste trabalho, o nosso objetivo foi de identificar, por meio de bioensaios, espécies vegetais nativas da região do Acre, com potencial para controlar insetos-pragas, utilizando para tanto,

as espécies *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatilis* como insetos-testes, e identificar o grupo de substâncias responsáveis por algumas dessas atividades.

Materiais e métodos

O material botânico foi coletado na Reserva Chico Mendes, no Estado do Acre. Exsicatas de referência das amostras estão depositadas no Herbário IAN- Belém - Pará. As exsicatas de *Geissospermum*, *Hymenaea* e *Esenbeckia* (Figs. 1, 2 e 3,) estão depositadas no Herbário do Instituto de Biologia da UNICAMP na cidade de Campinas, Estado de São Paulo.

Foto: Maria Lucia Saito

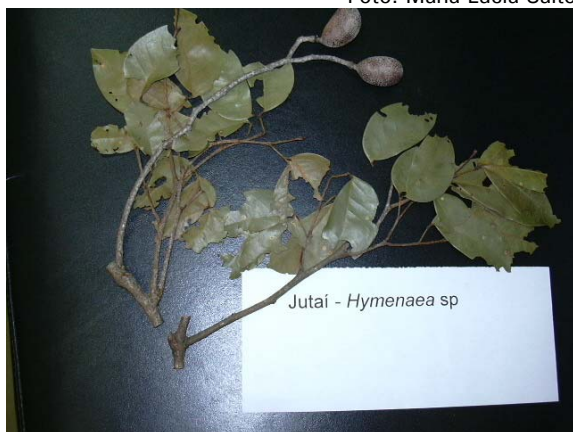


Fig 1. Exsicata de jutaí – *Hymenaea* sp.

Foto: Maria Lucia Saito



Fig. 2. Exsicata de *Geissospermum sericeum*.

Foto: Maria Lucia Saito



Fig. 3. Exsicata de *Esenbeckia almawillia*.

A metodologia para o estudo químico das plantas consistiu na preparação de extratos etanólicos, utilizando a técnica da percolação, descrita na Farmacopéia Brasileira (2ª e 3ª ed.). Cada parte da planta foi seca em estufa com circulação de ar, à temperatura aproximada de 45°C, moída em moinho tipo de facas até obtenção de pó com granulometria adequada e extraída até o esgotamento. Os extratos foram concentrados em evaporador rotatório a baixa pressão, e temperatura aproximada de 50 °C, para eliminar totalmente o solvente.

No total foram extraídas e analisadas 9 espécies de plantas (Tabela 1), adicionadas das variedades de duas das espécies. Separadas em partes como folha, caule, casca, fruto ou raiz, foram analisados 27 extratos brutos, quanto à atividade tóxica e de inibição alimentar nas lagartas dos insetos *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatallis*, praga do milho e da soja, respectivamente. Nos extratos das amostras que apresentaram bioatividade foram realizados testes químicos de identificação de grupos de substâncias. Este teste é útil para o direcionamento das etapas de fracionamentos e separação dos princípios ativos.

Tabela 1. Relação das plantas estudadas.

Planta	Família	Nome pop	parte
<i>Antonia ovata</i> Pohl	Loganiaceae		Folha
<i>Borreria latifolia</i> (Aubl.) K. Schum.	Rubiaceae	Ninho-de-porca	Folha
<i>Borreria latifolia</i> (Aubl.) K. Schum.	Rubiaceae	Ninho-de-porca	Caule
<i>Costus guianensis</i> ^A Rusby	Zingiberaceae	Cana-de-macaco	Caule
<i>Costus guianensis</i> ^A Rusby	Zingiberaceae	Cana-de-macaco	Flores
<i>Costus guianensis</i> ^B Rusby	Zingiberaceae	Cana-de-macaco	Folha
<i>Costus guianensis</i> ^A Rusby	Zingiberaceae	Cana-de-macaco	Folha
<i>Costus guianensis</i> ^B Rusby	Zingiberaceae	Cana-de-macaco	Caule
<i>Esenbeckia almawillia</i> Kaastra	Rutaceae	Café-Branco	Folha
<i>Esenbeckia almawillia</i> Kaastra	Rutaceae	Café-Branco	Caule
<i>Hymenaea</i> sp	Caesalpiniaceae	Jutaí	Folha
<i>Hymenaea</i> sp	Caesalpiniaceae	Jutaí	Caule
<i>Hymenaea</i> sp	Caesalpiniaceae	Jutaí	Casca
<i>Hymenaea</i> sp	Caesalpiniaceae	Jutaí	Fruto
<i>Palicourea rígida</i> Kunth	Rubiaceae		Folha
<i>Piper ottonoides</i> Yunck	Piperaceae	João Brandin	Folha
<i>Piper ottonoides</i> Yunck	Piperaceae	João Brandin	Caule
<i>Piper ottonoides</i> Yunck	Piperaceae	João Brandin	Raiz
<i>Geissospermum sericeum</i> Benth. And Hook.f. ex Miers	Apocynaceae	Quinaquina	Folha
<i>Geissospermum sericeum</i> Benth. And Hook.f. ex Miers	Apocynaceae	Quinaquina	Casca
<i>Geissospermum sericeum</i> Benth. And Hook.f. ex Miers	Apocynaceae	Quinaquina	Caule
<i>Vismia sandwithii</i> ^C Ewan	Guttiferae	Lacre	Folha
<i>Vismia sandwithii</i> ^C Ewan	Guttiferae	Lacre	Caule
<i>Vismia sandwithii</i> ^D Ewan	Guttiferae	Lacre	Folha
<i>Vismia sandwithii</i> ^D Ewan	Guttiferae	Lacre	Caule

^A Variedade flores brancas. ^B Variedade flores roxas. ^C Variedade folhas estreitas. ^D Variedade folhas largas.
Obs.: As Espécies identificadas como sp ainda estão aguardando identificação.

Para a triagem inicial de atividades, pequenas quantidades do extrato concentrado foram ressuspendidas em solução aquosa com auxílio do tensoativo tween para obter uma suspensão com concentração correspondente a 5% da planta seca. Essas suspensões foram utilizadas nos bioensaios. Os testes de atividade tóxica foram executados com lagartas no terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis* da criação mantida pelo laboratório de Entomologia da Embrapa Meio Ambiente. Os experimentos para cada extrato foram montados com 50 repetições que foram agrupadas em 5 blocos de 10 lagartas. As suspensões dos extratos foram aplicadas na quantidade de 3 µl sobre os discos das dietas fornecidas para cada lagarta individualmente. Durante 48 horas, continuou-se com essa aplicação sempre que houve necessidade de fornecimento de dieta adicional. Depois desse tempo, administrou-se dieta sem aditivos. Foram estabelecidos também um grupo controle com 50 lagartas (também divididas em 5 grupos) e um grupo controle do solvente com a solução a 5% de tween. O ensaio foi acompanhado com leituras a cada 2 dias até a transformação das lagartas em insetos adultos. Os resultados foram corrigidos com a aplicação da fórmula de Abbott (1925): $[(X - Y)/X] \times 100 = \% \text{ mortos na amostra}$ ($X = \% \text{ vivos no controle}$, $Y = \% \text{ vivos na amostra}$). Os resultados acima de 40% de mortalidade são considerados promissores; porém, devido ao desconhecimento das concentrações dos princípios ativos nas plantas, alguns resultados inferiores também foram considerados a princípio, para a seleção das plantas.

Para o teste de deterrência, foram utilizadas lagartas no 5º ínstar, e a unidade experimental foi constituída inicialmente com 50 placas de Petri de 10 cm de diâmetro contendo uma lagarta em cada placa, onde foram também colocados 6 discos de folhas de milho ou soja, de acordo com a espécie estudada, intercalando discos tratados e não tratados com o extrato (Fig. 4).

Foto: Maria Lucia Saito

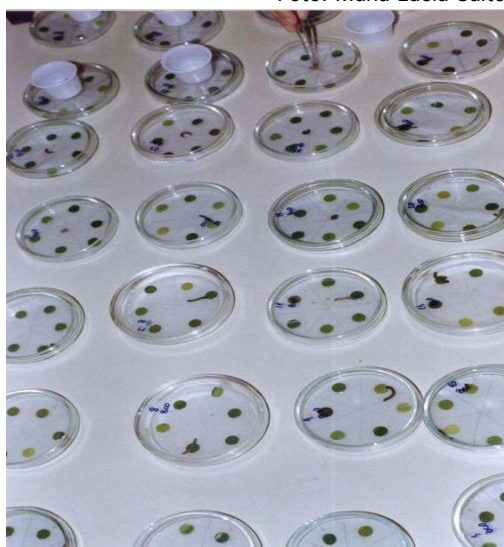


Fig. 4. Bioensaio de deterrência alimentar em lagartas de *Spodoptera frugiperda*.

Para cada extrato foi repetido este procedimento, e o mesmo foi repetido também para o solvente utilizado para dissolver os extratos. Após duas horas, os discos foram retirados e procedida a medida de sua área foliar, para a verificação do consumo, em aparelho marca Licor, com precisão de 0,01 cm². Para a análise comparativa dos dados, foi utilizado o índice de inibição alimentar baseado na equação (SIMMONDS et al., 1987):

$$I = (Ac - At) / (Ac + At)$$

onde

Ac = Área consumida do disco controle

At = Área consumida do disco tratado

O resultado positivo indica que o disco com a amostra foi menos consumido que o disco controle. Os índices foram calculados com o resultado da média das 50 leituras de cada amostra. Os valores acima de 0,50 são considerados índices significativos de inibição alimentar, e índices acima de 0,90 são altamente eficientes como deterrente alimentar (SIMMONDS et al., 1987).

Para a etapa de fracionamento foram extraídas maior quantidade das folhas e caules das plantas Quinaquina e Esenbeckia, também por percolação, com etanol. Eliminado o solvente extrator, o concentrado foi fracionado através de coluna de silicagel 60 com 0,063 – 0,200 mesh, da Merck, com seqüência de solvente em ordem crescente de polaridade (Fig. 5). Após a primeira coluna, que foi mais grosseira devido a complexidade da mistura, foram realizados bioensaios com as frações que apresentaram maiores massas.

Foto: Maria Lucia Saito



Fig. 5. Coluna de sílica para fracionamento dos extratos.

As frações que indicaram atividade foram novamente fracionadas por coluna de silicagel, visando maior purificação da amostra.

Resultados

Os resultados dos bioensaios estão apresentados na Tabela 2 e a Tabela 3 apresenta os resultados obtidos nos testes químicos de identificação de grupos de substâncias.

Tabela 2. Resultados dos bioensaios efetuados nos extratos brutos das plantas estudadas.

Planta	Órgão vegetal	Sf	Tox % #	Ag	Sf	Deter	Ag
<i>Geissospermum</i>	Folha	0		2	0,47		0,19
<i>Geissospermum</i>	Casca	0		0	0,43		-
<i>Geissospermum</i>	Caule	0		4	0,26		0,517
<i>Esenbeckia almawillia</i>	Folha	2		0	-		-
<i>Esenbeckia almawillia</i>	Caule	2		0	-		-
<i>Esenbeckia</i> (am2)	Folha	-		-	0,56		0,24
<i>Esenbeckia</i> (am2)	Caule	-		-	0,25		0,18
<i>Hymenaea</i>	Folha	10,1		-	-0,16		-
<i>Hymenaea</i>	Caule	6,5		-	-0,01		-
<i>Hymenaea</i>	Casca	4		4	0,20		-
<i>Hymenaea</i>	Fruto	39,1		-	0,006		-
<i>Antonia ovata</i>	Folha	6		0	0,30		-
<i>Palicourea rigida</i>	Folha	2		0	-0,24		-
<i>Borreria</i>	folha	6		0	-0,21		-0,22
<i>Borreria</i>	Caule	6		0	0,25		0,38
<i>Vismia sandwithii</i> ^D	Folha	0		-	-0,05		0,61
<i>Vismia sandwithii</i> ^D	Caule	2		2	-0,30		0,05
<i>Vismia sandwithii</i> ^C	Folha	2,2		10	0,52		0,51
<i>Vismia sandwithii</i> ^C	caule	2		20	0,30		0,74
<i>Costus guianensis</i> ^A	Folha	2		10	0,56		0,52
<i>Costus guianensis</i> ^A	Caule	2		16	0,05		0,01
<i>Costus guianensis</i> ^A	Flores	2		2	-		-
<i>Costus guianensis</i> ^B	Folha	0		20	0,25		0,55
<i>Costus guianensis</i> ^B	Caule	0		10	0,05		0,16
<i>Piper ottonoides</i>	Folha	4		12	0,23		0,23
<i>Piper ottonoides</i>	Caule	6		22	0,22		-
<i>Piper ottonoides</i>	Raiz	52		-	0,44		-

Sf = *Spodoptera frugiperda*, Ag = *Anticarsia gemmatilis*, Tox = ensaio de toxicidade e deter = deterrência.

^A Variedade flores brancas. ^B Variedade flores roxas. ^C Variedade folhas estreitas. ^D Variedade folhas largas. - Não avaliado. (am 2 = segunda coleta: em outra época); # Mortalidade corrigida pela fórmula de *Abbott* (1925).

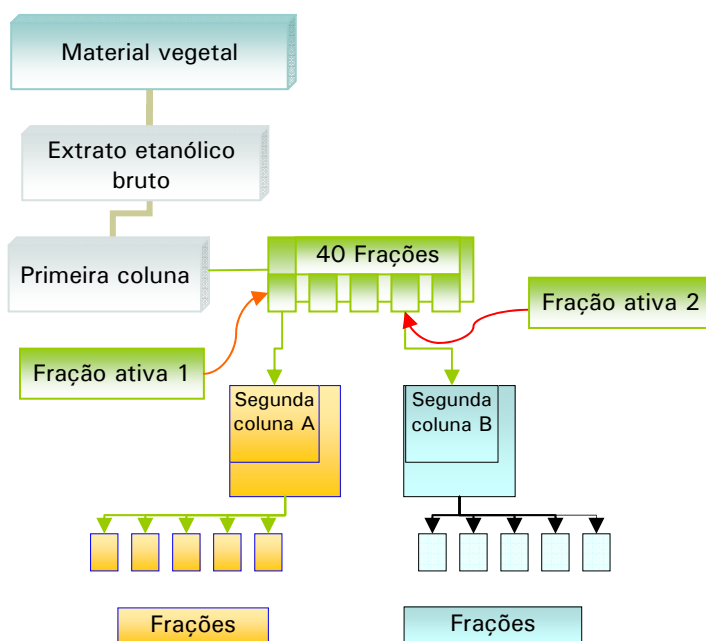
Tabela 3. Grupo de substâncias identificadas nas amostras mais ativas.

Espécie	Nº amostra	Órgão vegetal	Alcalóide	Flavonóide	Tanino	Saponina
<i>Geissospermum</i>	18/04	Folha	++	+	++	-
<i>Geissospermum</i>	17/04	Caule	+	-	-	-
<i>Geissospermum</i>	16/04	Casca	++	-	-	++
<i>Esenbeckia</i>	25/04	Folha	++	-	-	-
<i>Esenbeckia</i>	26/04	Caule	++	-	-	-
<i>Vismia</i>	29/04	Folha	-	-	+	+
<i>Vismia</i>	30/04	Caule	-	-	+	+
<i>Antonia ovata</i>	14/04	Folha	-	+	+	+-
<i>Esenbeckia</i>	02/04	Folha	++	-	-	+
<i>Esenbeckia</i>	04/04	Caule	++	-	-	-

+ presença (Nº de sinais indica intensidade da reação); - ausência; +- reação duvidosa.

Nos testes toxicológicos realizados, a mortalidade observada na maioria dos extratos foi muito baixa, e esse tipo de ensaio não teve continuidade. Os resultados mais promissores foram obtidos com os testes de atividade de inibição alimentar utilizando-se os extratos de folhas e caules da espécie *Geissospermum sericeum*, folhas de *Esenbeckia almawillia*, folhas e caules de *Vismia sandwithii* variedade folha estreita.

Dos materiais promissores identificados na Tabela 2, as espécies de *Esenbeckia* e Quinaquina foram extraídas em maior quantidade, para possibilitar os trabalhos de fracionamento e separação dos princípios ativos. No fracionamento foram obtidas cerca de 40 frações de cada extrato, e as frações que apresentaram quantidade de massa suficiente para estudos foram submetidas aos bioensaios. Dessas, as que apresentaram maior atividade foram novamente passadas em coluna de sílica para purificação (coluna II) (Fig. 6).

**Fig. 6.** Esquema de fracionamento.

Os resultados dos bioensaios com as frações obtidas dos extratos de *Geissospermum* e *Esenbeckia* estão sumarizados na Tabela 4. Os resultados foram analisados por ANOVA e aplicado teste t (MONTGOMERY, 1991).

Tabela 4. Estimativas de índices de deterrência (ID), com os respectivos erros-padrão.

Amostra (fração)	Índice I	Erro padrão	t
A (bruto)	0.49	0.1983	<0.0161
A (I) (Ac Et 3*)	0.36	0.1303	0.0213
A (I) (Ac Et 6*)	0.30	0.1303	0.0480
A (I) (MeOH)	-0.56	0.1303	0.0020
B (I) AcEt	-0.05	0.0931	0.6132
B (II) AcEt MetOH 16*	0.12	0.0931	0.0568
B (II) MetOH 27*	-0.24	0.0931	0.0196
B (I) alcalóides bruto	0.14	0.2605	0.6030
B (II) alcalóides bruto	0.38	0.0931	0.0007
C bruto	0.62	0.1758	0.0010
C (I) Ac Et Fr 07*	0.82	0.2605	0.0120
C (I) Ac Et + MeOH Fr 2*	0.06	0.2605	0.8314
C (I) MeOH 1*	-0.10	0.2605	0.6994
D bruto	0.26	0.1758	0.1425

Valores p associados ao teste t para a hipótese ID=0.

Amostra A = *Geissospermum* folha, B = *Geissospermum* casca e C = *Esenbeckia* folha, D = *Esenb* . casca. (I) = 1ª coluna e (II) = 2ª coluna

Ac Et = acetato de etila; MeOH = metanol; *os números correspondem à seqüência da fração.

Discussões

Os bioensaios para atividade inseticida (tóxica) não foi significativa para as espécies estudadas, mas foram observadas atividade de inibição da alimentação em três das espécies estudadas: *Esenbeckia almawillia*, *Vismia sandwithii* e *Geissospermum sericeum*. Dessas, foram escolhidas para fracionamento nesta etapa dos trabalhos, as espécies de *Esenbeckia* e *Geissospermum*.

Informações obtidas de levantamentos bibliográficos mostram que espécies do gênero *Esenbeckia* (Rutaceae) são ricas em alcalóides (GUILHON et al., 1994), nas quais também foram identificadas cumarinas (OLIVEIRA et al., 1996). Em espécies deste gênero foram identificadas as atividades fitotóxica, antifúngica, de inibição alimentar e inibição de

crescimento em pragas agrícolas; também neste gênero existe menção a atividade antimalárica (CARVALHO & KRETTLI, 1991).

O nome popular “Quina” é utilizado pela população para plantas com atividade contra malária e a denominação popular Quinaquina sugere atividade antimalárica nessa planta. Os testes de triagem química de substâncias nesta espécie indicam presença de alcalóides. Nesta espécie já foram identificados os alcalóides indólicos geissospermina (MANSKE & HARRISON, 1965), geissosquizolina, geissosquizolina N1-óxido e 1,2 deidrogeissosquizolina (STEELE et al., 2002).

No gênero *Vismia*, os grupos de substâncias encontradas comumente são quinonas e antraquinonas (SEO, 2000). Em espécies deste gênero foram relatadas atividades anticancer, antitumoral, hipoglicêmica, atividade contra o parasita *Plasmodium falciparum* (causadora da malária), e inibidora de alimentação de insetos (HUSSEIN et al., 2003; MONACELLI et al., 1997).

Os testes químicos de identificação de grupos de substâncias confirmam a presença dos grupos de substâncias indicadas nos levantamentos, o que reforça a importância de estudar melhor essas espécies.

No presente estudo, verificou-se que a atividade de inibição alimentar observada nos extratos de folha da espécie *Esenbeckia almawillia* estava presente em frações menos polares (clorofórmio e acetato de etila), e seus alcalóides tinham atividade muito fraca, indicando que o princípio ativo deve pertencer a outro grupo de substâncias; na folha e casca de *Geissospermum* a atividade era mais pronunciada nas frações mais polares (metanol), e os alcalóides apresentaram atividade, indicando que o princípio ativo é um alcalóide, que deverá ser identificado através de técnicas espectroscópicas. Quanto aos bioensaios com os alcalóides da casca de *Geissospermum* observa-se ainda que a atividade aumentou após a purificação (Tabela 4). No extrato de folha de *Geissospermum*, houve ligeiro decréscimo de atividade após a purificação. Supõe-se que possa haver atividade sinérgica dos vários componentes dos extratos, e, neste caso, a atividade é atribuída a um conjunto de substâncias.

As outras espécies que indicaram atividade promissora, como a *Vismia*, raiz de *Piper ottonóides* e fruto de jutaí (*Himenaëa*) deverão ser estudadas em futuro projeto.

Conclusões

As espécies *Esenbeckia*, *Vismia* sp e *Geissospermum* apresentaram interessante atividade de inibição alimentar nas lagartas dos insetos *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*, utilizadas como insetos-testes neste trabalho. Em *Esenbeckia*, a fração do extrato responsável pela atividade foram substâncias com polaridade intermediária, não alcalóidica. A espécie *Geissospermum*, tanto o caule como as folhas apresentaram essa atividade em frações mais polares, hidrossolúveis, e seus alcalóides apresentaram atividade.

Agradecimentos

Ao Dr. Ladislau Skorupa, pela identificação das espécies *Esenbeckia almawillia* e *Geissospermum sericeum*.

Ao Laboratório de Entomologia da Embrapa Meio Ambiente, pelo fornecimento das lagartas dos insetos.

Aos técnicos José Roberto da Silva, Marisa P. C. do Nascimento e Gino Vitório Zambon, pela colaboração nos bioensaios realizados.

Referências

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.

CARVALHO, L.H.; KRETTLI, A.U. Antimalarial chemotherapy with natural products and chemically defined molecules. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.6, Suppl. II, p.181-184, 1991.

FARMACOPEIA brasileira. 3. ed. São Paulo: Organização Andrei, 1977.

FARMACOPEIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, 1959. 1265p.

GOTTLIEB, O.R.; MORS, W.B. Potential utilization of Brazilian wood extractives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.28, n.2, p.196-215, 1980.

GUILHON, G.M.S.P.; BAETAS, A.C.S.; MAIA, J.G.S.; CONSERVA, L.M. 2-Alkyl-4-quinolone alkaloids and cinnamic acid derivatives from [stem bark of] *Esenbeckia almawillia*. **Phytochemistry**, v.37, n.4, p.1193-1195, 1994.

HARBORNE, J.B. **Introduction to ecological biochemistry**. Cambridge: Academic Press, 1993.

HUSSEIN, A.A.; BOZZI, B.; CORREA, M.; CAPSON, T.L.; KURSAR, T.A.; COLEY, P.D.; SOLIS, P.N.; GUPTA, M.P. Bioactive constituents from three *Vismia* species. **Journal of Natural Products**, v.66, n.6, p.858-860, 2003.

JACOBSON, M. Plants, insects, and man: Their interrelationships. **Economic Botany**, v.36, n.3, p.346-354, 1982.

MANSKE, R.H.F.; HARRISSON, W.A. **The alkaloids**, v.8, p.679-691, 1965.

MONACELLI, B.; PASQUA, G.; RASCIO, N.; BOTTA, B.; DELLE MONACHE, G.; VITALI, A.; CHIAPPETA, A. The cellular distribution of antifeedant prenylated anthranoids in the tissues of *Vismia guianensis* during development. **Protoplasma**, v.198, n.3-4, p.170-176, 1997.

MONTGOMERY, D.C. **Design and analysis of experiments**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 1991. 672p.

OLIVEIRA, F.M.; SANT'ANA, A.E.G.; CONSERVA, L.M.; MAIA, J.G.S.; GUILHON, G.M.P.. Alkaloids and coumarins from *Esenbeckia* species. **Phytochemistry**, v.41, n.2, p.647-649, 1996.

SEO, E.K.; WANI, M. C.; WALL, M. E.; NAVARRO, H.; MUKHERJEE, R.; FARNSWORTH, N.R.; KINGHORN, A.D. New bioactive aromatic compounds from *Vismia guianensis*. **Phytochemistry**, v.55, n.1, p.35-42, 2000.

SHAPIRO, J.P. Phytochemicals at the plant-insect interface. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v.17, p.191-200, 1991.

SIMMONDS, M.S.J.; BLANEY, W.M.; LEY, S.V.; SAVONA, G.; BRUNO, M.; RODRIGUEZ, B. The antifeedant activity of clerodane diterpenoids from *Teucrium*. **Phytochemistry**, v.28, n.4, p.1069-1071, 1987.

STEELE, J.C.P.; VEITCH, N.C.; KITE, G.C.; SIMMONDS, M.S.J.; WARHURST, D. Indole and β -carboline alkaloids from *Geissospermum sericeum*. **Journal of Natural Products**, v.65, n.1, p.85-88, 2002.

TANG, C.S.; YANG, R.Z. Plants used for pest control in China: a literature review. **Economic Botany**, v.42, n.3, p.376-406, 1988.

TRIPATHI, A.K.; JAIN, D.C. Potential of natural products as insect antifeedants. **Phytotherapy Research**, v.7, p.327-334, 1993.

Embrapa

Meio Ambiente

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

