

**UNIVERSIDADE PARA O DESENVOLVIMENTO DO ESTADO E DA REGIÃO
DO PANTANAL – UNIDERP**

ELISÂNGELA MANIERI

**AVALIAÇÃO DE PLANTAS DO PANTANAL COM AÇÃO INSETISTÁTICA
PARA *Sitophilus zeamais***

**Campo Grande - MS
2008**

ELISÂNGELA MANIERI

**AVALIAÇÃO DE PLANTAS DO PANTANAL COM AÇÃO INSETISTÁTICA
PARA *Sitophilus zeamais***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em nível de Mestrado Acadêmico em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal – UNIDERP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional.

Orientação:
Prof. Dr. Silvio Favero
Prof. Dr. Eron Brum
Prof. Dr. Ademir Kleber M. de Oliveira

**Campo Grande – MS
2008**

FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidata: **Elisângela Manieri**

Dissertação defendida e aprovada em 10 de julho de 2008 pela Banca Examinadora:

Prof. Doutor **Silvio Favero (Orientador)**
Doutor em Entomologia

Prof. Doutor **Márcio do Nascimento Ferreira (UFMT)**
Doutor em Entomologia

Profa. Doutora **Denise Renata Pedrinho (UNIDERP)**
Doutora em Agronomia

Prof. Doutor **Silvio Favero**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional

Prof. Doutor **Raimundo Martins Filho**
Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação da UNIDERP

Dedico este trabalho a Deus, a meus pais e ao meu esposo, que em todos os momentos estiveram sempre ao meu lado, nunca deixando faltar amor, compreensão e apoio, mesmo na hora em que nossos ideais pareciam impossíveis.

AMO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção e luz, concedendo saúde e fortalecendo-me nos momentos mais difíceis.

A meus pais, Cláudio e Cida, sinônimos de bondade, amizade, segurança e amor, pois muitos foram os sacrifícios e privações que fizeram para que eu pudesse chegar até aqui. Vocês são tudo em minha vida!

Ao meu esposo Cleiton, pelas tardes em que deixou de descansar para me oferecer sua preciosa ajuda, pela compreensão e amor. Amo-te muito!

Aos professores, que muito contribuíram com atenção, orientação, transmissão de conhecimentos e amizade.

Ao professor e orientador Silvio Favero e Cintia de Oliveira Conte, pela dedicação, compreensão, incentivo, amizade e enorme colaboração na realização deste trabalho.

A professora Rosemary Matias, por toda orientação e imensa ajuda nas análises fitoquímicas que enriqueceram de forma imensurável este trabalho.

Aos professores Ademir Kleber M. de Oliveira, Eron Brum, Vera Lúcia Ramos Bononi e Celso Correia de Souza pela orientação, sugestões e ajuda na correção deste trabalho.

A UNIDERP, pela contribuição para o meu desenvolvimento profissional e realização deste trabalho.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em Ensino Superior), pela bolsa concedida.

A Lara Pedotti Striquer, pela ajuda nas análises fitoquímicas.

Aos técnicos de laboratório Rodrigo, Karen, Márcia e Sueli, pela valiosa contribuição.

A todos os colegas, por esses agradáveis anos de convivência que contribuíram de maneira direta em minha formação, enriquecendo-a com suas experiências e conhecimentos.

A todos os funcionários do mestrado, pela amizade, compreensão e atenção.

Quaisquer palavras seriam insuficientes para expressar todo o meu carinho e reconhecimento.

Terão sempre o meu agradecimento!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE QUADROS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 GORGULHO-DO-MILHO.....	4
2.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E PLANTAS INSETICIDAS.....	5
2.3 AS PLANTAS UTILIZADAS.....	8
2.3.1 <i>Protium heptaphyllum</i> March. (Burseraceae).....	8
2.3.2 <i>Sapium haematospermum</i> (Müll. Arg.) Hub. (Euphorbiaceae).....	9
2.3.3 <i>Ocotea diospyrifolia</i> (Meisn.) Mez (Lauraceae).....	9
2.3.4 <i>Coccoloba ochreolata</i> Wedd. (Polygonaceae).....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 OBTENÇÃO DE EXTRATOS E CRIAÇÃO DE INSETOS.....	12
3.2 TESTE DE PROTEÇÃO.....	13
3.3 TESTE DE REPELÊNCIA.....	13
3.4 TESTE AÇÃO TÓXICA TÓPICA AGUDA.....	15
3.5 PREPARO DO MATERIAL VEGETAL PARA A ANÁLISE FITOQUÍMICA.....	15
3.6 TRIAGEM FITOQUÍMICA.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 TRIAGEM FITOQUÍMICA.....	17
4.2 PROTEÇÃO.....	19
4.3 REPELÊNCIA.....	20
4.4 AÇÃO TÓXICA TÓPICA AGUDA.....	21
5. CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gorgulho-do-milho.....	4
Figura 2. Tubo de vidro onde foi realizado o teste de proteção.....	13
Figura 3. Placa de Petri onde foi realizado o teste de repelência.....	14
Figura 4. Placas de Petri onde foi realizado o teste de ação tóxica tópica aguda.....	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Porcentagem de insetos mortos no Teste de Proteção durante 24, 48 e 72 horas no laboratório de Entomologia – UNIDERP.....	20
Tabela 2. Comparação entre as médias das plantas de acordo com os métodos de extração.....	21
Tabela 3. Porcentagem dos insetos mortos no Teste de Ação Tóxica Tópica Aguda utilizando extratos de quatro espécies vegetais do Pantanal em concentrações de 0,125; 0,094; 0,062 e 0,031g/ml no laboratório de Entomologia – UNIDERP.....	22

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Resultados obtidos nas análises fitoquímicas mostrando a composição dos metabólitos secundários das plantas utilizadas nos bioensaios.....	17
--	----

RESUMO

O uso de inseticidas sintéticos, por serem mais persistentes no ambiente, causa impactos prejudiciais ao homem e ao ambiente. Por isso estão sendo desenvolvidas pesquisas à procura de soluções alternativas e os produtos naturais de origem vegetal vêm sendo intensivamente investigados como uma fonte de solução em potencial. Neste trabalho, foram avaliadas a ação tóxica, repelente e de proteção de extratos etanólicos de *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Sapium haemospermum* (Euphorbiaceae), *Ocotea diospyrifolia* (Lauraceae) e *Coccoloba ochreolata* (Polygonaceae) sobre o gorgulho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Os extratos utilizados nos bioensaios foram obtidos utilizando-se dois métodos de extração: à frio utilizando o aparelho sonicador (Unique 1450[®], Modelo Ultrasonic Cleaner) e à quente com o auxílio do Extrator Soxhlet, sendo desenvolvidos no laboratório de Entomologia da UNIDERP. Os resultados, apesar de exibirem valores baixos de toxicidade tóxica, sugerem que os extratos etanólicos de *P. heptaphyllum*, *S. haemospermum*, *O. diospyrifolia* e *C. ochreolata* são promissores no controle de *S. zeamais* por repelência, oferecendo como vantagem baixo impacto ambiental.

PALAVRAS-CHAVE: Bioprospecção, controle de pragas, inseticida natural, entonobotânica

ABSTRACT

The synthetic insecticides are more persistent in the environment and cause harmful effects to humans and the environment. So are being developed searches looking for alternative solutions and natural products of plant origin are being intensively investigated as a source of solution in potential. In this assay, were assessed the toxic action, repellent and protective of ethanolic extracts of *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Sapium haemospermum* (Euphorbiaceae), *Ocotea diospyrifolia* (Lauraceae) and *Coccoloba ochreolata* (Polygonaceae) on the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) . Ethanolic Extracts (Cold extraction: by Unique 1450[®], Model Ultrasonic Cleaner and by Extractor Soxhlet), were obtained for the tests. The results suggest that the extracts of *P. heptaphyllum*, *S. haemospermum*, *O. Diospyrifolia* and *C. ochreolata* are promising in control of *S. zeamais* by repellence, offering advantages such as low environmental impact.

KEY WORDS: bioprospection, pest control, botanic insecticide, ethnobotanic

1 INTRODUÇÃO

Os cereais são considerados, mundialmente, como as espécies vegetais mais importantes para a alimentação dos seres humanos e animais domésticos. Por isso, seu armazenamento por longos períodos de tempo é essencial para dispor-se de alimento de forma constante (SILVA-AGUAYO *et al.*, 2005).

É fundamental na armazenagem de grãos, ter em mente que ele é o organismo mais importante, pois é um organismo vivo que se encontra em estágio de aparente hibernação. Desta maneira, os cereais e seus derivados deverão estar livres de impurezas e produtos estranhos, não devendo apresentar-se alterados ou contaminados por insetos, fungos ou parasitas, que causam danos na quantidade e na qualidade dos grãos (FERREIRA, 1994).

O controle de organismos nocivos aos grãos é um fator limitante e resulta no aumento do custo de produção, trazendo problemas tanto para o produtor quanto para o consumidor e o ambiente (ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2001).

Os insetos são as principais pragas que atacam os grãos e produtos armazenados provocando grandes perdas. Dentre essas pragas destaca-se o gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* como a mais prejudicial, pois além de roer os grãos e se alimentar de seu conteúdo interno, abre portas aos ataques de outros insetos e microorganismos nocivos e o ataque destes organismos causam, aproximadamente, 40% de perdas nos grãos armazenados (GALLO, 2002). Visto que, praticamente um terço da população do mundo vive em estado de subnutrição e centenas de milhões de pessoas passam fome, é fácil concluir o quanto representa, para a humanidade, a prevenção e o combate a tais pragas (BRANDÃO, 1989).

O controle desses insetos tem sido realizado em larga escala por meio de produtos químicos. Mas, muitas vezes os inseticidas, além de não atingirem os parâmetros de controle esperados, causam problemas ainda maiores tais como: surgimento de pragas secundárias, resistência aos inseticidas e ressurgimento de insetos com maior intensidade, o que força a utilização de dosagens muito acima

das indicadas e aplicações em espaços de tempo menores entre si (CAVEIRO, 1998).

Pesquisas atuais e o conhecimento dos efeitos indesejáveis do uso indiscriminado desses produtos, associado à preocupação dos consumidores quanto à qualidade de alimentos, têm incentivado estudos sobre novas técnicas de controle. Plantas com ação inseticida têm sido utilizadas como método alternativo de controle por meio de produtos com formulação em pó, óleos e extratos contra as principais pragas que ocorrem em produtos armazenados (ESTRELA *et al.*, 2006).

A utilização de inseticidas pode também acarretar a aniquilação de inimigos naturais das pragas ou de espécies com potencial de praga; assim, sem o controle natural, a população original de pragas pode atingir números nunca antes vistos (BULL; HATHAWAY, 1986).

Além disso, casos agudos de intoxicações são freqüentemente observados e relatados, principalmente em trabalhadores rurais. Por outro lado, os resíduos liberados no ambiente ou remanescentes nas culturas são progressivamente transferidos para os alimentos e para o homem e esta exposição continuada, por período longo, a níveis relativamente baixos, pode afetar a saúde humana, levando a casos extremamente graves (RUEGG *et al.*, 1986).

Os estudos têm comprovado que, a longo prazo, os métodos clássicos de controle de pragas acabam sendo prejudiciais ao próprio agricultor que os utiliza. Os pesticidas sintéticos, por serem mais persistentes no ambiente e menos seletivos, causam maiores problemas ao ecossistema, provocando alterações na biodiversidade do local e nas vizinhanças, intoxicando trabalhadores e contaminando o produto final (MANIERI *et al.*, 2004 a).

Os inseticidas podem ser produzidos a partir de um protótipo natural, como piretróides sintéticos que foram introduzidos no mercado a partir da década de 1970. Estes são análogos das piretrinas, encontradas no piretro, pó obtido das flores de algumas espécies do gênero *Chrysanthemum* (*C. cinerariaefolium* e *C. coccineum*) (FAZOLIN *et al.*, 2002).

Na busca de alternativas ao uso desses produtos, tem sido estudadas outras técnicas como a utilização de inseticidas botânicos, o cultivo de variedades resistentes e até mesmo a associação destes métodos de controle (ROEL; VENDRAMIM, 2001). Os produtos naturais provenientes de plantas podem ser de potencial interesse no combate a insetos, pois o conhecimento sobre a sua atividade

biológica pode levar à sua aplicação no manejo de pragas que pode ser do próprio produto natural, diretamente, ou de seus análogos resultantes de modificações estruturais (PRATES; SANTOS, 2000).

O emprego de inseticidas botânicos no controle de pragas de grãos armazenados mostra-se bastante promissor principalmente tendo em vista a possibilidade de se controlar as condições ambientais no interior das instalações de armazenamento, propiciando a maximização da atividade inseticida. Nesses locais, os produtos podem ser empregados na forma de pós, extratos e óleos (TAVARES; VENDRAMIM, 2005).

De um modo geral, podem ser reconhecidas duas abordagens quanto à utilização de plantas/substâncias com atividades sobre 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. A escolha da melhor abordagem está relacionada à complexidade das estruturas químicas das substâncias envolvidas que viabilizará ou não sua síntese, bem como às considerações de ordem econômica e tecnológica (FAZOLIN *et al.*, 2002).

Nos últimos anos, inúmeras plantas com atividades inseticidas, pertencentes a diversas famílias botânicas, têm sido descobertas, encontrando-se listagem destas na literatura internacional (TORRECILLAS; VENDRAMIM, 2001). A utilização de produtos vegetais, em geral, oferece vantagens em relação aos impactos ambientais e à segurança alimentar, pois não deixam resíduos nos alimentos e são facilmente degradados (ROEL; VENDRAMIM, 2006).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a ação tóxica, repelente e de proteção de extratos alcoólicos de plantas do Pantanal sobre o gorgulho *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (Coleoptera: Curculionidae) e a realização de triagem fitoquímica das plantas *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Sapium haematospermum* (Euphorbiaceae), *Ocotea diospyrifolia* (Lauraceae) e *Coccoloba ochreolata* Wedd. (Polygonaceae), utilizadas nos bioensaios.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Sitophilus zeamais* (MOTSCHULSKY, 1855) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

A ordem dos Coleópteros, a maior do Reino Animal em número de espécies, em torno de 300.000, é considerada como uma das três mais prejudiciais à agricultura (BRANDÃO, 1989). Nessa Ordem está a família Curculionidae que abrange três espécies de *Sitophilus* de grande importância como pragas de grãos armazenados, destacando-se *Sitophilus zeamais* (gorgulho-do-milho) (Figura 1), uma praga nociva e abundante, sendo considerada o maior inimigo dos cerealistas (MARICONI, 1976).



Figura 1. Gorgulho-do-milho.

A origem do gorgulho-do-milho não é definitivamente conhecida, mas há informações de que ele seja originário da Índia. Devido ao hábito do gorgulho de se alimentar e reproduzir em vários tipos de grãos, ele tem sido transportado juntamente com os grãos para as diversas partes do mundo. Nas Américas tem sido encontrado desde o Alasca até a Argentina, com referências de que existe em todas as regiões tropicais e temperadas (GALLO, 2002).

Entre as pragas que infestam grãos armazenados no Brasil, o gorgulho *S. zeamais* destaca-se como uma das mais prejudiciais, pelo grande número de hospedeiros, elevado potencial biótico, capacidade de penetração na massa de grãos e infestação cruzada, o que ocasiona danos tanto no campo como nas unidades de armazenamento, contaminando os produtos com suas fezes, odores e restos das fases evolutivas (deixando peles dentro das galerias abertas nos grãos),

tornando o produto às vezes até recusado pelos animais (ESTRELA *et al.*, 2006; BRANDÃO, 1989).

Os adultos do gorgulho-do-milho se alimentam dos mesmos grãos que as larvas - milho, arroz, trigo, sorgo, pinhões, e, ainda, devoram substâncias secas como pêssegos, uvas, macarrão, farinhas, entre outros (BRANDÃO, 1989). O ataque se inicia quase sempre no campo, continuando nos armazéns e depósitos. Por isso recomenda-se o emprego do milho resistente e o armazenamento a granel, com menos de 12% de umidade, em paiol fechado, evitando-se os grãos quebrados. No caso do arroz, é necessário secá-lo (menos de 12% de umidade e, se possível, menos de 10%) e armazená-lo com casca, beneficiando-o somente pouco antes do consumo, pois *S. zeamais* ataca somente o arroz sem casca, ou os grãos com casca defeituosa (MARICONI, 1976).

A fêmea atinge a maturidade sexual em 3-4 dias e após o acasalamento inicia a postura dos ovos fazendo um pequeno orifício com o rostro, geralmente na região mais macia do grão onde deposita internamente o ovo (SANTOS, 1981), fechando em seguida o orifício com uma espécie massa resistente. Dos ovos nascem pequenas larvas de cor branca ou creme, com a cabeça castanha, apresentando-se encurvadas e ápodas. Cada grão pode conter até sete larvas, e, como essa é a fase em que o inseto mais se alimenta, o resultado é o esvaziamento interno do grão (BRANDÃO, 1989).

Quando o inseto passa à fase adulta, abre um orifício irregular no grão saindo para o ambiente (BRANDÃO, 1989), possuindo 3 mm de comprimento com coloração castanho escura e apresentando a cabeça prolongada para frente e um rostro recurvado, onde estão as peças bucais. Nos machos, esse rostro é mais curto e grosso e, nas fêmeas, mais longo e afilado. O dorso do tórax é fortemente pontuado e, as asas anteriores densamente estriadas (GALLO, 2002).

2.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E PLANTAS INSETICIDAS

O mundo assiste hoje uma revisão de valores que se reflete, entre outros, no modo de vida e na preocupação com o ambiente. Na alimentação há uma preocupação com a exigência crescente de alimentos isentos de agrotóxicos, por parte da população mais esclarecida (CORRÊA Jr., 1997). Este fator está levando ao desenvolvimento de pesquisas à procura de soluções alternativas, e a própria

natureza vem sendo intensivamente investigada como uma fonte de solução em potencial. O ecossistema mantém um equilíbrio que pode ser considerado como consequência da interação de muitos sinais químicos e físicos, componentes do sistema. Como parte desse sistema, as plantas vêm sendo consideradas como fonte de moléculas que podem ser utilizadas de várias formas para proteger e manter a produção agrícola (SAITO; LUCCHINI, 1998).

Além dos produtos diretamente envolvidos nas funções primárias como a fotossíntese, respiração e crescimento, as plantas contêm ou produzem uma grande variedade de outros compostos que passaram a ser chamadas de substâncias secundárias (PRICE, 1984; PIZZAMIGLIO, 1991), que são os óleos essenciais (ou essências naturais), resinas, alcalóides, flavonóides, taninos, princípios amargos, entre outras (CRUZ *et al.*, 2000).

Os compostos químicos ou grupos destes, que constituem os princípios bioativos das drogas não são meros subprodutos do metabolismo secundário das plantas que os produzem. Na verdade, representam respostas químicas dos seus mecanismos de interação com o ambiente. Segundo Bragança (1996), o metabolismo secundário das plantas seria comparável ao sistema imunológico ou ao comportamento dos animais. A variedade de substâncias químicas produzidas pelas plantas é explicada pelo fato de serem elas organismos estáticos e precisarem, conseqüentemente, de diferentes agentes. Por exemplo, para a polinização e dispersão de sementes produzem atrativos e repelentes para defenderem-se de predadores.

Atualmente, encaram-se tais substâncias obtidas de plantas como um modelo para a síntese de pesticidas mais eficientes, menos tóxicos e menos persistentes no ambiente, bem como para auxiliar na compreensão da complexa interação entre os seres vivos no ecossistema. Além disso, podem ser uma importante ferramenta, a ser aplicada no cultivo de culturas orgânicas, por ser de origem natural (CASTRO *et al.*, 2003).

Esses metabólitos secundários encontradas em plantas, do ponto de vista de controle de insetos, são normalmente classificadas como: análogos hormonais de insetos, repelentes e atraentes, toxinas e substâncias deterrentes (SAITO; LUCCHINI, 1998) e vêm sendo utilizadas pelo homem desde a antiguidade, numa prática que persiste até hoje, com mais de 2000 espécies de plantas conhecidas por suas propriedades inseticidas (VIEGAS Jr., 2003).

Os inseticidas derivados de produtos naturais já foram muito utilizados até 1940, principalmente o alcalóide nicotina (extraída das folhas de *Nicotina tabacum* e *Nicotina rustica* (Solanaceae)), associado à nornicotina e anabasina (VIEIRA *et al.*, 2001; ROEL *et al.*, 2000 a), a piretrina (crisântemo *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Asteraceae)), a rotenona (*Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp. (Fabaceae)), a sabadina e outros alcalóides extraídos de *Schoenocaulon officinale* (Liliaceae) e a rianodina (*Rhynchospora speciosa* (Flacourtiaceae)) (ROEL, 1998).

Uma espécie que merece destaque como inseticida é o Nim, *Azadirachta indica* (Meliaceae), cujo espectro de ação é bastante amplo tendo seu efeito comprovado sobre aproximadamente 400 espécies de insetos (BOGORNÍ; VENDRAMIM, 2005).

Procópio e Vendramin (1995), utilizando várias espécies vegetais no controle de *Sitophilus zeamais*, constataram que o tratamento no qual se utilizou o *Chenopodium ambrosoides* foi o mais eficiente no controle dessa espécie, causando 100% de mortalidade, quando comparado com o Nim, pimenteira (*Capsicum frutescens*), *Eucalyptus citriodora*, cinamomo e mamona. Pesquisas realizadas por Rodrigues e Vendramim (1996), Torrecillas (1997) e mais recentemente por Roel *et al.* (2000 b), avaliaram o efeito de extratos aquosos e acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) obtendo resultados que comprovam a atividade inseticida desta planta. Prates e Santos (2000) avaliaram o efeito do extrato aquoso de folhas de Nim (*A. indica*), extrato bruto de angico (*Piptadenia colubrina*), extrato bruto e fracionado de araticum (*Annona crassiflora*) e extrato bruto de carqueja (*Baccharis genistelloides*), concluindo que plantas silvestres encontradas na flora brasileira também possuem ação inseticida sobre o gorgulho-do-milho.

Mais recentemente Almeida *et al.* (2004) estudaram a atividade inseticida de extratos alcoólicos de *Camellia sinesis*, *Anthemis nobilis*, *Croton tiglium*, *A. indica* e *Piper nigrum* sobre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) e concluíram que a mortalidade do inseto aumenta com o aumento do período de exposição aos extratos, sendo as plantas *A. indica* e *P. nigrum* as mais eficientes por terem proporcionado maior número de insetos mortos em todos os períodos de tempos avaliados.

Atualmente, existe um mercado promissor para os bioinseticidas e inseticidas naturais, pois a produção de compostos químicos naturais representa 7,5% do

mercado de produtos químicos, farmacêuticos, veterinários e de proteção de plantas. O Brasil é conhecido pela riqueza da biodiversidade, e a flora, apesar do seu potencial, tem sido relativamente pouco estudada e explorada do ponto de vista químico e farmacológico. Por esse motivo, tem sido alvo de interesse por parte de pesquisadores de outros países e algumas das substâncias isoladas de plantas brasileiras já têm sido patenteadas por estrangeiros, nos seus países de origem (SAITO *et al.*, 2004 a).

2.3 AS PLANTAS UTILIZADAS

2.3.1 *Protium heptaphyllum* March. (Burseraceae)

P. heptaphyllum é uma planta apícola conhecida vulgarmente por diversos nomes, dentre eles: Almécega, breu, incenso, breu branco verdadeiro, elemi, elemeira, ibiracica, pau de breu, tacaá-macá, almíscar, aminé e árvore do incenso. Ocorre em matas de terra firme, em solo argiloso, da região Amazônica, Maranhão, Piauí, Bahia, Minas Gerais e Goiás. Ainda no Suriname, Colômbia, Venezuela e Paraguai (CITÓ *et al.*, 2006), além do Pantanal matogrossense.

Muitas espécies vegetais se notabilizam pela gama variada de substâncias triterpenoídicas, presentes nos seus órgãos, onde devem desempenhar diferentes papéis. Alguns gêneros da família Burseraceae (*Elaphrium*, *Icica*, *Canarium* e *Protium*) são produtores de resinas oleosas. Estas resinas são conhecidas genericamente como elemi e são constituídas de triterpenos tetracíclicos, como os ácidos elemadienólico e elemadienônico, e pentacíclicos, como α e β amirinas, maniladiol e breína entre outros (MAIA *et al.*, 2000; BANDEIRA *et al.*, 2007).

O gênero *Protium* é representado em todas as matas do País, desde o norte até o ex-tremo sul, reunindo desde espécies arbustivas, até arbóreas (CITÓ *et al.*, 2006). A espécie *Protium heptaphyllum* é largamente encontrada na região amazônica e produz uma resina oleosa também conhecida como breu branco, almécega do Brasil e goma-limão. Sua utilização é amplamente difundida, sendo usada na medicina popular como analgésico, cicatrizante, e expectorante; na indústria de verniz; na calafetagem de embarcações e em rituais religiosos (incenso). Isto torna, sobretudo, importante o conhecimento de sua constituição química para contribuir com o aproveitamento e controle na medicina e na indústria. A literatura

revela a presença de α e β amirinas, taraxastano-3,20-diol, taraxastano-3-oxo-20-ol, bem como de sistostenona na resina, coletada na reserva de Campina (Manaus - AM) (MAIA *et al.*, 2000) e nos frutos maduros e folhas, a presença de flavonóides quercetina e quercetina-3-O-ramnosil (BANDEIRA *et al.*, 2002). Segundo Citó *et al.* (2006) os constituintes voláteis de frutos e folhas diferem entre si com predominância de monoterpenos nos frutos e sesquiterpenos nas folhas.

2.3.2 *Sapium haematospermum* (Müll. Arg.) Hub. (Euphorbiaceae)

A família Euphorbiaceae compreende aproximadamente 290 gêneros e 7.500 espécies distribuídas em todas as regiões tropicais e subtropicais do globo, principalmente na América e na África. No Brasil, ocorrem 72 gêneros e cerca de 1.100 espécies difundidas em todos os tipos de vegetação (CONEGERO *et al.*, 2003).

A espécie *S. haematospermum*, popularmente conhecida como leiteira, leiteiro-chorão, mutuqueira, sarã, carrapateira e fruto de cachorro, é uma árvore que apresenta de 6-12 m de altura, dotada de copa globosa e baixa com os ramos quase encostando no chão. Registra-se sua ocorrência desde Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul até o Rio Grande do Sul, nas matas semidecíduas da Bacia do Paraná e Uruguai e no Pantanal Matogrossense. A madeira é empregada para caixotaria, forros, esculturas, aero-modelos, miolo de compensados, pasta celulósica, cepas para tamancos, etc. e as sementes foram outrora usadas para matar ratos. O látex é irritante para a pele e os olhos, ao mesmo tempo que é muito reputado contra verrugas e outros males, além de oferecer borracha e visgo para captura de insetos (LORENZI, 2002).

2.3.3 *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez (Lauraceae)

Lauraceae é considerada uma das famílias de maior importância econômica da Floresta Atlântica, em virtude da boa qualidade da madeira e do alto valor que alcançam seus óleos essenciais no comércio da Amazônia, sendo também utilizada na culinária, fabricação de papel, marcenaria e construção civil, indústria química, medicina popular, indústrias de perfume e cosméticos, materiais de limpeza, alimentos e medicamentos (ALVES; ISHII, 2004), encontram-se amplamente

distribuída através das regiões tropicais e subtropicais do planeta, e formadas por 49 gêneros e 2.500 – 3.000 espécies (MARQUES, 2001).

Os primeiros registros relativos a utilização das espécies desta família datam de 2.800 A.C, sendo originários da Grécia antiga. Apesar de algumas espécies já terem sido utilizadas pelas indústrias para a fabricação de diversos produtos, a maioria têm seu uso restrito às comunidades tradicionais que detêm o conhecimento empírico da utilização dessas plantas (MARQUES, 2001; COUTINHO *et al.*, 2006).

Quimicamente, o gênero caracteriza-se por apresentar em sua composição metabólitos secundários, como alcalóides isoquinolínicos, lignanas e óleos essenciais. Dentre as atividades farmacológicas já encontradas em algumas espécies de *Ocotea*, destacam-se princípios antioxidantes, antibacterianos, antifúngicos, antiinflamatórios, antialérgicos depressores do sistema nervoso central, relaxante muscular, hipotensores, entre outros (MARQUES, 2001; COUTINHO *et al.*, 2006). Popularmente conhecidas como canela, o alto valor econômico destas espécies tem levado a uma exploração crescente ao longo dos anos, fazendo com que estas se tornem “vulneráveis” ou mesmo “em perigo de extinção”, segundo a classificação da União Internacional para Conservação da Natureza e Recursos Naturais (I.U.C.N.) (MARQUES, 2001).

2.3.4 *Coccoloba ochreolata* Wedd. (Polygonaceae)

A família Polygonaceae possui cerca de 30 gêneros e aproximadamente 750 espécies distribuídas principalmente nas regiões temperadas do hemisfério norte, sendo representada no semi-árido baiano por 21 espécies distribuídas em cinco gêneros: *Coccoloba*, *Polygonum*, *Rumex*, *Uprechtia* e *Triplaris*, dos quais *Coccoloba* é o mais representativo com 11 espécies, dentre elas a *C. ochreolata* popularmente conhecida como canjiquinha e uveira-do-mato (MELO, 1999; POTT; POTT, 1994).

Coccoloba é um gênero neotropical com cerca de 400 espécies distribuídas desde o México, sul dos Estados Unidos até o sul da América do Sul. O Brasil apresenta 45 espécies, das quais 23 ocorrem na Amazônia. É constituído por plantas herbáceas, arbustivas e arbóreas ou lianas, a maioria das espécies ocorre em matas e apresenta ampla distribuição, com poucas restritas à Amazônia onde apenas uma espécie é endêmica (MELO, 2004).

C. ochreolata apresenta-se como arbusto a árvore ramificada ou de vários troncos, nodosos com casca áspera semelhante à pereira; pode atingir 2 a 8m de altura, com copa larga e ramos pouco pendentes. Floresce de agosto a dezembro com frutos de outubro até fevereiro. Seu fruto é ácido, comestível fornecendo alimento às aves, que o disseminam. Ocorre frequentemente em borda de capões, borda e clareira de mata semidecídua, mata ciliar de vazante e campos alagáveis por rios, em solos arenosos e argilosos (POTT; POTT, 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Entomologia da UNIDERP (LENT) e as análises fitoquímicas foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica da UNIDERP, localizados no Campus de Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde (CCBAS) em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, no período de maio de 2007 a maio de 2008, sendo o material vegetal utilizado proveniente do Instituto de Pesquisa do Pantanal – UNIDERP (IPPAN) do Programa de Bioprospecção de Plantas do Pantanal, sediado na Fazenda Santa Emília, no Pantanal do rio Negro, município de Aquidauana, MS. Os exemplares, depois de identificados, foram depositados no Herbário da UNIDERP.

3.1 OBTENÇÃO DE EXTRATOS E CRIAÇÃO DE INSETOS

Os extratos foram obtidos a partir de folhas de *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Sapium haemastopermum* (Euphorbiaceae), *Ocotea diospyrifolia* (Lauraceae) e *Coccoloba ochreolata* (Polygonaceae), submetidos a uma pré-secagem natural e, em seguida, secas em estufa a uma temperatura constante de 50°C durante 48 horas. Depois de secas, as folhas foram moídas em moinho de facas elétrico, até a obtenção de um pó fino, que foi armazenado em vidros hermeticamente fechados em temperatura ambiente.

Para o preparo dos extratos pesou-se, em balança analítica, 25g do pó de cada planta, que foram submetidos a dois métodos de extração: método de extração a frio, realizado com o auxílio do aparelho sonicador (Unique 1450[®], Modelo Ultrasonic Cleaner) e o método de extração a quente, utilizando aparelho Extrator Soxhlet.

Terminado o processo de extração, o solvente foi evaporado em banho-maria até obter uma pasta, que foi armazenada em frascos de plástico transparente em temperatura ambiente.

Foram submetidos aos testes gorgulhos *Sitophilus zeamais*, que estavam mantidos em frascos de vidro para 500g, com apenas a metade de sua capacidade

preenchida com milho e tampados com tecido organza. Os frascos receberam os insetos aleatoriamente, sendo acondicionados em laboratório com temperatura entre $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de $70\pm 5\%$, periodicamente monitorados para se evitar a contaminação dos grãos por fungos decompositores.

Foram realizados os bioensaios de Proteção, Repelência e Ação Tóxica Tópica, utilizando-se, para isso, adultos de *S. zeamais* com 2-7 dias de idade não sexados conforme o método descrito por Conte *et al.* (2002).

3.2 TESTE DE PROTEÇÃO

Foi preparada uma solução utilizando-se 1g de extrato diluído em 5ml de acetona, obtendo-se uma concentração de 0,2g/ml. Dessa solução, foi aplicado 1ml em 25g de milho e homogeneizado, deixando-se evaporar no ambiente por aproximadamente 30 minutos em papel absorvente. Após a secagem dos grãos, pesou-se 5g de milho que foram acondicionados em pequenos tubos (8 x 2cm) de vidro transparente, com tampa (Figura 2).

Foram liberados 20 insetos adultos não sexados em cada tubo, registrando, após 24, 48 e 72h o número de indivíduos mortos. Realizaram-se quatro repetições para cada extrato e para o controle feito com o solvente acetona. Considerou-se mortos aqueles insetos que permaneciam imóveis ao serem tocados por um estilete.

Os dados obtidos foram tabulados mostrando a média dos indivíduos mortos.



Figura 2. Tubo de vidro onde foi realizado o teste de proteção.

3.3 TESTE DE REPELÊNCIA

Utilizou-se discos de papel filtro número 2 com 60mm de diâmetro, divididos ao meio para a aplicação de 0,2ml dos extratos a serem testados em uma das metades; na outra aplicou-se apenas o solvente acetona como controle. Após a secagem, os discos foram colocados em placas de Petri com mesmo diâmetro sendo cobertos por uma camada única de pérolas de vidro (5mm), simulando grãos para evitar o “efeito parede” sugerido por Conte e Favero (2001) (Figura 3).

Foram liberados 10 insetos adultos não sexados no centro de cada placa, registrando, após 24h a distribuição desses insetos, com quatro repetições para cada extrato, em uma temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ e uma umidade relativa do ar de $70 \pm 5\%$ em sala climatizada.

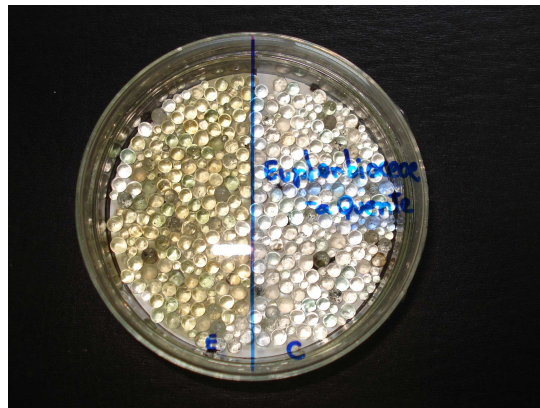


Figura 3. Placa de Petri onde foi realizado o teste de repelência.

Para se obter o índice de repelência (IR%) foi utilizada a equação:

$$IR\% = \left(1 - \left(\frac{T}{T+C} \right) \right) \times 100$$

Onde:

T = número de insetos sobre a superfície tratada;

C = número de insetos sobre a superfície controle.

Esses dados foram submetidos ao Teste Binomial, tendo como hipóteses:

Ho: $\mu = 50\%$

Hi: $\mu < 50\%$,

Não foram considerados efetivos os óleos com índices de repelência menores de 50%, segundo Sokal e Rohlf (1995). Posteriormente, os dados foram submetidos à Análise de Variância em esquema fatorial (4 plantas x 2 técnicas de extração), em delineamento experimental inteiramente casualizado.

3.4 TESTE AÇÃO TÓXICA TÓPICA AGUDA

Utilizou-se uma solução padrão preparada com 0,5g do extrato diluído com 4ml de acetona (0,125g/ml). A partir dessa solução, foram estabelecidas soluções nas concentrações 0,094; 0,062 e 0,031g/ml.

Para cada concentração foram realizadas duas repetições e um controle. Em cada placa de Petri de 90mm, forrada com papel filtro, foram liberados 10 insetos que receberam cada um, 2 µl de cada extrato em diferentes concentrações sobre o dorso do tórax, contando-se, após 24h, o número de mortos por concentração (Figura 4).

Os dados obtidos foram tabulados mostrando a porcentagem dos indivíduos mortos.

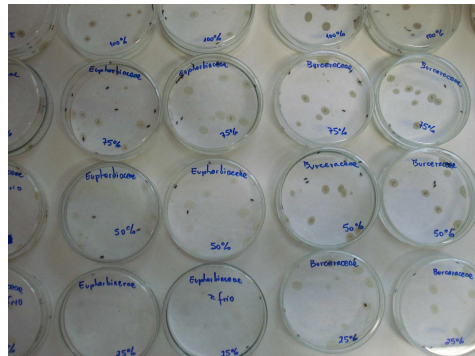


Figura 4. Placas de Petri onde foi realizado o teste de ação tóxica tópica aguda.

3.5 PREPARO DO MATERIAL VEGETAL PARA A ANÁLISE FITOQUÍMICA

As folhas de *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Sapium haematospermum* (Euphorbiaceae), *Ocotea diospyrifolia* (Lauraceae) e *Coccoloba ochreolata* (Polygonaceae), foram coletadas no Instituto de Pesquisa do Pantanal - IPPAN, Pantanal do Negro, município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul – MS em

fevereiro de 2007, transportadas para o laboratório de Botânica-UNIDERP e catalogadas no registro número 3092, 0305, 3982 e 5082 respectivamente.

Os órgãos vegetais foram limpos, as folhas separadas, identificadas e armazenadas em estufa com circulação de ar (40°C). Após secagem o material foi triturado, tamizado e acondicionado em saco plástico atóxicos, identificados para posterior análise química realizada no Laboratório de Química Orgânica da UNIDERP, de acordo com Matias (2007).

3.6 TRIAGEM FITOQUÍMICA

Os extratos etanólicos e aquosos, a 20%, das amostras de *P. heptaphyllum* (Burseraceae), *S. haematospermum* (Euphorbiaceae), *O. diospyrifolia* (Lauraceae) e *C. ochreolata* (Polygonaceae) foram obtidos de 20,0g ($\pm 0,0001$) da planta submetidas à extração com etanol (99,5%) por meio de sonicador (Unique 1450[®], Modelo Ultrasonic Cleaner) seguido de aquecimento a 60°C por 5 minutos, filtrado, armazenado em frasco âmbar e rotulado, seguindo método adaptado de Matias (2007). Paralelamente, preparou-se os extratos aquosos seguindo mesma metodologia do extrato etanólico.

Os extratos etanólicos e aquosos foram submetidos à triagem fitoquímica, via úmida, seguindo metodologia adaptada de Matos (1997), Simões (2004) e Matias (2007) quanto às análises de: flavonóides, alcalóides, esteróides, triterpenos, terpenos, antraquinonas livres, compostos fenólicos, taninos, glicosídeos cianogênicos, antocianinas, cumarinas e saponinas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TRIAGEM FITOQUÍMICA

O estudo fitoquímico realizado com as partes aéreas de: *P. heptaphyllum*, *S. haematospermum*, *O. diospyrifolia* e *C. ochreolata* quanto a presença e ausência dos principais grupos de substâncias que comumente apresentam atividade biológica revelou a presença de compostos fenólicos e flavonóides em todas as amostras analisadas apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1. Resultados obtidos nas análises fitoquímicas mostrando a composição dos metabólitos secundários das plantas utilizadas nos bioensaios.

Metabólitos secundários	Burseraceae	Euphorbiaceae	Lauraceae	Poligonaceae
	<i>Protium heptaphyllum</i>	<i>Sapium haematospermum</i>	<i>Ocotea diospyrifolia</i>	<i>Coccoloba ochreolata</i>
Compostos fenólicos	+	+	+	+
Taninos	-	+	-	+
Flavonóides	+	+	+	+
Geninas Flavônicas	-	+	+	+
Saponinas	+	+	-	-
Esteroides e triterpenos livres	+	+	-	-
Cumarinas	-	-	-	-
Antraquinonas livres	+	-	-	+
Antocianinas	-	-	-	-
Glicosídeos cianogênicos	-	-	-	-
Alcalóides	+	+	+	-

• (+) positivo; (-) negativo

Os flavonóides quercetina e quercetina-3-O-ramnosil foram isolados dos frutos maduros e folhas, do caule, escopoletina, em exemplares de *Protium heptaphyllum* coletados no Estado do Ceará (BANDEIRA *et al.*, 2002), estes achados estão de acordo com a espécie em estudo. Os flavonóides apresentam efeito inibitório da colinesterase nos insetos e podem ainda afetar a alimentação, as funções locomotoras levando a paralisia e a morte (TREVISAN, 2006).

Existem muitas toxinas não nitrogenadas, como em plantas utilizadas pelos indígenas como veneno de flecha, que contém esteróides glicosilados com atividade cardíaca, saponinas, flavonóides, quinonas, poliacetilenos e aflatoxinas. Essas substâncias são normalmente tóxicas também a mamíferos, porém as saponinas e os flavonóides são freqüentemente mais tóxicos a peixes e insetos (SAITO; SCRAMIN, 2000).

As classes de metabólitos secundários que apresentaram atividade inibidora de alimentação contém, principalmente, saponinas, alcalóides, flavonóides e cumarinas encontradas nas espécies *P. heptaphyllum* e *S. haematospermum*. Tais classes de substâncias figuram freqüentemente como responsáveis por essa atividade em diversas espécies de plantas, como indica a extensa lista bibliográfica sobre o assunto. Informações sobre as classes de substâncias que estão presentes nas espécies de plantas ativas são de grande importância para se iniciar estudos fitoquímicos, de isolamento e identificação dos princípios ativos de cada planta (SAITO *et al.*, 2004 b).

Para SIMONS (2006) as saponinas e os esteróides fornecem proteção química interna contra ataque de pragas e patógenos, podendo influenciar no vegetal respostas induzidas de defesa.

Os alcalóides são ácidos não-proteícos, classificados como tóxicos qualitativos, pois agem mesmo em pequenas quantidades e são particularmente tóxicos para insetos e, freqüentemente, causam sua morte, atuando, ainda, como deterrente de alimentação (MELO; SILVA FILHO, 2002; LOVATTO *et al.*, 2004; CAVALCANTE *et al.*, 2006).

As substâncias repelentes ou as atraentes das plantas são principalmente de natureza terpênica, e se apresentam como moléculas de baixo peso molecular e voláteis. Estudos sobre o mecanismo de ação de alguns terpenos indicam que esses compostos atuam através de inibição da enzima, a acetilcolinesterase, presente nas junções neuromusculares do inseto por interação hidrofóbica. Essa enzima atua também no sistema nervoso periférico sensor da antena do inseto (SAITO; SCRAMIN, 2000; SAITO; LUCCHINI, 1998). Dependendo da classe de triterpenos estes podem ainda causar distúrbios fisiológicos, alterando o desenvolvimento e a funcionalidade de várias espécies de praga, principalmente devido à inibição ou retardamento do desenvolvimento e crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, ação de repelência alimentar (supressores de apetite),

podendo levar os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta (RECH; SALLES, 1999; VIEGAS, 2003).

Os taninos são classificados como substâncias quantitativas, por serem capazes de inativar enzimas digestivas e criar um complexo de taninos-proteínas de difícil digestão para os insetos dependendo da concentração utilizada e conseqüentemente reduzem, significativamente, o crescimento e a sobrevivência de insetos (MELLO; SILVA-FILHO, 2002; CAVALCANTE *et al.*, 2006).

Em se tratando do gênero *Ocotea*, a espécie com maior número de trabalhos *Ocotea suaveolens* (SAITO *et al.*, 2004 a, b) apresenta extratos das folhas que são apontados com atividade antialimentar frente a *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatilis*. Nesta espécie é apontado a presença de flavonóides, alcalóides e cumarinas, o que também foi observado na triagem fitoquímica realizada, com a presença de compostos fenólicos, flavonóides e alcalóides.

4.2 PROTEÇÃO

Os extratos alcoólicos de *P. heptaphyllum*, *S. haematospermum*, *O. diospyrifolia* e *C. ochreolata* apresentaram toxicidade tóxica muito baixa não sendo possível montar a curva concentração-mortalidade (CL 50); por isso os dados obtidos foram tabulados mostrando a porcentagem de mortalidade de cada método de extração em relação ao tempo das leituras do experimento (Tabela 1).

Apesar de exibir resultados insatisfatórios, esses extratos apresentam potencial inseticida, já que causaram pequena mortalidade com valor máximo de 25% obtido em 72 horas com *O. diospyrifolia*, utilizando-se o método de extração a frio, onde a taxa de mortalidade aumentou com o tempo de exposição ao extrato. Os valores exibidos nesse teste foram muito próximos aos obtidos por Saito *et al.* (2004 a), que avaliaram extratos do caule e das folhas de várias plantas do Pantanal, inclusive a *Ocotea suaveolens* (Lauraceae), chegando a resultados entre 2 e 25% de mortalidade.

Tabela 1. Porcentagem de insetos mortos no Teste de Proteção utilizando extratos de quatro espécies vegetais do Pantanal com tempo de exposição ao extrato de 24, 48 e 72 horas no laboratório de Entomologia - UNIDERP

Extratos	24h		48h		72h	
	Frio	Quente	Frio	Quente	Frio	Quente
<i>Coccoloba ochreolata</i>	0	0	0	0	0	5,0
<i>Sapium haematospermum</i>	0	0	0	0	0	2,5
<i>Protium heptaphyllum</i>	0	0	0	0	2,5	0
<i>Ocotea diospyrifolia</i>	7,5	0	15	0	25	0

A atividade inseticida pode estar relacionada a vários fatores, desde o tipo de solo onde a estrutura da planta está inserida, o método de coleta, a época de coleta, a idade e o ciclo biológico em que a planta se encontra (floração, frutificação e brotação), o método de extração e até o solvente utilizado.

Manieri *et al.* (2004 a) observaram que o óleo essencial de *Ruta graveolens* (arruda) não apresentou-se repelente a *S. zeamais*, mesmo sendo o mais tóxico no teste de Ação Tóxica (CL 50 e CL 99), indicando que as plantas podem exibir diferentes formas de ação, e não necessariamente precisam ser eficientes em todas elas.

4.3 REPELÊNCIA

Os extratos alcoólicos de *P. heptaphyllum*, *O. diospyrifolia* e *C. ochreolata* apresentaram ação repelente para o gorgulho. Já o extrato *S. haematospermum* com extração à frio, foi pouco repelente, com valores próximos de 50% de repelência, segundo os resultados obtidos pelo Teste Binomial. Porém o bioensaio realizado com a mesma planta submetida à extração a quente mostrou atividade repelente em torno de 90%. A Tabela 2 indica que as respostas dependem do método de extração utilizado, além da concentração, do solvente e do método a que o inseto seja exposto.

Tabela 2. Comparação entre as médias (%) das quatro plantas utilizadas nos bioensaios realizados no laboratório de Entomologia – UNIDERP, de acordo com os métodos de extração a frio e a quente

Plantas	à Frio	à Quente	Média
<i>Coccoloba ochreolata</i>	77,5 Aa	85 Aa	81,25 a
<i>Sapium haematospermum</i>	62,5 Aa	90 Aa	76,25 a
<i>Protium heptaphyllum</i>	67,5 Aa	92,5 Aa	80 a
<i>Ocotea diospyrifolia</i>	77,5 Aa	92,5 Aa	85 a
Média	71,25 A	90 B	80,625

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de F.

Outras espécies também apresentaram efeito repelente para *S. zeamais*, como observado por Conte *et al.* (2002), que utilizaram os óleos essenciais *Mentha X villosa*, *Ocimum gratissimum* e *Lippia alba* e por Manieri *et al.* (2004 a) que verificaram efeito repelente utilizando óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Artemisia camphorata* (cânfora). Mais recentemente Silva-Aguayo *et al.* (2005) estudaram o pó das inflorescências e caule de *Chenopodium ambrosioides* L. obtendo resultados que permitem afirmar que o pó é repelente ao *S. zeamais*.

A repelência está associada a componentes voláteis que interferem no comportamento do inseto, essas substâncias são geralmente de natureza terpênica com baixo peso molecular (monoterpenos) ou ainda isoflavonóides e lactonas. A atividade repelente não é ainda bem conhecida e poucos trabalhos existem nesta área (SAITO; LUCCHINI, 1998, PETERSON; COATS, 2001). Pontes *et al.* (2007) observaram efeito repelente de óleo essencial de frutos jovens de *P. heptaphyllum* para o ácaro *Tetranychus urticae*.

4.4 AÇÃO TÓXICA TÓPICA AGUDA

Os extratos alcoólicos de *P. heptaphyllum*, *S. haematospermum*, *O. diospyrifolia* e *C. ochreolata* apresentaram toxicidade tóxica muito baixa não sendo possível montar a curva dose-mortalidade (DL 50). Dessa maneira os dados obtidos foram tabulados mostrando a porcentagem de mortalidade de cada método de

extração em relação à concentração dos extratos utilizados, atingindo um valor máximo de 20% (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem dos insetos mortos no Teste de Ação Tóxica Tópica Aguda utilizando extratos de quatro espécies vegetais do Pantanal em concentrações de 0,125; 0,094; 0,062 e 0,031g/ml no laboratório de Entomologia - UNIDERP

Extratos/Concentração	0,125g/ml		0,094g/ml		0,062g/ml		0,031g/ml	
	Quente	Frio	Quente	Frio	Quente	Frio	Quente	Frio
<i>Coccoloba ochreolata</i>	0	20,0	10,0	0	0	10,0	0	5,0
<i>Sapium haematospermum</i>	5,0	0	15,0	20,0	10,0	15,0	5,0	0
<i>Protium heptaphyllum</i>	5,0	10,0	5,0	10,0	10,0	5,0	5,0	0
<i>Ocotea diospyrifolia</i>	20,0	0	10,0	5,0	0	0	5,0	0

Apesar de exibir valores muito baixos de toxicidade tóxica, pode-se dizer que essas plantas apresentam potencial inseticida, pois houve mortalidade. Os resultados obtidos podem receber muitas influências, pois a composição química das folhas das plantas pode variar ao longo do ano, de acordo com a estação climática, com a idade e o ciclo biológico, com as condições do solo e sua localização geográfica (SAITO *et al.*, 2004 a).

Outras pesquisas demonstraram a eficácia inseticida de determinadas plantas, tais como experimentos realizados por Manieri *et al.* (2004 b) que avaliaram a atividade inseticida dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Artemisia camphorata* (cânfora) e *Ruta graveolens* (arruda) concluindo que as plantas estudadas apresentam toxicidade tóxica para o *S. zeamais*. Os óleos essenciais de *Piper hispidinervum* e *P. aduncum* foram testados por Estrela *et al.* (2006) e apresentaram efeito inseticida em gorgulhos *S. zeamais* sendo sua eficácia dependente da via de intoxicação e da concentração do óleo aplicado.

5 CONCLUSÃO

Estes dados preliminares indicam que as plantas do Pantanal *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Sapium haematospermum* (Euphorbiaceae), *Ocotea diospyrifolia* (Lauraceae) e *Coccoloba ochreolata* (Polygonaceae) têm atividade insetistática para o gorgulho do milho.

As plantas analisadas apresentam efeito repelente.

A técnica de extração influencia no efeito repelente das plantas.

As plantas apresentaram baixo efeito inseticida tanto por ação tópica aguda quanto por aplicação no grão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. **Biotecnologia: ciência e desenvolvimento**, n. 2, p. 30– 33. 2001.

ALMEIDA, S. A.; ALMEIDA, F. A. C.; SANTOS, N. R.; ARAÚJO, M. E. R.; RODRIGUES, J. P. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr. 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Brasileira Agrociência**, v. 10, n. 1, p. 67-70, 2004.

ALVES, F. M.; ISHII, I. H. O gênero *Nectandra* Rol. Ex Rottb. (Lauraceae) no município de Corumbá, MS, Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS, 6., 2004, Corumbá. **Anais...** Corumbá: UFMS, 2004, p. 16-24.

BANDEIRA, P. N.; LEMOS, T. L. G.; COSTA, S. M. O; SANTOS, H. S. Obtenção de derivados da mistura triterpenoídica a- e b-amirina. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p.204-208, 2007.

BANDEIRA, P. N.; PESSOA, O. D. L.; TREVISAN, M. T. S.; LEMOS, T. L. G. Metabólitos secundários de *Protium heptaphyllum* march. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p.1078-1080, 2002.

BOGORNI, P. C.; VENDRAMIM, J. D. Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropica Entomologica** vol. 34, n. 2, p. 311 – 317, 2005.

BRAGANÇA, L. A. R. **Plantas medicinais antidiabéticas: uma abordagem multidisciplinar**. Niterói: EDUFF, 1996. 300p.

BRANDÃO, F. **Manual do armazenista**. Viçosa: Impr. Universitária, 1989. 269p.

BULL, D.; HATHAWAY, D. **Pragas e venenos: agrotóxicos no Brasil e no Terceiro Mundo**. Petrópolis: Vozes, 1986. 282p.

CASTRO, D. P.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; CORREA, A. D.; SANTOS, N. M.; MUNIZ, F. R. Efeito inseticida do óleo essencial de *Achillea millefolium* sobre *Spodoptera frugiperda*. **Horticultura Brasileira**. v. 21, p. 410, 2003.

CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n.41, p.9-14, 2006.

CAVEIRO, E.S. **Inseticidas e acaricidas**. 4 ed. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária UFPel, 1998. 645p.

CITÓ, A. M. G. L.; COSTA F. B.; LOPES J. A. D.; OLIVEIRA, V. M. M.; CHAVES, M. H. Identificação de constituintes voláteis de frutos e folhas de *Protium heptaphyllum* Aubl. (March). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v. 8, n. 4, p. 4-7, 2006.

CONEGERO, L. S.; IDE, R. M.; NAZARI, A. S.; SARRAGIOTTO, M. H. Constituintes químicos de *Alchornea glandulosa* (Euphorbiaceae). **Química Nova**, v. 26, n. 6, p.825-827, 2003.

CONTE, C. O.; FAVERO, S. Toxidade e repelência de óleos essenciais de menta e capim limão para o gorgulho do milho. **Horticultura Brasileira**. v. 19, (Suplemento 2). 2001. CD-ROM

CONTE, C. O.; FAVERO, S.; LAURA, V. A. Atividade repelente de óleos essenciais de plantas aromáticas sobre o gorgulho-do-milho. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 2, 2002. (Suplemento 2). CD-ROM

CORREA-JUNIOR, C. Produção e comercialização de plantas medicinais. In: WORKSHOP SOBRE PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS EM MATO GROSSO DO SUL, 1., 1997, Dourados. **Anais...** Dourados: UFMS, 1997. p.30-34.

COUTINHO, D. F.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BASÍLIO, I. J. L. D. Morfo-anatomia foliar de *Ocotea gardneri* (Meisn.) Mez (Lauraceae-Lauroideae). **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 16, n. 2, p. 178-184, 2006.

CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H.; BATISTA, M. A. Plantas medicinais. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**. n. 15, p. 28-34, 2000.

ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária**. v. 41, n. 2, p. 217-222, 2006.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; LIMA, A. P.; ARGOLO, V. M. **Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma tingomarianus* Bechyné)**. Rio Branco: EMBRAPA – ACRE. 2002. 42p. (EMBRAPA ACRE. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; n. 37).

FERREIRA, P.C.P. **Técnicas de armazenagem**. Rio de Janeiro: Qualitymark, 1994. 216p.

GALLO, D. (Coord.). **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2 ed, v. 2. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 368p.

LOVATTO, P. B.; GOETZE, M.; THOMÉ, G. C. H.. Efeito de extratos de plantas silvestres da família Solanaceae sobre o controle de *Brevicoryne brassicae* em couve (*Brassica oleracea* v. *acephala*). **Ciência Rural**. v. 34, n.4, p. 971-978, 2004.

MAIA, R. M.; BARBOSA, P. R.; CRUZ, F. G. Triterpenos da resina de *Protium heptaphyllum* March (Burseraceae): caracterização em misturas binárias. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 623-626, 2000.

MANIERI, E.; BAPTISTA, A. P. M.; FAVERO, S. Teste de repelência de óleos essenciais de arruda, capim-limão e cânfora para o gorgulho do milho. **Horticultura Brasileira**. v.22, n. 2, 2004, a. CD-ROM.

MANIERI, E.; BAPTISTA, A. P. M.; FAVERO, S. Toxidade tóxica de óleos essenciais de plantas aromáticas sobre o gorgulho-do-milho (Coleoptera: Curculionidae). **Horticultura Brasileira**. v.22, n.2, 2004, b. CD-ROM.

MARICONI, F.A.M. **Inseticidas e seu emprego no combate às pragas**. 3 ed. São Paulo: Nobel, 1976. 466 p.

MARQUES, C. A.; Importância econômica da família Lauraceae. **Floresta e Ambiente**. v. 8, n. 1, p. 195-206, 2001.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2 ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997. 141 p.

MATIAS, R. **Caderno estudo: análise fitoquímica**. Campo Grande: UNIDERP, 2007. 54p.

MELO, E. Levantamento da família Polygonaceae no estado da Bahia, Brasil: espécies do semi-árido. **Rodriguésia**. v. 50, n. 76/77, p. 29-47, 1999.

MELO, E. As espécies de *Coccoloba* P. Browne (Polygonaceae) da Amazônia brasileira. **Acta Amazônica**. v. 34, n. 4, p. 525-551, 2004.

MELLO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v.14, p.71-81, 2002.

PETERSON, C.; COATS, J. Insect repellents – past, present and future. **Pesticide Outlook**. v.12. n1. p.154–158. 2001.

PIZZAMIGLIO, M. A. Ecologia das interações inseto/planta. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Monde, 1991. p.101-129.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. G.; CÂMARA, C. A. G.; LOPES, A. C. H. R.; GODIM JÚNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; SCHWARTZ, M. O. E. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). **Acta Amazonica**. v.37, n.1, p. 103-110, 2007.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. 1 ed. Corumbá: EMBRAPA-SPI, 1994. 320p.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P. Produtos naturais que ajudam o agricultor. **Cultivar**. Ano 2, n. 18, p. 38–41. 2000.

PRICE, P. W. **Insect ecology**. New York: Wiley Interscience, 1984. 514p.

PROCÓPIO, S. O.; VENDRAMIM, J. D. Avaliação do potencial de diversos pós de origem vegetal para controle de *Sitophilus zeamais* Motsc. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., 1995, Caxambu. **Anais...** Lavras: ESAL, 1995. 622p.

RECH, N. L.; SALLES, L. A. Efeito de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (DIPTERA: TEPHRITIDAE). **Revista Brasileira de Agrociência**. v.5, n.3, p. 225-22, 1999.

RODRIGUES, H. C.; VENDRAMIM, J. D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, v.42, p. 14-22, 1996.

ROEL, A. R. **Efeito de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) na sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).** 1998. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D. Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). **Scientia Agricola**, v. 56. n. 3. 2001.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**. v.36, n.4, 2006.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v.29, n.4, 2000, a.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. **Bragantia**. v.59, n.1, p.53-58, 2000, b.

RUEGG, E. F.; PUGA, F. R.; SOUZA, M. C. M.; ÚNGARO, M. T. S.; FERREIRA, M. S.; YOKOMIZO, Y.; ALMEIDA, W. F. **Impactos dos agrotóxicos sobre o ambiente, a saúde e a sociedade.** São Paulo: Ícone, 1986. 94 p.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente.** Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA. 1998. 46p. (EMBRAPA-CNPMA. Série Documentos, 12).

SAITO, M. L.; POTT, A.; FERRAZ, J. M. G.; NASCIMENTO, R. S. Avaliação da atividade inseticida em espécies de plantas do Pantanal Matogrossense. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2004, a. 19p.

SAITO, M. L.; POTT, A.; FERRAZ, J. M. G.; NASCIMENTO, R. S. Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J.E.SMITH) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 14, P.1-10, 2004, b.

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 48p. (EMBRAPA Meio Ambiente. Documentos, 20).

SANTOS, J.P. Efeitos da fosfina sobre formas jovens e adultas do gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*. In: SIMPÓSIO SOBRE O COMBATE DAS PRAGAS DE GRÃOS ARMAZENADOS, 1., 1981, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre. Hotel Plaza São Rafael, 1981. p. 139–152.

SILVA-AGUAYO, G. I.; KIGER-MELIVILU, R.; HEPP-GALLO, R.; TAPIA-VARGAS, M. Control de *Sitophilus zeamais* com polvos vegetales de tres especies del género *Chenopodium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 40, n. 10, p. 953 -960, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento** 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004.

SIMONS, V. Dual effects of plant steroidal alkaloids on *Saccharomyces cerevisiae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.50, n.8, p.2732-2740, 2006.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry**. 3ed. New York: Freeman, 1995. 887p.

TAVARES, M. A. G. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, n. 34. v. 2, p. 319 -323, 2005.

TORRECILLAS, S. M. **Efeito de extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) criada em diferentes genótipos de milho.** 1997. 141p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – ESALQ/USP. Piracicaba.

TORRECILLAS, S. M.; VENDRAMIM, J. D. Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. **Scientia Agricola**. v.58, n.1, 2001

TREVISAN, M.T.S. Atividades larvicida e anticolinesterásica de plantas do gênero *Kalanchoe*. **Química Nova**, v.29, p.415-418, 2006.

VIEGAS-JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**. v.26, n.3, p.390-400, 2003.

VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M. W. Inseticidas de origem vegetal. In: FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: UFSCar, 2001. p.23-45.