

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO**

**POTENCIAL DE EXTRATOS DE PLANTAS NO CONTROLE
DE INSETOS-PRAGA:
UM LEVANTAMENTO CIENCIOMÉTRICO E ANÁLISES
DE EFEITOS BIOLÓGICOS DE EXTRATOS FOLIARES DE
Serjania erecta Radlk EM *Chrysodeixis includens***

Autora: Samylla Tassia Ferreira de Freitas
Orientador: Dr. Fábio Henrique Dyszy
Coorientadora: Dra. Agna Rita dos Santos Rodrigues

**RIO VERDE - GO
Agosto – 2018**

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO**

**POTENCIAL DE EXTRATOS DE PLANTAS NO CONTROLE
DE INSETOS-PRAGA:
UM LEVANTAMENTO CIENCIOMÉTRICO E ANÁLISES
DE EFEITOS BIOLÓGICOS DE EXTRATOS FOLIARES DE
Serjania erecta Radlk EM *Chrysodeixis includens***

Autora: Samylla Tassia Ferreira de Freitas
Orientador: Dr. Fábio Henrique Dyszy
Coorientadora: Dra. Agna Rita dos Santos Rodrigues

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração em Conservação dos Recursos Naturais.

**RIO VERDE – GO
Agosto – 2018**

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

FF866[FREITAS, SAMYLLA TASSIA FERREIRA DE
[POTENCIAL DE EXTRATOS DE PLANTAS NO CONTROLE DE
INSETOS-PRAGA: UM LEVANTAMENTO CIENCIOMÉTRICO E
ANÁLISES DE EFEITOS BIOLÓGICOS...] / SAMYLLA TASSIA
FERREIRA DE FREITAS; orientador FÁBIO HENRIQUE
DYSZY; co-orientadora AGNA RITA DOS SANTOS
RODRIGUES. -- Rio Verde, 2018.
88 p.

Dissertação (Mestrado em BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio
Verde, 2018.

1. Atividade inseticida. 2. Extratos vegetais. 3.
Inibição enzimática. I. DYSZY, FÁBIO HENRIQUE ,
orient. II. RODRIGUES, AGNA RITA DOS SANTOS , co-
orient. III. Título.

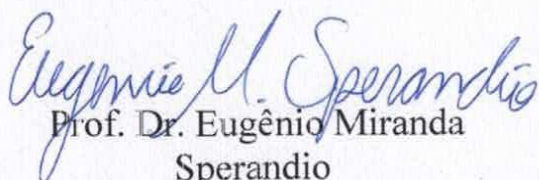
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

POTENCIAL DE EXTRATOS DE PLANTAS NO
CONTROLE DE INSETOS-PRAGA: UM LEVANTAMENTO
CIENCIOMÉTRICO E ANÁLISES DE EFEITOS
BIOLÓGICOS DE EXTRATOS FOLIARES DE *SERJANIA
ERECTA* RADLK EM *CHRYSODEIXIS INCLUDENS*

Autora: Samylla Tássia Ferreira de Freitas
Orientador: Fábio Henrique Dyszy

TITULAÇÃO: Mestre em Biodiversidade e Conservação – Área de
concentração Conservação dos Recursos Naturais.


APROVADA em 30 de agosto de 2018.



Prof. Dr. Eugênio Miranda
Sperandio
Avaliador externo
IF Goiano / Rio Verde



Prof^a. Dr^a. Cássia Cristina Fernandes
Alves
Avaliadora externa
IF Goiano / Rio Verde


Prof. Dr. Fábio Henrique Dyszy
Presidente da banca
IF Goiano / Rio Verde

DEDICATÓRIA

À Claudina Corrêa das Neves, tia Dina, por todo cuidado e amor que sempre teve comigo. Todos os nossos momentos ficarão sempre registrados em minha memória de forma especial: as histórias contadas ao pé da cama enquanto eu observava as fotinhos de seus monóculos; as apostas de corrida na volta para casa; os biscoitos fritos que fazíamos juntas; e os moranguinhos verdes colhidos direto do pé, porque eu era ansiosa demais para esperar madurar.

À Eva Luzia das Neves, minha mãe, pela melhor educação que eu poderia ter recebido, por todo o sacrifício que foi fundamental para que eu chegasse até aqui hoje. Pelo exemplo de determinação. Obrigada por ter sido meu apoio e colo em todas as vezes que eu pensei em desistir.

À Gabriella Ferreira Nogueira, minha filha, por pintar de rosa, além das paredes de casa, os meus dias antes sem cor. Por me ensinar a amar e a lutar com todas as minhas forças. Nada poderia me incentivar mais a buscar uma vida melhor do que fazer isso por você. Você é toda a minha razão.

Ao Diego Ferreira Nogueira, meu amor, pela amizade, companheirismo, por nunca me deixar sonhar nada sozinha e por todas as conquistas que só foram possíveis com você ao meu lado. Por acreditar que eu poderia chegar até aqui.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus que me permitiu superar todas as dificuldades que surgiram em meu caminho, aos meus amigos e familiares que sempre me apoiaram.

Ao meu orientador, professor Dr. Fábio Henrique Dyszy, por quem tenho enorme carinho, respeito e admiração. Obrigada pela oportunidade incrível de ser orientada por você, pela sua paciência, pelos seus conselhos e por todos os ensinamentos. Muito, muito obrigada.

À minha coorientadora, professora Dra. Agna Rita dos Santos Rodrigues, pela minha primeira oportunidade na pesquisa, pela amizade, por me permitir aprender tanto com você e pelas (tantas) vezes que além de professora você foi também terapeuta.

Ao pessoal com quem convivi no Laboratório de Entomologia Agrícola e que tornaram os dias mais leves e divertidos: Thariny, Jéssica, Natasha, Bruna, Romário, Oscar e Corina.

Ao Laboratório de Bioensaios e Biomoléculas, em especial ao professor Dr. Paulo Sérgio Pereira, à Ana Cláudia Cardoso Ataídes e à Sara Marques, por todo auxílio que me prestaram.

Ao Laboratório de Ecologia e Sistemática Vegetal, em especial à professora Dra. Gisele Cristina de Oliveira Menino e ao Alex Rios.

Ao Herbário da Universidade Federal do Mato Grosso e ao professor Dr. Germano Guarim Neto pela identificação da espécie vegetal estudada.

Ao pessoal do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal: professor Dr. Alan Carlos Costa, Adinan e Luciana.

Aos amigos que me auxiliaram em diversos momentos do mestrado: Carla Virgínio, Marcelino, Dayane Gomes, Marcela, Lucineide, Letícia, Giselle e Odineia

À professora Sandra Mara Santos Lemos que tanto me incentivou e incentiva a continuar.

À FAPEG pela bolsa de estudos concedida.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Samylla Tassia Ferreira de Freitas, filha de Eva Luzia das Neves e Wilton Pereira de Freitas, nasceu em Quirinópolis, Estado de Goiás, em 23 de outubro de 1991.

Em fevereiro de 2012 iniciou o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas no Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, formando-se em agosto de 2016. Em setembro de 2016, ingressou no programa de pós-graduação em Biodiversidade e Conservação, em nível de mestrado, área de concentração em Conservação de Recursos Naturais, submetendo-se à defesa de dissertação, requisito indispensável para a obtenção do título de mestre, em agosto de 2018.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE APÊNDICES.....	x
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	xi
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUÇÃO	5
1.1 A cultura da soja	6
1.2 O inseto-praga: <i>Chrysodeixis includens</i>	7
1.3 Inseticidas botânicos.....	10
1.4 O Domínio Cerrado	12
1.5 O gênero <i>Serjania</i> (Sapindaceae; Sapindales).....	13
1.6 <i>Serjania erecta</i> (Radlk).....	14
1.7 Referências Bibliográficas.....	16
2. OBJETIVOS	23
3. CAPÍTULO I. AVALIAÇÃO NACIONAL PARA INSETICIDAS BOTÂNICOS: TENDÊNCIA CIENTIFICA BRASILEIRA.....	24
3.1 Introdução.....	25
3.2 Material e Métodos	26
3.3 Resultados e Discussão.....	27
3.4 Considerações finais	38
3.5 Referências bibliográficas	38

4. CAPÍTULO II. EFEITOS DO EXTRATO FOLIAR METANÓLICO DE <i>Serjania erecta</i> RADLK (SAPINDACEAE) NA INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE <i>Chrysodeixis includens</i> (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	49
4.1 Introdução	50
4.2 Material e métodos	51
4.3 Resultados e Discussão	54
4.4 Considerações finais	57
5. CAPÍTULO III. EFEITO DO EXTRATO FOLIAR METANÓLICO DE <i>Serjania erecta</i> RADLK (SAPINDACEAE) NA ATIVIDADE DE CARBOXIL-ESTERASES EXTRAÍDAS DE <i>Crhysodeixis includens</i> (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	62
5.1 Introdução	63
5.2 Material e métodos	67
5.3 Resultados e discussão.....	69
5.4 Considerações finais	73
5.5 Referências Bibliográficas.....	73
CONCLUSÃO GERAL.....	77
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	78

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
<p>CAPÍTULO II: EFEITO DO EXTRATO METANÓLICO DE <i>Serjania erecta</i> Radlk NA INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE <i>Chrysodeixis includens</i></p>	
<p>Tabela 1. Parâmetros da regressão não-linear logística com três parâmetros estimados para redução de peso de lagartas neonatas e de segundo instar de <i>Chrysodeixis includens</i> quando submetidos a diferentes concentrações do extrato foliar metanólico de <i>Serjania erecta</i>.</p>	55
<p>Tabela 2. Influência de diferentes concentrações de extrato foliar metanólico de <i>Serjania erecta</i> no desenvolvimento de <i>Chrysodeixis includens</i>.....</p>	56
<p>CAPÍTULO III: EFEITO DO EXTRATO FOLIAR METANÓLICO DE <i>Serjania erecta</i> RADLK (SAPINDACEAE) NA ATIVIDADE DE CARBOXIL-ESTERASES EXTRAÍDAS DE <i>Crhysodeixis includens</i> (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)</p>	
<p>Tabela 1. V_{\max} (UA/s) e K_M (μM) de carboxil-esterases extraídas de intestinos de larvas de quarto instar de <i>C. includens</i> na ausência e na presença de 7,8 e 15,6 mg/mL de extrato metanólico foliar de <i>S. erecta</i>. Tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,0, T = 22 °C.</p>	71

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
INTRODUÇÃO	
Figura 1. Ciclo de desenvolvimento de <i>Chrysodeixis includens</i> (MOSCARDI, 2012). .. 9	
Figura 2. <i>Serjania erecta</i> registrada em fragmento de Cerrado de Rio Verde, Goiás. ... 14	
CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO NACIONAL PARA INSETICIDAS BOTÂNICOS: TENDÊNCIA CIENTÍFICA BRASILEIRA	
Figura 1. Resultados da busca realizadas nas bases de dados Web of Science e Scopus utilizando as palavras chave <i>botanical insecticide brazil</i> , <i>insecticide essential oil brazil</i> e <i>insecticide plant extract brazil</i> . Os resultados estão mostrados na forma de números de artigos publicados por ano (2002 – 2017). 28	
Figura 2. Porcentagens de espécies estudadas (n = 271) nos artigos analisados. Em (A), as espécies foram agrupadas de acordo com a família botânica; em (B), de acordo com a origem das espécies e em (C), de acordo com o status de conservação. 30	
Figura 3. Número de trabalhos publicados entre 2002 e 2017, organizando-os segundo as ordens de insetos estudadas nos últimos 15 anos para inseticidas botânicos no Brasil. 35	
CAPÍTULO II: EFEITO DO EXTRATO METANÓLICO DE <i>Serjania erecta</i> Radlk NA INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE <i>Chrysodeixis includens</i>	
Figura 1. Lagartas de <i>Chrysodeixis includens</i> expostas à dieta controle (esquerda) e à dieta contendo extrato metanólico de <i>Serjania erecta</i> aplicados à superfície na concentração de 20 mg/mL. 55	
Figura 2. Adultos de <i>Chrysodeixis includens</i> normal (esquerda) e morfologicamente deformado por influência do extrato foliar metanólico de <i>Serjania erecta</i> (direita). 56	

CAPÍTULO III: EFEITO DO EXTRATO FOLIAR METANÓLICO DE *Serjania erecta* RADLK (SAPINDACEAE) NA ATIVIDADE DE CARBOXYL ESTERASES EXTRAÍDAS DE *Crhysodeixis includens* (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

- Figura 1. Efeito da concentração do substrato sobre a velocidade inicial de uma reação catalisada por enzima. 66
- Figura 2. Modelos cinéticos (esquerda) e gráficos de duplos recíprocos (direita) para inibidores competitivos (A), incompetitivos (B) e mistos (C). 67
- Figura 3. Reação catalisada pelas carboxil-esterases, degradando o *p*-nitrofenil acetato em acetato e *p*-nitrofenol. 68
- Figura 4. Atividade remanescente de carboxil-esterases extraídas de intestinos de larvas de quarto instar de *C. includens* na presença de 500 μ M de substrato em diferentes concentrações do extrato metanólico foliar de *S. erecta*. 69
- Figura 5. Perfil cinético de carboxil-esterases extraídas de intestinos de larvas de quarto instar de *C. includens* na ausência e na presença de 7,8 e 15,6 μ g/mL de extrato metanólico foliar de *S. erecta*. Tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,0, T = 22 °C. 71
- Figura 6. Gráfico dos duplos recíprocos para carboxil-esterases extraídas de intestinos de larvas de quarto instar de *C. includens* na ausência e na presença de 7,8 e 15,6 μ g/mL de extrato metanólico foliar de *S. erecta*. Tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,0, T = 22 °C. 72

ÍNDICE DE APÊNDICES

	Página
MATERIAL SUPLEMENTAR	
Tabela 1: Famílias e espécies avaliadas como inseticidas botânicos no Brasil, origem e categoria de ameaça	76

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

Sigla	Significado
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DMSO	Dimetilsulfóxido
EP	Erro padrão
ES	Complexo enzima-substrato
IC ₅₀	Inibição de crescimento 50%
K_I	Constante de inibição
K_M	Constante de Michaelis
PNP	<i>p</i> -nitrofenol
PNPA	<i>p</i> -nitrofenil acetato
PVC	Policloreto de Vinila
RCF	Força Centrífuga Relativa
UR	Umidade Relativa
V_{max}	Velocidade máxima da enzima
v_o	Velocidade inicial
[S]	Concentração do substrato

RESUMO

A lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens*, destaca-se entre as pragas primárias da soja, onde tem reduzido a produtividade dessa cultura. A principal forma de controle deste inseto-praga é através de inseticidas sintéticos. Entretanto, tais produtos são nocivos ao meio ambiente, à biodiversidade, à saúde humana, e, além disso, há o registro da seleção de pragas resistentes aos inseticidas comercialmente disponíveis. Pesquisas envolvendo inseticidas botânicos elaborados a partir de extratos vegetais representam uma alternativa na busca por novas moléculas com ação inseticida que causem menor impacto ao meio ambiente. *Serjania erecta* Radlk, uma espécie nativa do domínio Cerrado, é rica em importantes compostos bioativos com diferentes alvos. O objetivo deste trabalho foi (i) analisar a tendência de pesquisas envolvendo inseticidas botânicos no Brasil a partir de levantamento em bases de dados; (ii) controlar populações de *C. includens*, minimizando os riscos aos agentes polinizadores, inimigos naturais e meio ambiente, através do extrato metanólico de *Serjania erecta* e (iii) investigar a inibição de enzimas carboxil-esterases extraídas de lagartas *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera) mediante exposição ao extrato foliar metanólico de *S. erecta*. A busca resultou em 93 artigos, e evidenciou um crescimento no número de publicações ao longo dos últimos 15 anos. Diptera foi a principal ordem de inseto-alvo dos inseticidas botânicos, tendo como alvo o controle de mosquitos do gênero *Aedes*, vetores de doenças. Ordens de insetos que reduzem a produtividade de culturas agrícolas apresentaram crescimento em estudos, como Coleoptera, Lepidoptera e Hemiptera. Já ordens como Phthiraptera, Siphonaptera e Odonata não apresentaram aumento na produção científica. A família botânica mais estudada em ensaios de atividade inseticida foi Fabaceae, que apresenta maior riqueza de espécies no Brasil, seguida por Myrtaceae, Asteraceae e Meliaceae. Os extratos foliares de *S. erecta* diminuíram o peso de pupa quando comparados ao tratamento controle. Com relação à duração dos desenvolvimentos larval, pupal e total foi observado que os tratamentos contendo extrato tiveram o tempo de desenvolvimento aumentado. Esses efeitos podem estar relacionados aos compostos fenólicos presentes em extratos de *S. erecta*, reportados anteriormente na literatura. A atividade das carboxil-esterases diminuiu em 41,96 e 43,43% nas concentrações de 7,8 e 15,6 µg/mL de extrato, respectivamente. A partir da concentração de 31,3 µg/mL de extrato metanólico foliar de *S. erecta*, não foi possível detectar atividade enzimática. Na presença dos extratos ocorreu uma diminuição de V_{max} , e uma manutenção nos valores de K_M , o que poderia indicar uma inibição do tipo mista, devido às diferentes moléculas presentes em extratos brutos, que podem atuar no mecanismo enzimático de diferentes formas. Com isso, esse trabalho permite concluir que os inseticidas botânicos apresentaram efeitos de repelência e toxicidade aguda, mostrando-se eficazes no controle de insetos-praga e por essa razão

os estudos destes compostos deve ser encorajado. Além disso, o extrato metanólico de *S. erecta* tem potencial para controlar lagartas *C. includens* e também mostrou potencial inibitório de carboxil-esterases.

Palavras-chave: atividade inseticida; extratos vegetais; inibição de Carboxil-esterases; inibição enzimática.

ABSTRACT

The soybean looper, *Chrysodeixis includens*, stands out among the primary soybean pests, where it has reduced the productivity of this crop. Synthetic insecticides is the main form of control of this plague. However, such products are harmful to the environment, biodiversity, human health, and, in addition, there is a description of the selection of plague resistant to commercially available insecticides. Works involving botanical insecticides obtained from plant extracts represent an alternative in the search for new molecules with insecticidal action that cause less impact to the environment. *Serjania erecta* Radlk, a native species from the Cerrado domain, is rich in important bioactive compounds with different targets. The objective of this work was (i) to analyze the trend of research involving botanical insecticides in Brazil from a survey in databases; (ii) to control *C. includens* populations, minimizing the risks to pollinating agents, natural enemies and the environment, through the methanolic extract of *Serjania erecta* and (iii) to investigate the inhibition of carboxyl esterase enzymes extracted from caterpillars *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera) through exposure to the methanolic foliar extract of *S. erecta*. The search resulted in 93 articles, and evidenced a growth in the number of publications over the last 15 years. Diptera was the main target insect order of botanical insecticides, targeting the control of mosquitoes of the genus *Aedes*, vectors of diseases. Insect orders that reduce crop yields showed growth in studies, such as Coleoptera, Lepidoptera and Hemiptera. Orders such as Phthiraptera, Siphonaptera and Odonata showed no increase in scientific production. The most studied botanic family in insecticide activity trials was Fabaceae, which has the highest species richness in Brazil, followed by Myrtaceae, Asteraceae and Meliaceae. The leaf extracts of *S. erecta* decreased the pupal weight when compared to the control treatment. Regarding the duration of larval, pupal and total development, it was observed that the treatments containing extract had the development time increased. These effects may be related to the phenolic compounds present in extracts of *S. erecta*, previously reported in the literature. The activity of the carboxyl esterases decreased in 41.96 and 43.43% in the concentrations of 7.8 and 15.6 $\mu\text{g} / \text{mL}$ extract, respectively. From the concentration of 31.3 $\mu\text{g} / \text{mL}$ foliar methanolic extract of *S. erecta*, it was not possible to detect enzymatic activity. In the presence of the extracts, a reduction of V_{max} and a maintenance in the K_M values occurred, which could indicate an inhibition of the mixed type, due to the present molecules present in crude extracts, that can act in the enzymatic mechanism of different forms. Thus, this work shows that botanical insecticides showed effects of repellency and acute toxicity, proving to be effective in the control of insect pests and for this reason the studies of these compounds should be

encouraged. In addition, the methanolic extract of *S. erecta* has potential to control *C. includens* caterpillars and has also shown inhibitory potential of carboxyl esterases.

Keywords: insecticidal activity; plant extracts; carboxyl-esterases inhibition; enzymatic inhibition;

1. INTRODUÇÃO

Dados apresentados pela CONAB (2018) mostram que a estimativa da produção de grãos para a safra 2017/18 poderá ficar entre 224,17 e 228,21 milhões de toneladas, sendo a área plantada entre 60,89 e 62,02 milhões de hectares, um crescimento de 1,8% se comparada com a safra 2016/17. O Brasil está em segundo lugar entre os maiores produtores de soja do mundo (Cattelan e Dall’Agnol, 2018). Dentre as pragas que reduzem a produtividade dessa e de outras culturas de importância econômica pode-se destacar a lagarta falsa medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Carvalho et al., 2012), espécie de hábito desfolhador que ocorre restritamente no Hemisfério Ocidental (Alford et al., 1982; Moscardi et al., 2012). De acordo com Bernardi (2012) essa espécie tem se tornado um grande problema fitossanitário, visto que as intensas aplicações de fungicidas para o controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) podem ter promovido a redução do controle biológico de *C. includens*, que era mantida em equilíbrio por epizootias de fungos (Moscardi et al., 2012).

O principal método de controle de *C. includens* ocorre através da aplicação de inseticidas sintéticos. No entanto, como demonstrado em revisão realizada por Müller (2018) muitos organismos não alvo, incluindo organismos benéficos são afetados por esses compostos.

Uma opção que permite o desenvolvimento da agricultura sem tantas agressões ao meio ambiente é fazer uso de inseticidas botânicos. De acordo com revisão de Hagstrum e Phillips (2017), produtos vegetais, como pós ou óleos extraídos de folhas, raízes, flores, frutos ou sementes, são utilizados no controle de pragas, sendo os ácidos graxos, fenóis, alcalóides e terpenos os ingredientes ativos mais comuns. Esses produtos podem ser inseticidas de contato, repelentes, com efeitos antinutrientes, ou podem agir reduzindo a reprodução. Os extratos de plantas são facilmente degradados pela luz, ar,

chuva e enzimas desintoxicantes, além de oferecerem menor risco de selecionar insetos-pragas resistentes (Menezes, 2005).

Estima-se que o Cerrado possui pelo menos 12.000 espécies de plantas superiores (Novaes et al., 2013). *Serjania erecta*, conhecida como cipó cinco folhas, está entre as espécies vegetais nativas desse bioma. Foram detectados nessa planta metabólitos secundários como as saponinas, flavonoides, taninos e terpenos (Fernandes et al., 2011). Sptizer (1996) relaciona essas substâncias à intensa atividade inseticida das plantas da família Sapindaceae.

A conservação de recursos naturais do Cerrado justifica-se pelo alto potencial biotecnológico presente nas diferentes espécies nativas deste bioma. Santos (2003) afirma que o conhecimento da biodiversidade é extremamente escasso e uma das formas mais efetivas para a desaceleração da perda da biodiversidade é através do desenvolvimento de programas de conservação e o uso sustentado dos recursos biológicos.

Associada à biodiversidade, a biotecnologia é entendida como um conjunto de técnicas que permitem o uso de organismos para fins médicos, agrícolas, agroindustriais e ambientais (Valois, 1998). Entende-se que, conhecendo o potencial biotecnológico de espécies, é possível promover programas e estratégias de conservação (Santos, 2003). *Serjania erecta* é uma espécie promissora dentro deste contexto, pois estudos anteriores mostram que seus extratos exibiram efeitos de inibição enzimática em acetilcolinesterase (Broggini et al., 2010), enzima alvo de inseticidas. Dessa forma, pode-se considerar *S. erecta* como uma candidata a fornecer compostos como forma de controle de *C. includens*, buscando a conservação de inimigos naturais, fauna e flora local, reduzindo o uso de inseticidas sintéticos e gerando novas tecnologias a partir de biomoléculas isoladas de espécimes do Cerrado.

1.1 A cultura da soja

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma cultura de grande importância econômica mundial, sendo que os grãos são utilizados na agroindústria, indústria química, de alimentos e de bioenergia (Freitas, 2011). O cultivo da soja no Brasil teve início em 1882, no estado da Bahia e, posteriormente, essa cultura foi levada para São Paulo por imigrantes japoneses e em 1914 foi introduzida no Sul do país, dando início ao cultivo (Freitas, 2011). A partir da década de 1980, a cultura de soja teve participação no desenvolvimento de regiões do Mato Grosso e de Goiás (Freitas, 2011).

Cattelan e Dall'Agnol (2018) relatam que a soja, antes uma cultura menor (até a década de 1960, quando estava restrita à região Sul), é hoje a principal cultura no Brasil. Sua expansão foi possível graças ao desenvolvimento de cultivares bem adaptadas às condições de baixa latitude da região Centro-Oeste. Esse grão tem sido a força motriz por trás do recente desenvolvimento agrícola do Brasil, com impacto econômico e social.

A utilização de inseticidas é um ponto chave no manejo de pragas, sendo que a produtividade é diretamente influenciada pela eficiência deste controle (Rodrigues, 2012). De acordo com Freitas (2011), o avanço de cultivares de soja esteve associado ao desenvolvimento científico e tecnológico, que tornaram possíveis programas de melhoramento, já que aproximadamente 40 doenças de diferentes etiologias acometem essa cultura. Ainda assim, o ataque de várias pragas, como percevejos fitófagos e lagartas desfolhadoras, é um desafio.

As primeiras tentativas de controle de pragas foram realizadas com inseticidas de primeira geração contendo grupos funcionais com arsênio ou flúor (Rodrigues, 2012; Casida, 1980). Os inseticidas de segunda geração, por sua vez, continham hidrocarbonetos clorados, e o problema com estas pragas foi considerado controlado. Estes inseticidas eram letais a praticamente qualquer praga, e agiam em doses baixas quando comparados aos inseticidas de primeira geração. No entanto, a alta letalidade e persistência destes inseticidas trouxeram diferentes problemas ambientais e toxicológicos (Rodrigues, 2012).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) deve integrar diversos métodos de controle. Programas de MIP estão, de acordo com Hagstrum e Phillips (2017), sendo aperfeiçoados para atender aos padrões regulatórios e de mercado. Estudos ecológicos têm sido usados para otimizar o de manejo de pragas, entretanto, mais pesquisas são necessárias sobre como os diferentes métodos de controle podem ser combinados para melhorar a eficácia e garantir a segurança dos alimentos pós-colheita.

1.2 O inseto-praga: *Chrysodeixis includens*

A espécie *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera, Noctuidae) (Walker, 1857), conhecida como lagarta falsa medideira devido ao seu movimento que parece medir palmas, possui hábito desfolhador, característica por não se alimentar das nervuras das folhas, dando-lhes um aspecto rendilhado, ameaçando a produtividade de culturas. De

acordo com Alford (1982), essa espécie ocorre desde o norte dos Estados Unidos até a América do Sul.

Por muito tempo, essa espécie foi referida por *Pseudoplusia includens*, entretanto, o gênero *Pseudoplusia* foi reavaliado como *Chrysodeixis*, sendo essa a classificação científica válida atualmente (Moscardi et al., 2012). Apesar disso, buscas realizadas na base de dados *Web of Science* (Thomson Reuters Scientific) fornecem 39 resultados quando pesquisadas as palavras-chave “*Chrysodeixis includens*” e 498 resultados quando pesquisadas as palavras-chave “*Pseudoplusia includens*”, incluindo artigos recentes do ano de 2017.

A lagarta falsa-medideira (Figura 1) possui coloração verde clara, com linhas longitudinais brancas no dorso e três pares de pernas abdominais (Benassi et al., 2012), chegando a medir entre 40 e 45 mm, passando por seis instares, durando esse estágio entre 13 e 20 dias (Moscardi et al., 2012). Em sua fase pupal, que dura entre 7 e 9 dias, possui coloração verde, ficando recoberta por uma teia na superfície abaxial da folha, permanecendo até a emergência do indivíduo adulto (Moscardi et al., 2012). Quando adulta, possui coloração acinzentada, com duas manchas prateadas no primeiro par de asas e medem cerca de 35 mm de envergadura (Benassi et al., 2012; Cardoso e Louzada, 2015). Os ovos, de coloração amarelada, são globulares e medem 0,5 mm (Moscardi et al., 2012). O acasalamento dos adultos ocorre entre às 22 horas e 4 horas, sendo que as fêmeas liberam feromônio sexual. Cada fêmea oviposita cerca de 700 ovos durante sua vida, podendo haver variações. A longevidade dos indivíduos adultos é de 15 dias em média (Moscardi et al., 2012).



Figura 1. Ciclo de desenvolvimento de *Chrysodeixis includens* (MOSCARDI, 2012).

Surtos de *C. includens* são frequentemente detectados no oeste da Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul, sendo que essa espécie é melhor adaptada a localidades mais quentes (Moscardi et al., 2012). Devido a sua capacidade polífaga, são conhecidas 73 espécies hospedeiras de *C. includens*, sendo essas espécies de 29 famílias diferentes. Dentre estas 73 espécies hospedeiras, destacam-se, do ponto de vista econômico, as culturas de girassol, tabaco, milho, algodão e soja, embora sua preferência alimentar seja esta última (Bernardi, 2012).

Aplicações de fungicidas passaram a ser uma prática comum após a ocorrência da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), o que resultou na redução de fungos entomopatogênicos que controlavam a lagarta falsa-medideira (SOSA-GÓMEZ et al., 2003; Moscardi et al., 2012). A aplicação de produtos não seletivos misturados a herbicidas estão contribuindo para desequilibrar o agroecossistema da soja, prejudicando o controle biológico natural e favorecendo o surgimento de pragas secundárias (Moscardi et al., 2012).

Atualmente, são registrados no AGROFIT 88 produtos para controle de *C. includens* na cultura da soja (AGROFIT, 2018), dentre eles: inibidores de acetilcolinesterase (organofosforados, antranilamidas e metilcarbamatos de oxima), moduladores de canais de sódio (piretróides, semicarbazones e oxadiazinas), produtos que interferem nos processos de muda de tegumento (benzoiluréias), moduladores dos receptores de Rianodina (diamidas), feromônio sintético (acetato insaturado) e inseticidas biológicos (*Trichogramma pretiosum* e *Bacillus thuringiensis*).

1.3 Inseticidas botânicos

O metabolismo primário dos seres vivos é responsável pela produção de substâncias que realizam funções vitais aos organismos. Ele é responsável pela síntese de aminoácidos, lipídeos, ácidos nucléicos e carboidratos (Pereira e Cardoso, 2012). As plantas possuem, além desse metabolismo básico, metabólitos secundários com atividade biológica marcante aos seres vivos.

Durante o período evolutivo, as plantas desenvolveram mecanismos sofisticados de defesa. A diversificação de plantas com flores, durante o período Cretáceo, ocorreu de forma simultânea à explosão de insetos, o que permitiu que plantas com adaptações defensivas fossem selecionadas (Miresmailli e Isman, 2014). Para proteger a folhagem de herbívoros, as folhas geralmente usam mecanismos de defesa, como textura coriacea, tricomas e compostos fenólicos (Novaes et al., 2013)

Miresmailli e Isman (2014) relata que os mecanismos tóxicos estão presentes nas plantas ou são induzidos após ataque de herbívoros. Além disso, as plantas podem possuir precursores menos tóxicos que são metabolizados em toxinas ativas quando predadas. Além da importância que essas substâncias realizam para as plantas, como a defesa a patógenos, esses compostos também possuem atividade farmacológica, agrônômica e comercial importantes (Pereira e Cardoso, 2012).

Os metabólitos secundários são produzidos a partir de precursores e classificados baseado em suas vias biossintéticas. Eles podem ser classificados como compostos nitrogenados, poliacetatos, fenóis e terpenos, sendo que em quase todas essas classificações existem compostos com atividade inseticida (Miresmailli e Isman, 2014).

De acordo com Miresmailli e Isman (2014), os inseticidas botânicos são misturas complexas de vários metabólitos secundários que podem interagir na forma de sinergismo ou antagonismo, afetando a toxicidade do inseticida botânico. Uma das

diferenças entre inseticidas botânicos e muitos inseticidas sintéticos é que os últimos possuem, muitas vezes, apenas um ingrediente ativo. Há dificuldade de padronização dos inseticidas botânicos devido à grande variabilidade na qualidade e composição dos extratos elaborados a partir de toxinas de plantas. A variabilidade pode ser natural ou resultado de diferentes metodologias e/ou períodos do ano de coleta e extração (Miresmailli e Isman, 2014).

Isman e Grieneisen (2013) relatam que antes da descoberta, na década de 1930, do Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT) e da Parationa metílica, os inseticidas botânicos, como a nicotina, dominavam o comércio de inseticidas. A partir da década de 1970, com a descoberta de inseticidas sintéticos de baixo custo e eficazes, como os organoclorados, organofosfatos e carbamatos, os inseticidas botânicos começaram a ser abandonados, possuindo hoje uma pequena participação de mercado.

Durante a década de 1980, o interesse pelos inseticidas botânicos foi retomado pela descoberta da intensa atividade inseticida de sementes da planta nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae), que havia sido originalmente descrito na década de 1960. Essa planta tornou-se objeto de inúmeros estudos e também de conferências a partir de então, sendo atualmente dominante em pesquisas acerca de inseticidas botânicos. Óleos essenciais também são atraentes para pesquisas científicas devido a facilidade de preparo, análise e diversidade de plantas que podem ser utilizadas na obtenção do composto (Isman e Grieneisen, 2013).

Os inseticidas botânicos são mais instáveis e por essa razão são facilmente degradáveis quando expostos a luz solar, temperaturas acima de 40 °C e ao oxigênio presente no ar (Menezes, 2005; Miresmailli e Isman, 2014). Após a extração dos produtos químicos, seus constituintes podem sofrer danos oxidativos ou transformações químicas, podendo, também, diminuir a qualidade conforme envelhecem. Para contornar estes problemas, técnicas como a microencapsulação podem proteger esses compostos de sofrerem degradação (Marques, 2010; Miresmailli e Isman, 2014).

Os inseticidas botânicos mostraram sucesso também em ensaios combinados aos inseticidas sintéticos e também quando empregados em conjunto com o controle biológico, podendo ser incorporados em manejo integrado de pragas (ARREBOLA, 2010; Kumar et al., 2013; Miresmailli e Isman, 2014), reduzindo a quantidade de ingredientes ativos dos inseticidas sintéticos aplicados em campo.

Isman e Grieneisen (2013) relata que, embora haja crescimento significativo na literatura científica acerca do tema, muitos desses trabalhos não trazem novidades,

sendo muitas vezes triagens de espécie única de planta, sem caracterização química do composto. Esses estudos, de acordo com esse autor, poderiam ser voltados a pequenos produtores com poucos recursos ou para o desenvolvimento industrializado desses compostos. Isman e Grieneisen (2013) ainda sugerem que esses extratos sejam testados a campo, em parceria com agricultores locais.

De acordo com Novaes et al. (2013), em ensaios de bioatividade de plantas do domínio Cerrado, as folhas foram as partes de plantas mais utilizadas, seguidas por cascas e raízes. A cortiça de plantas do Cerrado e os seus metabólitos secundários estão presentes para evitar a herbívora. Muitos metabólitos secundários podem também ser sintetizados e armazenados nas raízes, podendo ser exsudados com o objetivo de reduzir o ataque de patógenos, apresentando atividade inseticida.

1.4 O Domínio Cerrado

De acordo com Coutinho (2006), o Cerrado é considerado uma savana, o que pode ser conceituado como uma natureza fitofisionômica ou um grande tipo de ecossistema com vegetação particular. Coutinho (2006) ainda relata que o Cerrado não é um bioma único, mas um complexo de biomas que vão do campo limpo ao cerradão. Dada sua complexidade e importância, o domínio Cerrado é considerado um dos *hot spots* prioritários para a conservação da biodiversidade (Myers, 2000).

Quanto à sua localização brasileira, compreende praticamente todo o estado de Goiás, o oeste da Bahia, oeste de Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Maranhão, Piauí, Rondônia, além de pequenos fragmentos no Nordeste, São Paulo e Paraná (Eiten, 1972).

As fitofisionomias pertencentes a esse domínio são: cerrado *sensu latu*, florestas de galeria, campos paludosos, campos rupestres, florestas tropicais sempre verdes, florestas tropicais estacionais semidecíduas e florestas tropicais estacionais decíduas (Coutinho, 2006).

Trata-se de um tipo de savana geologicamente jovem, sendo que os seus clados não ultrapassam 10 milhões de anos. No Brasil, ocupa 2 milhões de km², sendo muito rico em espécies e com altos níveis de endemismo (Pennington e Lavin, 2015), além de ser o segundo maior ecossistema da América do Sul (Franco et al., 2014).

Esse domínio está sujeito a períodos de seca irregular, com temperatura média anual entre 20 a 26 °C e precipitação média entre 1.000 a 2.000 mm (Silva et al., 2008;

Franco et al., 2014). Como características geológicas, os biomas do domínio Cerrado se destacam pela pobreza em nutrientes e altos níveis de alumínio (Franco et al., 2014).

O domínio Cerrado possui aproximadamente 12.000 espécies de plantas superiores (Novaes et al., 2013). As árvores desse domínio possuem suas chances de resistir a incêndios aumentadas e podem construir reservas de carbono e nutrientes no solo, dando condições de resistir a eventos estressantes (Franco et al., 2014).

Novaes et al. (2013), em revisão, considera que por se tratar de um ambiente de acesso mundial, o número de espécies vegetais do Cerrado que tiveram bioatividade estudada é baixo, embora haja carência de dados mais recentes que abordem esta temática. As espécies associadas ao maior número de artigos publicados pertencem as famílias Myrtaceae, Fabaceae, Bignoniaceae e Melastomataceae, sendo famílias de maior abundância nesse ecossistema. Os estudos de bioatividade revelaram que compostos isolados de plantas de Cerrado possuem atividades fitotóxicas, moluscicida, inseticida, fungicida e antibacterianas.

Martinelli et al. (2010) relata que o Cerrado é o segundo ‘bioma agrícola’ mais importante do Brasil e que metade da sua vegetação já foi substituída por cultivares ou pastagens. Essa é uma grande ameaça às suas espécies nativas. Esse domínio é uma fonte de compostos bioativos pouco explorados, preservando as suas espécies, preservar-se também uma enorme riqueza de novos produtos bioativos (Novaes et al., 2013).

1.5 O gênero *Serjania* (Sapindaceae; Sapindales)

A família Sapindaceae (JUSS, 1789) pertence à ordem Sapindales, compreendendo 136 gêneros e 1756 espécies de distribuição mundial. No Brasil estão presentes 28 gêneros e 418 espécies, sendo 190 endêmicas (Somner et al., 2015).

As subfamílias de Sapindaceae se dispersaram no meio do período Cretáceo, a partir do Sudeste Asiático. Juntamente com as famílias Bignoniaceae e Fabaceae, Sapindaceae está entre os principais componentes da vegetação de angiospermas da região neotropical. A tribo Paullinieae contém aproximadamente um terço da família, incluindo cerca de 470 espécies que são lianas ou vinhas (Stevens, 2001).

Acevedo-Rodriguez (1990) relata que o gênero *Serjania* inclui aproximadamente 226 espécies, que possuem, em sua maioria, característica perene, arbórea, sendo dispersadas principalmente pelo vento. Os principais centros de distribuição das espécies desse gênero estão em países como México, Brasil e Argentina, ocorrendo em

matas ou em vegetações relativamente abertas, ao longo de margens de florestas ou em áreas perturbadas.

No Brasil existem aproximadamente 92 espécies de *Serjania*, sendo que 47 são endêmicas. A maioria dessas espécies ocorre ao longo do domínio Cerrado, especialmente em margens de florestas de galeria, sendo menos comuns nas regiões de cerradão e campo sujo (Acevedo-Rodriguez, 1990).

De acordo com Quintanilla e Pinto (2014), as classes de compostos isolados e classificados de espécies do gênero foram aminoácidos, alcaloides, esteróis, terpenoides, saponinas e poliprenóis. As propriedades biológicas que as espécies possuem incluem inibição das enzimas acetilcolinesterase, butirilcolinesterase, além de propriedades anticancerígena, analgésica, gastroprotetora, anti-inflamatória, antioxidante, anti-parasitária, antifúngica e repelente (Quintanilla e Pinto, 2014).

1.6 *Serjania erecta* (Radlk)

Conhecida por seus nomes populares cipó-cinco-folhas, cinco folhas, retrato de teiú e timbó, *Serjania erecta* Radlk (Figura 2) é um cipó composto por cinco folhas folioladas, margem dentado-serreada, com estípulas triangulares persistentes, e pecíolos e raque alados. Suas flores brancas perfumadas possuem entre 7 e 9 mm, cinco sépalas e pétalas de 7 a 8 mm. O fruto desta espécie é coriáceo, com sementes inseridas na base dos lóculos (Somner et al., 2009).



Figura 2. *Serjania erecta* registrada em fragmento de Cerrado de Rio Verde, Goiás.

Essa espécie é nativa do domínio Cerrado, sendo encontrada na Bolívia, Paraguai e Brasil. No Brasil, pode ser encontrada nos estados da Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Minas Gerais e Paraná. De outubro a dezembro, pode ser coletada com flores e, entre fevereiro e abril, com frutos (Somner et al., 2009).

Esta espécie é rica em compostos fenólicos tais como taninos e flavonoides (Gomig et al., 2008; Slomp et al., 2009; Brogгинi et al., 2010; Fernandes et al., 2011; Cardoso et al., 2013; Guimarães et al., 2015). Alguns estudos identificaram os flavonoides quercetina, isovitexina e vitexina, kaempferol, epicatequina e catequina em extratos de *S. erecta* (Gomig et al., 2008; Cardoso et al., 2013; Guimarães et al., 2015). Quintanilla e Pinto (2014) relatam que já foram identificados também esteroides, saponinas e tripernoides nessa espécie. Os compostos fenólicos podem reduzir a sobrevivência e o crescimento dos insetos, uma vez que têm efeito de inibição enzimática (Mello e Silva-Filho, 2002). Extratos que apresentavam saponinas em sua composição, por sua vez, mostraram efeitos na redução de alimentação de lagartas, além de inibição do desenvolvimento (Eddaya et al., 2013).

A maioria dos trabalhos realizados com *S. erecta* são voltados à indústria farmacêutica, consistindo de pesquisas desenvolvidas em camundongos (*Mus musculus*) (Gomig et al., 2008; Arruda et al., 2009; Brogгинi et al., 2010; Fernandes et al., 2011; Nossa et al., 2013; Potrich et al., 2014; Guimarães et al., 2015) ou ensaios de inibição enzimática (Broggini et al., 2010). O extrato hidroalcolólico de caules e folhas de *S. erecta* mostrou atividade anti-inflamatória tópica em ratos (Gomig et al., 2008).

Bioensaios realizados com os nematoides *Pratylenchus zae* e *Pratylenchus jaehni* utilizando extratos etanólicos de *S. erecta* mostraram efeitos nematicidas significativos, mostrando que esse extrato pode ser útil para o controle de patógenos agrícolas (Slomp et al., 2009).

Estudo realizado por Arruda et al. (2009) avaliou a ação gastroprotetiva de extratos metanólico e clorofórmio de folhas de *S. erecta*. Os resultados desse estudo demonstraram a atividade gastroprotetiva das folhas de *S. erecta*. De acordo com o autor, o mecanismo de defesa inclui o aumento da mucosa gástrica, estimulando nervos aferentes sensíveis que previnem e atenuam o processo da úlcera.

Broggini et al. (2010) realizou estudos com o extrato bruto e frações de *S. erecta*, que além de apresentar baixa toxicidade, mostraram efeitos de inibição das

enzimas acetilcolinesterase e butilcolinesterase in vitro, além de suprimir a perda de memória em roedores.

Ensaio realizado por Fernandes et al. (2011) mostram também que o extrato metanólico de *S. erecta* possui atividade antiofidiana devido à presença de compostos fenólicos como flavonóides e taninos, que são capazes de inibir as atividades tóxicas do veneno de cobra de *Bothrops jararacussu* e miotoxinas isoladas.

Ensaio realizado com microrganismos revelaram que o extrato etanólico de folhas e raízes de *S. erecta* inibiu o crescimento de *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella setubal*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Escherichia coli* (Cardoso et al., 2013).

Resultados encontrados por Guimarães et al. (2015) sugerem que os flavonóides glicosilados que existem nas folhas de *S. erecta* protegem as células PC12, utilizadas em estudos de diferenciação neuronal, da toxicidade induzida pelo peptídeo A β , que parece ser responsável pela morte neuronal na doença de Alzheimer. Este trabalho mostrou que os flavonóides glicosilados de *S. erecta* inibem a produção de óxido nítrico nessas células, diminuindo a morte neuronal causada por essa doença neurodegenerativa.

Em razão da importante e ampla atividade biológica de *S. erecta* e da ausência de ensaios realizados com insetos, especialmente com insetos de importância agrícola, foi testada a hipótese de que seus metabólitos secundários podem influenciar o desenvolvimento de lagartas *C. includens*, bem como inibir enzimas importantes de seu metabolismo.

1.7 Referências Bibliográficas

ACEVEDO-RODRIGUEZ, Pedro. Distributional patterns in brazilian *Serjania* (Sapindaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 69-82, 1990.

AGROFIT. Consulta de Praga. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em setembro de 2018.

ALFORD, R. et al. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybean ecosystems as determined with loop lure-baited traps. **Journal of Economic Entomology**, v. 75, n. 4, p. 647-650, 1982.

ARREBOLA, E. et al. Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. **Crop Protection**, v. 29, n. 4, p. 369-377, 2010.

ARRUDA, A. P. C. C. B. N. et al. Gastroprotective effect of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae): involvement of sensory neurons, endogenous nonprotein sulfhydryls, and nitric oxide. **Journal of medicinal food**, v. 12, n. 6, p. 1411-1415, 2009.

BENASSI, V. L. R. M. et al. Lagarta-falsa-medideira, *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857), nova praga do maracujazeiro no Espírito Santo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 941-943, 2012.

BERNARDI, O. Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil. 2012. 144f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

BROGGINI, L. S. C. et al. Behavioral and enzymatic bioassays with *Serjania erecta* Radlk., Sapindaceae, correlated with cognitive dysfunctions. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 519-528, 2010.

CARDOSO, D. C. B.; LOUZADA, G. A. de S. Lagarta Falsa-Medideira *Pseudoplusia includens*, importância econômica e seu difícil controle na cultura da soja. **Acta Iguazu**, v. 4, n. 3, p. 48-65, 2015.

CARDOSO, C. A. L. et al. Phenolic compounds and antioxidant, antimicrobial and antimycobacterial activities of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 4, p. 775-782, 2013.

CARVALHO, L. C. et al. Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta falsa-medideira na cultura da soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, p. 1021-1034, 2012.

CASIDA, J. E. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. **Environmental health perspectives**, v. 34, p. 189, 1980.

CATTELAN, Alexandre José; DALL'AGNOL, Amélio. The rapid soybean growth in Brazil. **OCL**, 2018.

CONAB. **Acompanhamento da safra Brasileira grãos**, Safra 2017/18 – Primeiro Levantamento. Brasília-DF: 2018.

COUTINHO, L. M. O conceito de bioma. **Acta botânica brasílica**, v. 20, n. 1, p. 13-23, 2006.

EITEN, G. The cerrado vegetation of Brazil. **The Botanical Review**, v. 38, n. 2, p. 201-341, 1972.

GUIMARÃES, C. C. et al. The glycosylated flavonoids vitexin, isovitexin, and quercetrin isolated from *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) leaves protect PC12 cells against amyloid- β 25-35 peptide-induced toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 86, p. 88-94, 2015.

FERNANDES, R. S. **Avaliação da atividade antiofídica do extrato de *Serjania erecta* Radlk in natura e in vitro: isolamento e caracterização estrutural de compostos bioativos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2011.

FERNANDES, R. S. et al. Neutralization of pharmacological and toxic activities of *Bothrops jararacussu* snake venom and isolated myotoxins by *Serjania erecta* methanolic extract and its fractions. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2011.

FRANCO, A. C. et al. Cerrado vegetation and global change: the role of functional types, resource availability and disturbance in regulating plant community responses to rising CO₂ levels and climate warming. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 26, n. 1, p. 19-38, 2014.

FREITAS, M. C. M.. A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, 2011.

GOMIG, F. et al. Topical anti-inflammatory activity of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) extracts. **Journal of ethnopharmacology**, v. 118, n. 2, p. 220-224, 2008.

GUARIM NETO, G.. Plantas medicinais do estado do Mato Grosso. **Brasília: ABEAS**, 1996.

HAGSTRUM, David W.; PHILLIPS, Thomas W. Evolution of stored-product entomology: protecting the world food supply. **Annual review of entomology**, v. 62, p. 379-397, 2017.

ISMAN, M. B.; GRIENEISEN, M. L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. **Trends in plant science**, v. 19, n. 3, p. 140-145, 2013.

KUMAR, P. M. et al. Integration of botanical and bacterial insecticide against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. **Parasitology research**, v. 112, n. 2, p. 761-771, 2013.

MARQUES, H. M. C. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. **Flavour and fragrance journal**, v. 25, n. 5, p. 313-326, 2010.

MARTINELLI, L. A. et al. Agriculture in Brazil: impacts, costs, and opportunities for a sustainable future. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 2, n. 5, p. 431-438, 2010.

MARTINS, J. L. R. et al. Medicinal species with gastroprotective activity found in the Brazilian Cerrado. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 29, n. 3, p. 238-251, 2015.

MAYWORM, M. A. S.; SALATINO, Antonio. Fatty acid composition of 'cerrado' seed oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 72, n. 2, p. 226-230, 1996.

MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Embrapa Agrobiologia, 2005.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 1, p. 29-35, 2014.

MOSCARDI, F. et al. Artrópodes que atacam as folhas da soja. **Soja. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, p. 214-334, 2012.

MÜLLER, Caroline. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects—Facts and knowledge gaps. **Basic and Applied Ecology**, v. 30, p. 1-10, 2018.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853, 2000.

NOVAES, P. et al. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. **Phytochemistry reviews**, v. 12, n. 4, p. 839-855, 2013.

NOSSA, P. M. et al. Effects of the *Serjania erecta* and *Zeyheria montana* ethanol extracts in experimental pulpitis in rats: A histological study. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, v. 18, n. 2, p. e337, 2013.

PENNINGTON, R. Toby; LAVIN, Matt. The contrasting nature of woody plant species in different neotropical forest biomes reflects differences in ecological stability. **New Phytologist**, v. 210, n. 1, p. 25-37, 2016.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. das G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, [S.l.], v. 3, n. 4, dez. ISSN 2179-4804. 2012.

POTRICH, F. B. et al. Action of medicinal plant extracts on the gastrointestinal tract motility. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 750-754, 2014.

QUINTANILLA, R. H. R.; PINTO, A. C. Constituintes Químicos e Propriedades Biológicas de Espécies do Gênero *Serjania*. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 6, p. 1583-1606, 2014.

ROCHA, MCLSA. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento. **Brasília: Ibama**, 2012.

RODRIGUES, A. R. S. et al. Caracterização da resistência de joaninhas predadoras ao lambda-cialotrina. 2012.

RODRIGUES, A. R. S. et al. Enzymes mediating resistance to lambda-cyhalothrin in *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 110, p. 36-43, 2014.

SANCHES, S. M. et al. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003.

SANTOS, A. J. Estimativas de Riqueza em Espécies.. In: L. Cullen Jr.; R. Rudran; C. Valladares-Pádua. (Org.). **Métodos de Estudos em Biologia da Conservação e Manejo da Vida Silvestre**. Curitiba: Editora da UFPR, p. 19-41, 2003.

SILVA, FAM da et al. Caracterização climática do bioma Cerrado. **Cerrado: ecologia e flora**, v. 1, p. 69-88, 2008.

SLOMP, L. et al. In vitro nematocidal effects of medicinal plants from Sao Paulo state, Brazil. **Pharmaceutical biology**, v. 47, n. 3, p. 230-235, 2009.

SOMNER, G. V. et al. Sapindaceae. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, v. 6, p. 195-256, 2009.

SOMNER, G.V. et al. 2015. Sapindaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB216>>. Acesso em 23 de agosto de 2017.

SOSA-GÓMEZ, D R et al. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) *Samson epizootics* and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n.2, p. 287-291, 2003.

SPTIZER, V. Fatty acid composition of some seed-oils of the Sapindaceae. **Phytochemistry**, v. 42, p. 1357-1360, 1996.

STEVENS, P. F. Angiosperm Phylogeny Website. 2001. Versão 12, Julho 2012, continuamente atualizado. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 23 de agosto de 2017.

VALOIS, A. C. C. Biodiversidade, biotecnologia e propriedade intelectual. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 15, p. 21-31, 1998.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o potencial inseticida de *Serjania erecta* mediante suscetibilidade de lagartas *Chrysodeixis includens* e inibição de carboxil-esterases após exposição ao extrato foliar metanólico de *S. erecta*.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigar a tendência de pesquisas envolvendo inseticidas botânicos no Brasil a partir de levantamento em bases de dados.
- Estimar os parâmetros da regressão não linear para diferentes idades de *C. includens* expostas ao extrato foliar metanólico de *S. erecta*.
- Avaliar o peso de lagartas expostas a diferentes concentrações do extrato metanólico de *S. erecta*.
- Avaliar o desenvolvimento de imaturos expostos a diferentes concentrações do extrato metanólico de *S. erecta*.
- Avaliar a atividade enzimática de carboxil-esterases extraídas de intesinos de lagartas *C. includens* mediante exposição ao extrato metanólico de *S. erecta*.

3. CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO NACIONAL SOBRE INSETICIDAS BOTÂNICOS: TENDÊNCIA CIENTÍFICA BRASILEIRA

Resumo: Pesquisas envolvendo inseticidas botânicos elaborados a partir de extratos vegetais representam uma alternativa na busca por novas moléculas com ação inseticida que causem menor impacto ao meio ambiente. Diante da riqueza em espécies vegetais brasileiras, esse trabalho objetivou analisar a tendência de pesquisas envolvendo inseticidas botânicos no Brasil a partir de levantamento em bases de dados. A busca resultou em 93 artigos, e evidenciou um crescimento no número de publicações ao longo dos últimos 15 anos. Diptera foi a principal ordem de inseto-alvo dos inseticidas botânicos, tendo como alvo o controle de mosquitos do gênero *Aedes*, vetores de doenças. Ordens de insetos que reduzem a produtividade de culturas agrícolas apresentaram crescimento em estudos, como Coleoptera, Lepidoptera e Hemiptera. Já ordens como Phthiraptera, Siphonaptera e Odonata não apresentaram aumento na produção científica. A família botânica mais estudada em ensaios de atividade inseticida foi Fabaceae, que apresenta maior riqueza de espécies no Brasil, seguida por Myrtaceae, Asteraceae e Meliaceae. Nos trabalhos analisados, os inseticidas botânicos apresentaram efeitos de repelência e toxicidade aguda, mostrando-se eficazes no controle de insetos-praga e por essa razão os estudos destes compostos deve ser encorajado.

Palavras-chave: extratos vegetais; óleo essencial; controle de pragas; atividade inseticida.

Abstract: Works involving botanical insecticides obtained from plant extracts represent an alternative in the research for new molecules with insecticidal action that are less aggressive to the environment. Faced with the richness of Brazilian plant species, this work aimed to analyze the trend of researches involving botanical insecticides in Brazil from a database survey. The search resulted in 93 articles, and evidencing a growth in the number of publications over the last 15 years. Diptera was the main target insect order of botanical insecticides, targeting the control of mosquitoes of the genus *Aedes*, that are vectors of diseases. Insect orders that reduce crop yields showed growth in studies, such as Coleoptera, Lepidoptera and Hemiptera. Orders such as Phthiraptera, Siphonaptera and Odonata showed no increase in scientific production. The most studied botanic family in insecticide activity trials was Fabaceae, which has the highest species richness in Brazil, followed by Myrtaceae, Asteraceae and Meliaceae. In the analyzed works, the botanical insecticides presented effects of repellency and acute toxicity, proving effective in the control of plague insects and for that reason the studies of these compounds should be encouraged.

Key words: plant extracts; essential oil; plague control; insecticidal activity.

3.1 Introdução

Os inseticidas sintéticos são os métodos mais utilizados no controle de pragas de áreas agrícolas e urbanas, mas levantam uma série de questões ambientais e danos à saúde (Bernabó et al., 2015; Pavela, 2016; Gomes et al., 2017; Mendes et al., 2017). Seu uso tem sido considerado cada vez mais problemático, de onde destacam-se a seleção de insetos resistentes, a persistência de ingrediente ativo no meio ambiente e o risco para organismos não alvo (George et al., 2014; Wagner et al., 2014; Babini et al., 2016; Gomes et al., 2017).

No solo, os pesticidas agrícolas foram identificados como a principal causa de contaminações, mesmo em concentrações relativamente baixas (Gomes et al., 2017). Quando esses poluentes atingem meios aquáticos podem causar danos aos organismos dependentes destes ambientes (Wagner et al., 2014), tornando-os vulneráveis às perturbações (Rowe et al., 2003; Babini et al., 2016; Gomes et al., 2017). Os pesticidas podem ser repassados através da cadeia trófica e bioacumular em vertebrados predadores, gerando impacto populacional nesses organismos (Bayat et al., 2014; Baesse et al., 2015; Brinati et al., 2016; Gonçalves et al., 2017; Montalvão et al., 2017). Boulogne et al. (2012) acrescenta que pesticidas atingem águas subterrâneas, gerando poluição, eutrofização dos rios, erosão do solo, e, por conseguinte, favorecem intoxicação humana, tornando-se um problema de saúde pública.

Compostos extraídos de plantas podem ser incorporados ao Manejo Integrado de Pragas (MIP), podendo ter ação como inseticidas de contato, repelentes, suprimir a alimentação, ou reduzir a reprodução (Hagstrum e Phillips, 2017). Esses compostos, conhecidos na literatura como Inseticidas Botânicos, são elaborados com base em extratos vegetais, de onde são extraídas substâncias químicas naturais de ação tóxica às pragas (Fouad et al., 2017). Miresmailli et al. (2014) enfatiza que evolutivamente plantas com adaptações defensivas foram selecionadas, o que permitiu proteção contra herbivoria. O uso de extratos de plantas constitui uma prática alternativa, pois são facilmente degradados pela luz, ar, chuva e enzimas desintoxicantes, além de oferecerem menor risco de selecionar insetos-pragas resistentes, sendo de baixo custo (Menezes et al., 2005; Mendes et al., 2017).

O Brasil representa 19% da diversidade vegetal mundial (Giulietti et al., 2005), além de possuir a flora arbórea mais diversificada, com os maiores níveis de endemismo

do mundo (Beech et al., 2017). Nesse contexto, a riqueza em novos compostos bioativos promissores na elaboração de Inseticidas Botânicos justifica a conservação dessas espécies vegetais. Isman e Grieneisen, (2013) apontam o Brasil entre os 3 países que dominam publicações acerca de Inseticidas Botânicos. Todavia, ainda existe uma lacuna de conhecimento para questões como (i) tendência temporal das publicações, (ii) principais famílias botânicas com atividade inseticida, (iii) estrutura vegetal utilizada na obtenção de compostos, e (iv) ordens de insetos-alvo a serem controlados. Assim, tendo essas variáveis como base desse estudo, essa investigação pretende contribuir para a compreensão da tendência científica sobre inseticidas botânicos no país e direcionar futuros estudos.

3.2 Material e Métodos

Delineamento da investigação

Para a busca dos artigos, foi realizado um levantamento em duas bases de dados, Web of Science (www.isiknowledge.com) e Scopus (<https://www.scopus.com/home.uri>). A pesquisa foi baseada nas avaliações de tendência científica de Boulogne et al. (2012), Isman e Grieneisen (2013) e Benvindo-Souza et al. (2017). Como critério metodológico, foram selecionados apenas artigos que investigaram os efeitos de Inseticidas Botânicos. Trabalhos de revisão não foram compilados, a fim de resgatar apenas as pesquisas práticas. Além disso, não foi determinado limite de tempo nas bases de dados, a fim de compilar todos os artigos indexados com essa temática do tempo mais remoto a dezembro de 2017. As palavras-chave utilizadas na busca foram *botanical insecticide brazil*, *insecticide essential oil brazil* e *insecticide plant extract brazil*. Para cada artigo encontrado foram avaliadas as seguintes variáveis: (i) ano de publicação; (ii) ordens de insetos-alvo; (iii) principais famílias botânicas e (iv) partes da planta estudada.

Os nomes científicos das espécies, bem como as famílias em que se classificam atualmente foram conferidos no site Flora do Brasil do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>). Quando não encontrada no site Flora do Brasil, a espécie foi então consultada na página Tropicos (<http://www.tropicos.org/>). A fim de avaliar a situação de conservação das espécies vegetais estudadas, dados do site Flora do Brasil foram consultados.

Análise de dados

Foi realizada uma correlação de Pearson ($P < 0,05$) com o número de artigos publicados sobre inseticidas botânicos em relação ao ano de publicação, para verificar se houve aumento no número de trabalhos ao longo dos anos. O mesmo coeficiente de correlação foi aplicado às ordens de insetos estudados. Famílias botânicas, partes das plantas estudadas e solventes utilizados na obtenção de compostos são apresentados em forma de proporção. Além disso, demonstramos a frequência da origem das plantas.

3.3 Resultados e Discussão

Tendência temporal dos estudos

A busca utilizando as palavras chave *botanical insecticide brazil*, *insecticide essential oil brazil* e *insecticide plant extract brazil* retornou um total de 93 artigos publicados por grupos onde o autor correspondente era brasileiro e/ou filiado a um instituto de pesquisa brasileiro entre 2002 e 2017. Na Figura 1 é possível observar aumento desses trabalhos com base em uma avaliação temporal ($r = 0.85$; $p = 0,0001$). Estes resultados estão de acordo com o observado por Isman e Grieneisen (2013), que colocam o país entre os que mais publicam assuntos voltados a essa abordagem. Esse grande interesse em pesquisas com inseticidas pode estar associado à diversidade de plantas e insetos existentes no Brasil. Assim, foi detectado interesse no controle de pragas agrícolas e mosquitos vetores de patógenos em humanos para as principais tendências da produção científica no país. Aliada a essa questão, existe uma intensa preocupação com o uso de produtos químicos sintéticos (Tofel et al., 2017).

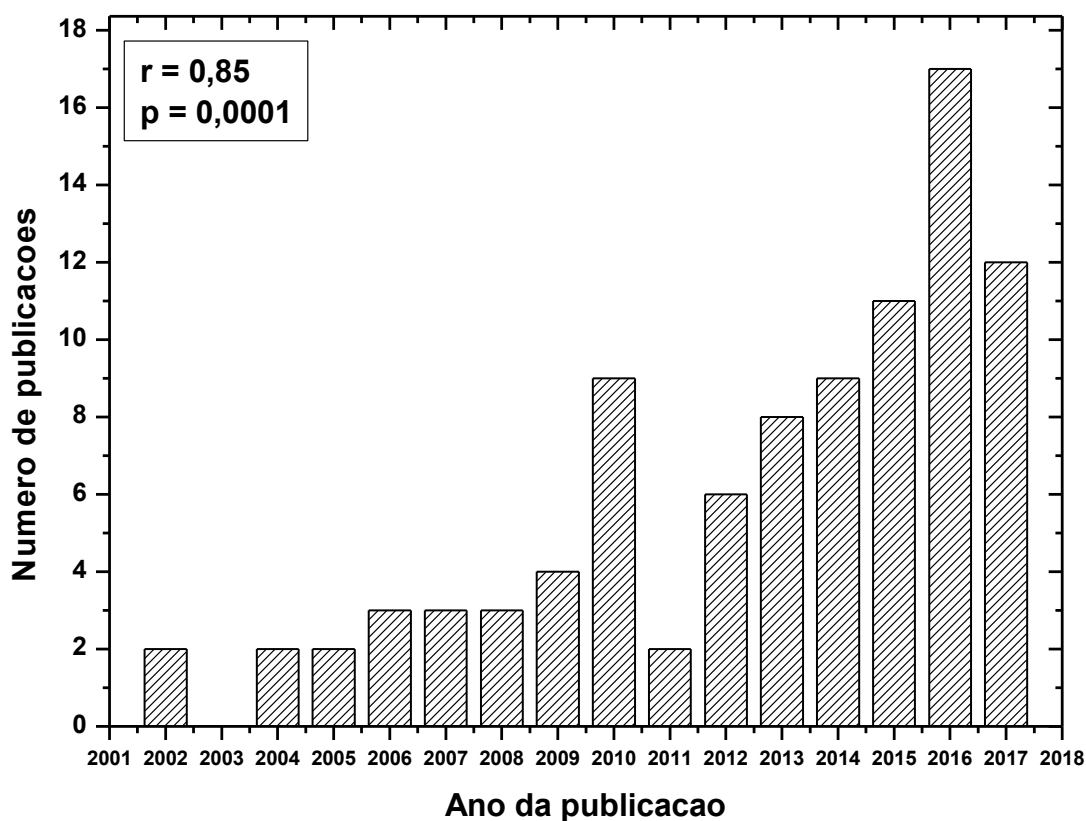


Figura 1. Resultados da busca realizadas nas bases de dados Web of Science e Scopus utilizando as palavras chave *botanical insecticide brazil*, *insecticide essential oil brazil* e *insecticide plant extract brazil*. Os resultados estão mostrados na forma de números de artigos publicados por ano (2002 – 2017).

Esse aumento no número de publicações pode refletir o crescimento observado nas publicações científicas como um todo, já que este padrão pode ser observado em outras áreas de conhecimento, como: mudanças climáticas (Nabout et al., 2012) e estudos ecológicos sobre insetos pertencentes à ordem Odonata (Miguel et al., 2017). Entretanto, o aumento no número de publicações pode não representar um aumento no conhecimento científico, logo que existe uma prática, conhecida como ciência-salame (*salami science*) ou fatiamento de salame (*salami slicing*), que preocupa pesquisadores em diferentes áreas do conhecimento. Tal prática consiste em fatiar um corpo de dados em pedaços menores para publicação nos casos em que um único artigo abrangente seria mais apropriado (Laitman e Rikkers, 2000; Reinach, 2013).

Este incremento pode ser atribuído a diferentes fatores tais como: (i) formalização das instituições e áreas de conhecimentos, (ii) períodos de crescimento econômico e (iii) e a própria revolução industrial. Larsen e Von Ins (2010) mostram que a ciência passou por 3 grandes fases de crescimento, em que se observou um notável aumento de publicações: no período do século XVI a XVII, no período XVII a XIX e, por fim, no período pós II Guerra Mundial.

Famílias botânicas e partes da planta utilizadas

A busca nas bases de dados retornou um total de 271 espécimes de plantas com atividade inseticida, o que corresponde a 0,48% da diversidade estimada de plantas brasileiras. As espécies foram distribuídas em 174 gêneros e 63 famílias botânicas. Uma lista completa das espécies está mostrada no material suplementar. Na figura 2, é possível observar as famílias botânicas mais citadas nos estudos para inseticidas (A), a origem das 271 espécies de plantas (B) e o status de conservação destas espécies (C).

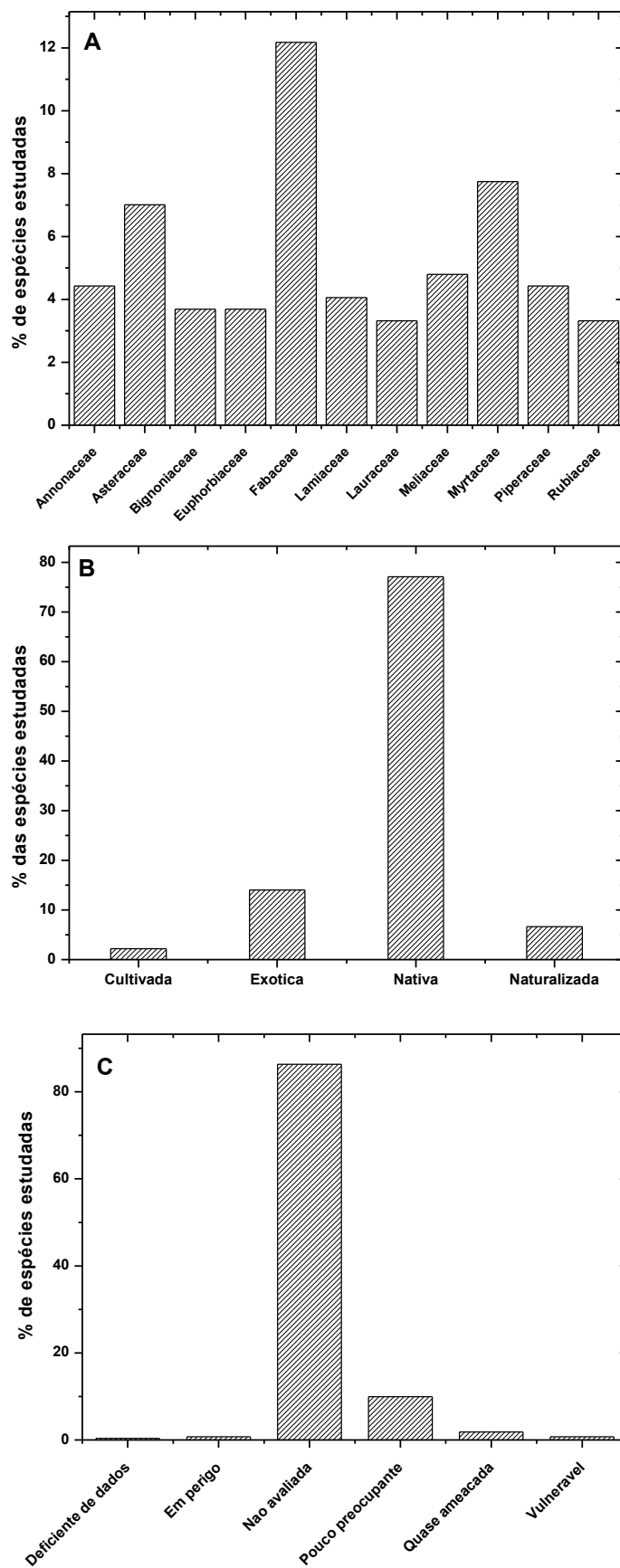


Figura 2. Porcentagens de espécies estudadas (n = 271) nos artigos analisados. Em (A), as espécies foram agrupadas de acordo com a família botânica; em (B), de acordo com a origem das espécies e em (C), de acordo com o status de conservação.

É possível notar que a família Fabaceae (figura 2A) tem sido a mais explorada para essas investigações (12,18% de espécies), seguida por Myrtaceae (7,75%) e Asteraceae (7,01%). Em uma perspectiva global, Fabaceae foi a segunda família mais frequentemente estudada (Boulogne et al., 2012), o que evidencia sua importância. O grande número de trabalhos com essa família pode estar associado à sua diversidade, pois há 2694 espécies catalogadas no Brasil, sendo 1458 endêmicas (Forzza et al., 2010). Pavela (2016) relata que a partir de *Lonchocarpus* spp. e *Derris* spp. (Fabaceae) obtém-se a rotenona, composto que inibe o transporte de elétrons do complexo mitocondrial (Fukami, 1961), levando o inseto à morte (Pavela, 2016). Nesse sentido, tem mostrado potencial para o controle de dípteros como *Aedes aegypti* (Diptera) (Gusmão et al., 2002; de Mendonça et al., 2005; Silva et al., 2007; Souza, 2011; Oliveira et al., 2016), *Lutzomyia longipalpis* (Diptera) (Luitgards-Moura et al., 2002), bem como *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera) (Santos et al., 2016), *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera) (Fouad et al., 2014) e *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera) (Tavares et al., 2013a).

Myrtaceae é referida como a principal família utilizada na obtenção de óleos essenciais, sendo que a síntese e acumulação desses compostos estão associadas à presença de estruturas secretoras, mais especificamente cavidades secretoras (Regnault-Roger et al., 2012). Diferentes gêneros de Myrtaceae já foram reportados na literatura por possuírem os compostos eugenol, cinamaldeído e óxido cariofileno (Boulogne et al., 2012). O eugenol pode afetar o sistema octopaminérgico, bloqueando os receptores de octopamina, aumentando o estado de excitação do inseto (Enan, 2005; Rattan, 2010). Extratos ou óleos essenciais de plantas da família Myrtaceae mostraram-se promissores no controle de *Aedes aegypti* (Diptera) (Mendes et al., 2017), *Lutzomyia longipalpis* (Diptera) (Maciel et al., 2010), *Plutella xylostella* (Lepidoptera) (Filomeno et al., 2017), *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera) (Alves et al., 2013), *Sitophilus zeamais* (Coleoptera) (Haddi et al., 2015; Correa et al., 2015), *Rhodnius neglectus* (Hemiptera) (Gomes et al., 2013) e *Atta laevigatta* (Hymenoptera) (Jung et al., 2013).

As plantas de Asteraceae e Bignoniaceae possuem compostos químicos com potencial inseticida (Fouad et al., 2012). Asteraceae mostrou-se relevante nessa pesquisa, o que pode estar relacionado aos compostos presentes em espécies dessa família, como piretrinas, que interrompem o processo de troca iônica de sódio e potássio, afetando a transmissão normal dos impulsos nervosos em insetos (Casida, 1973; Rattan, 2010; Liu et al., 2012; Matsuda et al., 2012; Pavela, 2016), o que pode

levar a diminuição populacional de insetos. O óleo essencial de *Baccharis reticularia* (Asteraceae) apresentou efeitos de inibição de acetilcolinesterase, um dos principais alvos de inseticidas, tendo demonstrado eficiência no controle de *Aedes aegypti* (Botas, 2017). Espécies de Asteraceae mostraram potencial inseticida contra *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera) (Fouad et al., 2014), *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera) (Tavares et al., 2013a), *Tenebrio molitor* (Coleoptera) (Tavares et al., 2013b) e *Pediculus humanus* (Phthiraptera) (Cestari et al., 2004).

Em Meliaceae, também bioprospectada para atividade inseticida, o maior número de investigações foi para uma espécie não nativa, *Azadirachta indica*, de origem indiana, conhecida como nim. *A. indica* desperta o interesse da comunidade científica desde 1960 em algumas partes do mundo, tornando-se objeto de inúmeros estudos e também de conferências entre as décadas de 1980 e 1990, sendo atualmente dominante em pesquisas acerca de inseticidas botânicos (Isman e Grieneisen, 2013). Além de *A. indica*, *Melia azedarach* foi uma espécie muito prospectada, embora também não seja nativa do Brasil. *M. azedarach*, que possui como um de seus constituintes químicos o eugenol (Boulogne et al., 2012), apresentou efeito de repelência contra *Helicoverpa armigera*, um lepidóptero-praga de importância agrícola (Andrade et al., 2016) e efeitos na mortalidade de *Pediculus humanus* (Rutkauskis, 2015).

A atenção científica também esteve voltada ao gênero *Annona* da família Annonaceae que possui o alcalóide anonaina, composto químico com atividade inseticida (Boulogne et al., 2012). O gênero *Piper* foi citado em 91,66% das pesquisas realizadas com a família Piperaceae. Esse gênero está entre os mais bem representativos na flora brasileira, bem como na flora mundial (Forzza et al., 2010), e possui os compostos com atividade inseticida eugenol, óxido cariofileno e miristicina (Boulogne et al., 2012). Uma família menos representativa no estudo foi Lamiaceae, que consta em primeiro lugar na lista de citação mundial para inseticidas botânicos (Boulogne et al., 2012), mas no Brasil esteve em sétimo lugar nas investigações científicas. A capacidade de atuar no sistema GABA, fechando os canais de cloro e também bloqueando os receptores de octopamina em decorrência ao seu composto Timol são atributos biológicos de Lamiaceae (Pavela 2016). Embora menos frequente em estudos, a família Verbenaceae tem bioatividade contra diferentes organismos (Veras et al., 2012; Gomes et al., 2014), o óleo essencial da espécie *Lippia pedunculosa* e seus principais

compostos voláteis foram tóxicos para larvas de *Aedes aegypti* com uma LC50 (Concentração Letal) inferior a 60 ppm (Nascimento et al., 2017).

No que tange a origem das plantas, 77,12% são nativas, o que chama atenção para a conservação da flora brasileira, visto que a perda de espécies também implicaria em perda de um grande potencial biotecnológico. Bolzani (2016) retrata o Brasil como detentor de uma das maiores riquezas naturais do planeta e uma fábrica natural de substâncias com potencial para inovação de diversos setores, como de fármacos e agroquímicos. A diversidade biológica possui, de acordo com Dias (2000), valor ecológico, genético, social, econômico, científico, educacional, cultural, recreativo e estético. A valorização da diversidade é importante para a preservação de ecossistemas e espécies ali presentes, mas também da fonte natural de produtos para exploração sustentada (Odália-Rímoli, 2000).

Diferentes partes das plantas foram investigadas para a obtenção de extratos, onde folhas foram as mais estudadas (47,8% dos trabalhos), seguidas por caules (18,38%) das sementes (11,03%), flores (8,82%), raízes (7,35%) e frutos (6,62%). As folhas são comumente mais utilizadas na obtenção de extratos vegetais devido a possibilidade de conservação do recurso vegetal, não impedindo a reprodução da planta (Pilla et al., 2006).

Óleos essenciais são mais atraentes para pesquisas devido a facilidade de preparo de amostras, de análises (cromatográficas, por exemplo) e diversidade de plantas que podem ser utilizadas na obtenção do composto (Isman e Grieneisen, 2013). Os óleos essenciais são facilmente produzidos por destilação a vapor e contém muitos terpenos voláteis de baixo peso molecular (Regnault-Roger et al., 2012).

Quanto ao tipo de extrato e solvente utilizado para extração, as frequências observadas foram de cerca de 46% de óleos essenciais, 25% etanol, 10% água, 9% hexano, 6% metanol. Diclorometano, acetona e fosfato de sódio somaram 4%. Com relação aos solventes, podemos perceber que não há correlação entre a escolha do solvente e uma escala de polaridade (Tabela I). Consultando o Manual de Cromatografia da FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation (disponível em <https://goo.gl/HpZy8S>), podemos elaborar uma escala de polaridade onde solventes aquosos (a própria água e o tampão fosfato de sódio) são os mais polares, passando por metanol, etanol, diclorometano, acetona e chegando ao hexano como solvente mais apolar. Assim, podemos supor que o critério de escolha destes solventes esteja baseado apenas na disponibilidade e preço do solvente em questão, uma vez que o etanol é o

mais empregado nos trabalhos analisados, sem que pareça existir algum tipo de correlação entre a escolha do solvente e a polaridade do mesmo.

Tabela I. Número de trabalhos publicados para cada tipo de solvente escolhido.

Solvente	Polaridade (δ)	Número de trabalhos
Água	21	10
Fosfato de Sódio		1
Álcool metílico	12,9	6
Álcool etílico	11,2	27
Diclorometano	9,6	2
Acetona	9,4	1
Hexano	7,3	9

Os extratos botânicos e os óleos essenciais de folhas, hastes e inflorescências são as principais fontes de moléculas potencialmente bioativas (Doria et al., 2010; Autran 2009; Lavor et al., 2012). Entretanto, sua composição pode ser influenciada pela geografia, tempo de colheita, mudanças no microclima e métodos de extração (Miresmailli et al., 2014). Dentre os métodos empregados na extração de metabólitos secundários com atividade inseticida estão: extrações a frio, extrações a quente em sistemas abertos e extrações a quente em sistemas fechados (Santos et al., 2013).

Ao consultar o status de conservação no site do Jardim Botânico (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>, acesso em maio de 2018), 86,35% das espécies não haviam sido avaliadas quanto a esse aspecto, evidenciando a ausência de conhecimento sobre a situação de conservação de muitas espécies estudadas. Além disso, vinte e sete espécies (9,96%) encontram-se classificadas como “pouco preocupantes”, cinco (1,85%). “quase ameaçadas”, duas consideradas “vulneráveis e em perigo” (0,74%), e, finalmente, uma (0,37%) com “deficiência de dados”. Com isso, fica evidente que são necessários estudos a fim de compreender a rica flora brasileira, entender sua dinâmica e potencial biotecnológico, com finalidade de preservação, como discutido mais abaixo.

Ordens de insetos investigados

Os resultados do levantamento nas bases de dados mostram que os inseticidas botânicos foram testados contra oito ordens de insetos-alvo. Diptera foi a ordem mais investigada ao longo desses 15 anos, com 45% da aplicação dos inseticidas botânicos. Essa ordem foi duas vezes mais estudada que o segundo grupo com maior destaque (Coleoptera, 22%). No entanto, Diptera teve uma queda na produção científica entre

2011 a 2013, o que não inviabilizou seu crescimento no que diz respeito ao número de estudos ($r = 0.51$; $p = 0.04$). Para Coleoptera ($r = 0.079$, $p = 0.0004$), Lepidoptera (15% das investigações, $r = 0.78$, $p = 0.0006$) e Hemiptera (10%, $r = 0.59$, $p = 0.01$) é observado um crescimento em estudos ao longo dos anos. Já grupos como Hymenoptera, Phthiraptera, Siphonaptera e Odonata, quando somadas representaram 8% dos estudos, e também não apresentaram crescimento em trabalhos ($P > 0,05$) acerca de inseticidas botânicos no Brasil ($p < 0.05$) (Figura 3).

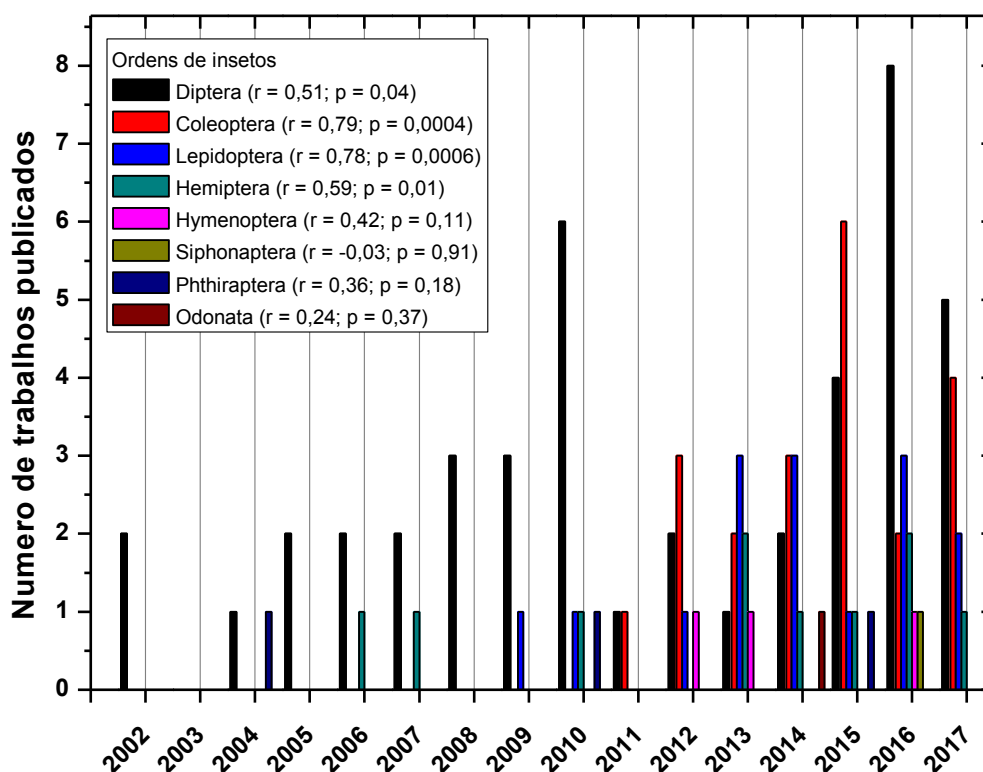


Figura 3. Número de trabalhos publicados entre 2002 e 2017, organizando-os segundo as ordens de insetos estudadas nos últimos 15 anos para inseticidas botânicos no Brasil.

O maior número de inventários realizados no país envolvendo a classe Insecta foi atribuído às ordens Diptera, Hymenoptera, Coleoptera e Lepidoptera (Lewinsohn e Prado, 2006). Nesse sentido, nossos resultados concordam com sua diversidade e inventários, mostrando um crescimento de trabalhos de inseticidas para tais ordens. Notamos uma forte tendência científica com interesse em saúde pública, como os gêneros pertencentes às famílias Culicidae, vetores de doenças como dengue, febre amarela e malária, e Psychodidae, vetor de leishmaniose. Neste contexto, *Aedes aegypti*, de disseminação e persistência global (Kyle e Harris, 2008), representa um alvo particularmente importante para o controle, pois é responsável pela transmissão de doenças como a dengue, a dengue hemorrágica e a febre amarela, dentre outras (Barrett e Higgs, 2007; Autran et al., 2009).

Dada a importância destas famílias, o interesse científico no combate a estas pragas vem aumentando, bem como o relato de casos de insetos resistentes. De fato, o principal método de combate a esses animais consiste no uso de inseticidas, como piretróides, compostos organoclorados e organofosforados (Macoris et al., 2014; Mendes et al., 2017; Moyes et al., 2017), porém têm apresentado resistência principalmente aos grupos inseticidas neurotóxicos carbamatos (Moyes et al., 2017). É notável que esses produtos causam danos à saúde humana e ao meio ambiente, levando a um esforço para encontrar formas eficazes e acessíveis por meio de compostos vegetais para controlar esse mosquito (Gusmão et al., 2002; Cavalcanti et al., 2004; Rodrigues et al., 2006; Autran et al., 2009). Outros problemas relacionados ao gênero *Aedes* são a transmissão do vírus Zika, cuja infecção está associada a manifestações clínicas graves em adultos e neonatos, incluindo déficits neurológicos (Mittal et al., 2017), e transmissão do vírus Chikungunya, que não possui medicamento anti-viral específico ou vacinas licenciadas até o momento (An et al., 2017).

Pesquisas envolvendo as ordens Phthiraptera e Siphonaptera também mostram o interesse em controlar insetos-praga de importância médica. A espécie de Phthiraptera mais documentada como alvo dos inseticidas botânicos no Brasil foi *Pediculus humanus*, causadora de pediculose, também classificada como problema de saúde pública, tendo a capacidade de levar a infecções secundárias (Bagavan et al., 2011; Rutkauskis et al., 2015). Além disso, há relato de resistência aos pediculicídios utilizados em seu controle (Clark et al., 2013). *Ctenocephalides felis*, representante da ordem Siphonaptera, também é um problema na medicina humana e veterinária, já havendo relatos de resistência a inseticidas (Rust e Driden, 1997). O extrato hexânico de *Schinus molle* (Anacardiaceae) mostrou eficácia no controle de *Ctenocephalides felis* (Batista et al., 2016).

Finalmente, para área agrícola, foram estudadas as ordens Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Hymenoptera, as quais representam grupos de insetos-praga da agricultura e alvo das investigações para inseticidas botânicos no Brasil. De acordo com a avaliação, *Sitophilus zeamais* foi a espécie de Coleoptera mais estudada através de controle por meio de inseticidas botânicos. Esse fato deve-se à capacidade desse inseto-praga de infestar grãos armazenados, ocasionando grandes perdas de milho, arroz e trigo, além de apresentar resistência aos pesticidas sintéticos (Mikami et al., 2012; Oliveira et al., 2017; Oliveira et al., 2017). Extratos etanólicos de *Lepidoploa aurea* (Asteraceae) e *Memora nodosa* (Bignoniaceae) mostraram efeitos de repelência contra

S. zeamais (Fouad et al., 2012). *Psychotria prunifolia*, *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria capitata* (Rubiaceae) apresentaram efeitos tóxicos (Tavares et al., 2013c; 2014) e óleos essenciais de *Citrus aurantiifolia* e *Citrus reticulata* (Rutaceae) mostraram efeitos tóxicos através da cutícula, sistema digestivo e sistema respiratório, além de repelência (Fouad e Camara., 2017).

Extratos etanólicos de espécies de Annonaceae tiveram efeitos de toxicidade aguda contra *Helicoverpa armigera* (Souza et al., 2017), uma espécie de lepidoptero-praga que já mostrou resistência aos inseticidas piretróides (Durigan et al., 2017), enquanto extratos de *Melia azedarach* (Meliaceae) mostraram efeitos de repelência contra a mesma praga (Andrade et al., 2016). Óleo essencial de *Piper aduncum* (Piperaceae) apresentou efeitos deletérios em todos os estágios de desenvolvimento de *Euschistus heros* (Hemiptera) (Turchen et al., 2016), a espécie de percevejo mais predominante no Brasil e reportada pela tolerância à inseticidas (Hegeto et al., 2015; Sosa-Gomez et al., 2009). O óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* também demonstrou alto potencial inseticida e repelente para ninfas de *Rhodnius neglectus*, seja servindo de modelo molecular para novas substâncias ou como alternativa para o controle desses insetos (Santos et al., 2016). O extrato metanólico de *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) apresentou toxicidade de contato e ingestão contra *Atta sexdens* (Gomes et al., 2016).

Nesse sentido, estes dados são apenas alguns relatos científicos que realçam a eficácia dos extratos vegetais para o controle populacional de insetos no Brasil. Dessa forma, esta área de pesquisa deve ser encorajada, tendo em vista a grande diversidade da flora brasileira e a diversidade de insetos, em prol da sustentabilidade ambiental, produtividade agrícola e da saúde humana. Para tanto, existe a necessidade de mais pesquisas que tragam informações sobre a real situação de conservação dessas espécies vegetais. No entanto, a enorme maioria das plantas estudadas no Brasil como inseticidas botânicos não foram avaliadas quanto ao status de conservação e são representadas por plantas nativas e com altos níveis de endemismo, como ocorre com a família mais estudada, Fabaceae, que mostrou potencial para controle de dípteros vetores de doenças de importância médica, além de controlar pragas agrícolas das ordens Hemiptera e Lepidoptera. Sabendo-se da importância dessas plantas para a biotecnologia e obtenção de compostos com atividade inseticida, é necessária a promoção de programas de conservação das espécies que se encontrem quase ameaçadas, vulneráveis ou em perigo, visto que a perda de espécies também implicaria em perda de importantes biomoléculas.

Além da evidente importância da conservação dessas espécies, são necessários maiores estudos acerca da toxicidade e segurança dos Inseticidas Botânicos. Conforme levantado por Pavela (2016), todos os anos os cientistas apresentam novas informações sobre os efeitos inseticidas dos metabólitos das plantas, mas há muito pouco conhecimento científico que tenha sido aplicado na prática. Pavela (2016) ainda cita que a qualidade das formulações de inseticidas botânicos deve ser melhorada de modo a garantir uma persistência suficiente do seu efeito, qualidade, estabilidade dos produtos e aumentar a eficácia biológica, o que pode ser feito através de procedimentos de micro e nano encapsulamento.

3.4 Considerações finais

Foi encontrado um avanço considerável em estudos envolvendo inseticidas botânicos no Brasil, sendo observado aumento desses trabalhos com base em uma avaliação temporal. Um total de 271 espécies de plantas, distribuídas em 174 gêneros e 63 famílias botânicas, tiveram metabólitos secundários bioprospectados para atividade inseticida, sendo que a estrutura botânica mais utilizada na obtenção de extratos vegetais foram as folhas. A família botânica mais estudada foi Fabaceae, o que pode estar relacionado a sua diversidade e nível de endemismo no Brasil. Seguido por estudos com Myrtaceae, Asteraceae e Meliaceae, famílias já referidas na literatura por possuir compostos de ação inseticida. Os trabalhos estiveram direcionados para dois eixos basicamente, controle de pragas agrícolas e urbanas, como *A. aegypti*. *Aedes*, um dos maiores vetores de patógenos humanos, incluindo a dengue, febre amarela, Chikungunya e Zika a qual tem sido muitas vezes considerado problema de saúde pública no país. No entanto, seu controle é desafiador, pois requer estratégias além do desenvolvimento de novos inseticidas. Na temática das pragas agrícolas, Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, mostraram crescimento dos estudos, que por vez reflete o prejuízo atribuído a insetos dessas ordens. Tendo em vista que os Inseticidas Botânicos apresentam efeitos de repelência e toxicidade aguda em insetos pragas, pesquisas envolvendo essa temática são cada vez mais necessárias, dado a perspectiva de conservação da biodiversidade.

3.5 Referências bibliográficas

ALVES, D.S., et al. 2013. Selection of active plant extracts against the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 15.3:352-362, 2013.

AN, W.X. et al. Recent progress on chikungunya virus research. **Virologica Sinica**, 32:1-13, 2017.

AUTRAN, E.S. et al. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Bioresource Technology**, 2009.

ANDRADE, J. V. et al. Efeito antialimentar de extratos hidroalcoólicos de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de Agricultura Neotropical**, 3.1:39-43, 2016.

BAYAT, S. et al. Organic contaminants in bats: trends and new issues. **Environment International**, 63:40-52, 2014.

BAESSE, C.Q. et al. Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. **Ecotoxicol Environ Saf.**, 115:223-8, 2015.

BABINI, M. S. et al. Adverse effect of agroecosystem pond water on biological endpoints of common toad (*Rhinella arenarum*) tadpoles. **Environmental monitoring and assessment**, 188.8:459, 2016.

BAGAVAN, A. et al. Contact and fumigant toxicity of hexane flower bud extract of *Syzygium aromaticum* and its compounds against *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). **Parasitology research**, 109.5:1329, 2011.

BARRETT, A. D., HIGGS, S. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. **Annu. Rev. Entomol.**, 52:209-229, 2007.

BATISTA, L. C. et al. In vitro efficacy of essential oils and extracts of *Schinus molle* L. against *Ctenocephalides felis felis*. **Parasitology**, 143.5:627, 2016.

BERNABÒ, I., Guardia, A., Macirella, R., Sesti, S., Crescente, A., Brunelli, R. Effects of long-term exposure to two fungicides, pyrimethanil and tebuconazole, on survival and life history traits of Italian tree frog (*Hyla intermedia*). **Aquatic Toxicology**, 152 56-66, 2015.

BENVINDO-SOUZA M. et al. The micronucleus test for the oral mucosa: global trends and new questions. *Environ Sci Pollut Res*, 24:27724–27730, 2017.

BEECH, E. et al. Global Tree Search: The first complete global database of tree species and country distributions. **Journal of Sustainable Forestry**, 36.5:454-489, 2017.

BOTAS, G. D. S. et al. *Baccharis reticularia* DC. and Limonene Nanoemulsions: Promising Larvicidal Agents for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) **Control. Molecules**, 22.11:1990, 2017.

BOULOGNE I.B. et al. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. **Environ Chem Lett**, 10:325–347, 2012.

BOLZANI, V. S. "Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciência e Cultura** 68.1: 04-05, 2016.

BRINATI, A. et al. Low, chronic exposure to endosulfan induces bioaccumulation and decreased carcass total fatty acids in neotropical fruit bats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 97:626-631, 2016.

CASIDA J.E. **Pyrethrum the Natural Insecticide**. New York, Academic Press. 1973

CAVALCANTI, E. S. B. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 99:541-544, 2004.

CESTARI, I. M. et al. Evaluation of the potential insecticide activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against the head lice *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). **Neotropical Entomology**, 33.6:805-807, 2004.

CLARK, J. M. et al. Human lice: Past, present and future control. **Pesticide biochemistry and physiology**, 106.3:162-171, 2013.

CORREA, Y. D. C. G. et al. Locomotory and physiological responses induced by clove and cinnamon essential oils in the maize weevil *Sitophilus zeamais*. **Pesticide biochemistry and physiology**, 125:31-37, 2015.

DE MENDONÇA, F. A. et al. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, 76.7-8):629-636, 2005.

DIAS, B. F. de S. A implementação da Convenção sobre Diversidade Biológica no Brasil: desafios e oportunidades. 2000.

DURIGAN, M. R. et al. High frequency of CYP337B3 gene associated with control failures of *Helicoverpa armigera* with pyrethroid insecticides in Brazil. **Pesticide biochemistry and physiology**, 143: 73-80, 2017.

DORIA, GAA. et al.
A study of the larvicidal activity of two Croton species from northeastern Brazil against *Aedes aegypti*, 48:615-620, 2010.

ENAN, E.E. Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. **Archive in Insect Biochemistry Physiology**, 59.3:161-171, 2005.

FILOMENO, C. A. et al. *Corymbia* spp. and *Eucalyptus* spp. essential oils have insecticidal activity against *Plutella xylostella*. **Industrial Crops and Products**, 109:374-383, 2017.

FORZZA, R. C. et al. Catálogo de plantas e fungos do Brasil, 1. JBRJ, 2010.

FOUAD, H.A. et al. Extraction and repellent activity of *Lepidoploa aurea* and *Memora nodosa* against stored grain and byproduct pests. **Vie Milieu-life and environment**, 62:11-15, 2012.

FOUAD, H. A. et al. Botanical extracts of plants from the Brazilian Cerrado for the integrated management of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in stored grain. **Journal of Stored Products Research**, 57:6-11, 2014.

FOUAD, H. A.; CAMARA, C.A.G. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, 73:30-36, 2017.

FUKAMI, J. Effect of Rotenone on respiratory enzyme system of insect muscle. Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences Series C **Plant Pathology And Entomology**, 13:33-45, 1961.

GEORGE, D. R. et al. Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. **Parasites & vectors**, 7.1: 28, 2014.

GOMES, M. D. C. A. R. et al. Toxicity of plant extracts from Bahia, Brazil, to *Atta sexdens* *sexdens* workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, 63.2:770-776, 2016.

GOMES, A. R. et al. Review of the ecotoxicological effects of emerging contaminants to soil biota. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, 52.10:992-1007, 2017.

GOMES, S. P., and S. FAVERO. Assessment of the insecticidal potential of *Eucalyptus urograndis* essential oil against *Rhodnius neglectus* Lent (Hemiptera: Reduviidae). **Neotropical entomology**, 42.4: 431-435, 2013.

GOMES, G.A. et al. Acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on unengorged larvae and nymphs of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Exp. Parasitol.**, 137:41-45, 2014.

GONÇALVES, M.W. et al. The agricultural impact of pesticides on *Physalaemus cuvieri* tadpoles (Amphibia: Anura) ascertained by comet assay. **Zoologia**, 34:19865, 2017.

GUSMÃO, D.S. et al. *Derris* (Lonchocarpus) urucu (Leguminosae) extract modifies the peritrophic matrix structure of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 97:371-375, 2002.

GIULIETTI, A. M. et al. **Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil**. 2005.

ISMAN M.B., GRIENEISEN M.L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. **Trends in Plant Science**, 30:10, 2013.

HADDI, K. et al. Sublethal exposure to clove and cinnamon essential oils induces hormetic-like responses and disturbs behavioral and respiratory responses in *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of economic entomology**, 108.6: 2815-2822, 2015.

Hegeto, L. A. et al. Identification and functional characterization of esterases in *Euschistus heros* (Hemiptera, Pentatomidae) and their relationship with thiamethoxam and lambda-cyhalothrin. **Genetics and Molecular Research**, 14.3:11079-11088, 2015.

JUNG, P. H., et al. Insecticidal activity of *Eugenia uniflora* L. and *Melia azedarach* L. on *Atta laevigata* Smith. **Floresta e Ambiente**, 20.2:191-196, 2013.

KYLE, J. L.; E. HARRIS. Global spread and persistence of dengue. **Annu. Rev. Microbiol.**, 62: 71-92, 2008.

LAITMAN, C. J.; RIKKERS, L. F. Politics in surgical publishing. **British Journal of Surgery**, v. 87, n. 10, p. 1284-1286, 2000.

LARSEN, Peder; VON INS, Markus. The rate of growth in scientific publication and the decline in coverage provided by Science Citation Index. **Scientometrics**, v. 84, n. 3, p. 575-603, 2010.

LEWINSOHN, T. M., PRADO, P. I.. Síntese do conhecimento atual da biodiversidade brasileira. Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira, 1:21-109, 2006

LIU, P. L. et al. Adaptive evolution of the chrysanthemyl diphosphate synthase gene involved in irregular monoterpene metabolism. **BMC evolutionary biology**, 12.1:214, 2012.

LUITGARDS-MOURA, J. F. et al. Preliminary assays indicate that *Antonia ovata* (Loganiaceae) and *Derris amazonica* (Papilionaceae), ichthyotoxic plants used for fishing in Roraima, Brazil, have an insecticide effect on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 97.5:737-742, 2002.

MACIEL, M. V. et al. Chemical composition of *Eucalyptus* spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. **Veterinary parasitology**, 167.1:1-7, 2010.

MACORIS, M.L.G. et al. Impact of insecticide resistance on the field control of *Aedes aegypti* in the State of São Paulo. **Soc. Bras. Med. Trop.**, 47:573-578, 2014.

MATSUDA, Y. et al. Pyrethroids: From *Chrysanthemum* to Modern Industrial Insecticide. 2012.

MENDES, L. A. et al. Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. **Industrial Crops and Products**, 108:684-689, 2017.

MENEZES, E. L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Embrapa Agrobiologia**. 2005.

MIGUEL, T. B. et al. A scientometric study of the order Odonata with special attention to Brazil. **International Journal of Odonatology**, v. 20, n. 1, p. 27-42, 2017.

MIKAMI A.Y. et al. Resistance of Maize Landraces to the Maize Weevil *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomol.**, 41:404–408, 2012.

MIRESMAILLI, S., ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science**, 19.1:29-35, 2014.

MITTAL, R. et al. Zika Virus: An emerging global health threat. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, 7, 2017.

MONTALVÃO M.F. et al. 2017. The genotoxicity and cytotoxicity of tannery effluent in bullfrog (*Lithobates catesbeianus*). **Chemosphere**, 183:491-502, 2017.

MOSCARDI, F. et al. Artrópodes que atacam as folhas da soja. **Soja. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília, DF: Embrapa**, p. 214-334, 2012.

MOYES, C. L. et al. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. **PLoS neglected tropical diseases**, 11.7:e0005625, 2017.

NABOUT, J. C. et al. Trends and Biases in global climate change literature. **Natureza & Conservação**, v. 10, n. 1, p. 45-51. 2012.

NASCIMENTO, A.M.D. et al. Repellency and Larvicidal Activity of Essential oils from *Xylopi* *laevigata*, *Xylopi* *frutescens*, *Lippia pedunculosa*, and Their Individual Compounds against *Aedes aegypti* Linnaeus. **Neotropical Entomology**, 46: 223-230, 2017.

OLIVEIRA, A. E., et al. Development of a larvicidal nanoemulsion with *Pterodon emarginatus* Vogel Oil. **PloS one**, 11.1: e0145835, 2016.

OLIVEIRA, A.P et al. Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Industrial Crops and Products**, 107:198-205, 2017.

PAVELA, R. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects-a review. **Plant Prot. Sci**, 52:229-241, 2016.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop protection**, 29.9:913-920, 2010.

REGNAULT-ROGER, C., Vincent, C., e ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual review of entomology**, 57, 2012.

REINACH, R. Darwin e a prática da “Salami Science”. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.12, p. 402-403. 2013.

RODRIGUES, Agna Rita dos Santos et al. Caracterização da resistência de joaninhas predadoras ao lambda-cialotrina. 2012.

RODRIGUES, A.M.S., et al. Larvicidal activity of some Cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, 22:314-317, 2006.

ROWE, C. L. et al. Physiological ecology of amphibians in relation to susceptibility to natural and anthropogenic factors. *Amphibian decline: an integrated analysis of multiple stressor effects*, 9-57, 2003.

RUST, M. K., Dryden, M. W. The biology, ecology, and management of the cat flea. **Annual review of entomology**, 42.1:451-47, 1997.

RUTKAUSKIS, J. R. et al. Pediculicidal treatment using ethanol and *Melia azedarach* L. **Parasitology research**, 114.6:2085-2091, 2015.

SANTOS, A. C. S. et al. Controlling *Dactylopius opuntiae* with *Fusarium incarnatum*–*equiseti* species complex and extracts of *Ricinus communis* and *Poincianella pyramidalis*. **Journal of pest science**, 89.2:539-547, 2016.

SILVA, H. H. G. D. et al. Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 40.3:264-267, 2007.

SOSA-GÓMEZ, D. R., et al. Insecticide susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) in Brazil. **Journal of economic entomology**, 102.3:1209-1216, (2009).

SOUZA, T. M. et al. Toxicity of Brazilian plant seed extracts to two strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and nontarget animals. **Journal of medical entomology**, 48.4:846-851, 2011.

SOUZA, C. M. et al. Lethal and growth inhibitory activities of Neotropical Annonaceae-derived extracts, commercial formulation, and an isolated acetogenin against *Helicoverpa armigera*. **Journal of Pest Science**, 90.2:701-709, 2017.

TAVARES, W.S. et al. Potential of aromatic and medicinal plant extracts from Cerrado biome to control the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas** 12.4:372-384, 2013a.

TAVARES, W.S. et al. *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as a guinea pig for the analysis of the toxicity of natural products. **Vie et Milieu-Life and Environment** 63.3/4:193-204, 2013b

TAVARES, W.S. et al. Screening of extracts of leaves and stems of *Psychotria* spp.(Rubiaceae) against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) for maize protection. **Journal of food protection**, 76.11:1892-1901, 2013c.

TAVARES, W.S. et al. Effects of astilbin from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae) flowers and Brazilian plant extracts on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Florida Entomologist**, 97.3:892-901, 2014.

TOFEL, K.H. et al. Insecticidal products from *Azadirachta indica* and *Plectranthus glandulosus* growing in Cameroon for the protection of stored cowpea and maize against their major insect pests. **Industrial Crops And Products**, 110:58-64, 2017.

TURCHEN, L. M. et al. Toxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil against *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) and non-effect on egg parasitoids. **Neotropical entomology**, 45.5:604-611, 2016.

VERAS, H.N.H. et al. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. **Fitoterapia**, 83:508-512, 2012.

WAGNER, D. et al. Evaluating the risk of pesticide exposure for amphibian species listed in Annex II of the European Union Habitats Directive. *Biol. Conserv.* 176:64-70, 2014.

4. CAPÍTULO II

EFEITOS DO EXTRATO FOLIAR METANÓLICO DE *Serjania erecta* RADLK (SAPINDACEAE) NA INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Resumo: A lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens*, destaca-se entre as pragas primárias da soja, onde tem reduzido a produtividade dessa cultura. A principal forma de controle deste inseto-praga é através de inseticidas sintéticos. Entretanto, tais produtos são nocivos ao meio ambiente, à biodiversidade, à saúde humana, e, além disso, há o registro da seleção de pragas resistentes aos inseticidas comercialmente disponíveis. O objetivo desse trabalho foi controlar populações de *C. includens*, minimizando os riscos aos agentes polinizadores, inimigos naturais e meio ambiente, através do extrato metanólico de *Serjania erecta*, uma planta nativa do Cerrado. As lagartas foram cedidas e criadas em laboratório. Espécimes de *S. erecta* foram coletadas, identificadas e seus extratos foram obtidos através de extração em metanol. Bioensaios foram realizados utilizando lagartas neonatas e de segundo instar e diferentes concentrações do extrato em superfície de dieta, a fim de obter a IC₅₀ (Inibição de Crescimento). Para tanto foram realizadas duas repetições em triplicata, contendo 10 lagartas. A IC₅₀ estimada correspondeu a 4,15 mg de extrato/mL para lagartas neonatas e 6,24 mg de extrato/mL para lagartas de segundo instar. A partir do ensaio de inibição do crescimento foram definidas as concentrações do extrato a serem avaliadas no ensaio de inibição do desenvolvimento. Foram realizadas cinco repetições por concentração, além do controle e, após sete dias, as lagartas foram retiradas do recipiente contendo extrato e alimentadas com dieta artificial sem extrato. Esses ensaios mostraram que o peso de pupa foi superior no tratamento controle quando comparado aos demais tratamentos. Com relação à duração dos desenvolvimentos larval, pupal e total foi observado que os tratamentos contendo extrato tiveram o tempo de desenvolvimento aumentado. Esses efeitos podem estar relacionados aos compostos fenólicos presentes em extratos de *S. erecta*, reportados anteriormente na literatura. Portanto, o extrato metanólico de *S. erecta* tem potencial para controlar lagartas *C. includens*.

Palavras-chave: lagarta falsa-medideira; cipó de cinco folhas; controle de pragas agrícolas; inseticidas botânicos.

Abstract: The soybean looper, *Chrysodeixis includens*, stands out among the primary soybean pests, where it has reduced the productivity of this crop. Synthetic insecticides is the main form of control of this plague insect. However, such products are harmful to the environment, biodiversity, human health, and, in addition, there is descriptions of the selection of plague-resistant to commercially available insecticides. The objective of this work was to control populations of *C. includens*, minimizing the risks to pollinating agents, natural enemies and environment, through the methanolic extract of *Serjania erecta*, a Cerrado native plant. The caterpillars were given and raised in the laboratory. Specimens of *S. erecta* were collected, identified and their extracts were obtained by extraction in methanol. Bioassays were performed using second and second instar caterpillars and different concentrations of the dietary surface extract in order to obtain the IC₅₀ (Growth Inhibition). Two replicates were made in triplicate, containing 10 caterpillars. The estimated IC₅₀ corresponded to 4.15 mg of extract / mL for newborn caterpillars and 6.24 mg of extract / mL for second instar caterpillars. From the growth inhibition assay the concentrations of the extract to be assessed in the developmental inhibition assay were defined. Five replications were performed per concentration, in addition to the control, and after seven days the caterpillars were removed from the container containing extract and fed with artificial diet without extract. These tests showed that the pupa weight was higher in the control treatment when compared to the other treatments. Regarding the duration of larval, pupal and total development, it was observed that the treatments containing extract had the development time increased. These effects may be related to the phenolic compounds present in extracts of *S. erecta*, previously reported in the literature. Therefore, the methanolic extract of *S. erecta* has potential to control *C. includens* caterpillars.

Key words: soybean looper; five leaves vine; plague control; botanical insecticides.

4.1 Introdução

A lagarta falsa medeieira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), é uma espécie desfolhadora (Alford, 1982; Moscardi et al., 2012), que tem apresentado alteração quanto ao status de praga, atualmente sendo considerada praga primária na cultura da soja. *C. includens* teve seu controle biológico reduzido após as intensas aplicações de fungicidas para o controle do fungo responsável pela ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) (Moscardi et al. 2012). O controle de *C. includens* ocorre através da aplicação de inseticidas sintéticos, entretanto, esses produtos têm causado efeitos nocivos a organismos não alvo (Santos et al., 2007; Barth et al., 2010; Müller, 2018) e meio ambiente (Sanches et al., 2003).

Inseticidas Botânicos são elaborados a partir de extratos vegetais ou óleos essenciais. São compostos por misturas de metabólitos secundários e produzidos utilizando solventes de diferentes polaridades e diversos órgãos das plantas, como folhas (Turchen, 2016), sementes (Souza, 2017), frutos (Pratti, 2015) e flores (Tavares, 2014). Esses inseticidas são degradados com maior facilidade, oferecerem menor risco de selecionar insetos-pragas resistentes (Menezes et al., 2005; Mendes et al., 2017).

Inseticidas Botânicos já mostraram efeitos de inibição de enzimas alfa-amilases, alfa-glicosidases (Singh, 2016), acetilcolinesterase, carboxil-esterases e glutathione-S-transferase (Qin, 2010). Além disso, outros efeitos, como: deformidades morfológicas (Singh, 2016), ação antinutrientes (Qin, 2010), mortalidade (Fouad, 2017; Singh, 2016; Souza, 2017; Qin, 2010), repelência (Andrade, 2016; Fouad, 2017), inibição de crescimento (Souza, 2017), ovicida (Figueiredo, 2017) e de retardo dos períodos de desenvolvimento (Singh, 2016, Qin, 2010).

Estima-se que o Cerrado possui pelo menos 12.000 espécies de plantas superiores (Novaes et al., 2013). *Serjania erecta* Radlk, conhecida como cipó cinco folhas é uma espécie nativa desse domínio em que foram detectados metabólitos secundários como as saponinas, flavonoides, taninos e terpenos (Fernandes et al., 2011), o que pode estar relacionado à intensa atividade inseticida das plantas da família Sapindaceae (Sptizer et al., 1996).

Uma das formas mais efetivas para diminuir a perda da biodiversidade é através do desenvolvimento de programas de conservação e o uso sustentado dos recursos biológicos (Santos, 2003). Conhecendo o potencial biotecnológico de *S. erecta*, é possível promover a preservação da espécie. *S. erecta* pode fornecer compostos que controlem *C. includens*, reduzindo o uso de inseticidas sintéticos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o peso de lagartas *C. includens* recém-eclodidas e de segundo instar, bem como avaliar o desenvolvimento de imaturos após exposição ao extrato foliar metanólico de *S. erecta*.

4.2 Material e métodos

Aquisição de insetos

Para estabelecimento da colônia inicial de *C. includens*, pupas foram cedidas pelo Laboratório de Entomologia da ESALQ-USP, e a criação mantida no Laboratório de Entomologia do IF Goiano – Campus Rio Verde, a $25 \pm 2^\circ$ C, $60 \pm 10\%$ UR e 14h de fotofase.

Criação dos insetos

As lagartas foram criadas em dieta artificial à base de feijão branco (Greene et al. 1976), contendo ágar, caseína, germe de trigo, farelo de soja, levedura de cerveja, ácido sórbico, ácido ascórbico, nipagin, tetraciclina, solução vitamínica e formaldeído. Os adultos foram mantidos em gaiolas de tubo PVC com 20 x 15 cm (comprimento x

diâmetro), sendo a base inferior da gaiola fechada com um prato plástico (20 cm de diâmetro) e a parte superior fechada com tecido do tipo organza com liga de elástico e revestida interiormente com folha de papel A4 para realização das posturas. Recipientes plásticos de 20 mL foram adicionados no interior das gaiolas contendo chumaços de algodão embebidos em solução de mel a 10%. A manutenção das gaiolas de adultos e coleta de posturas era realizada diariamente. Após eclosão, as lagartas foram mantidas em duplas em recipientes plásticos de 50 mL, contendo uma porção da dieta (1,5 x 1,5 cm). A manutenção da criação de lagartas foi conduzida duas vezes por semana, com a substituição da dieta e do recipiente de criação. As pupas foram retiradas e mantidas em recipientes plásticos de 500 mL até a emergência dos adultos, quando eram transferidas para gaiolas. As populações de *C. includens* eram mantidas isoladas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 10\%$ de umidade e 14 h de fotofase.

Coleta do material vegetal

O material vegetal (folhas saudáveis de *S. erecta*) foi coletado na fazenda Fontes do Saber, Rio Verde/GO, e a exsiccata depositada no Herbário do IF Goiano – Campus Rio Verde sob registro número 545. Posteriormente, o material foi enviado à Universidade Federal do Mato Grosso e identificado pelo professor Dr. Germano Guarim Neto como *Serjania erecta* Radlk.

Obtenção do extrato

As folhas de *S. erecta* foram secas em estufa com circulação e renovação de ar (Marconi MA 035) a 40°C , durante cinco dias até que fosse observado peso constante. Posteriormente, foram trituradas em moinho de facas (Willey Tecnal TE 680), obtendo-se o pó vegetal. Os extratos foram obtidos a partir da adição do solvente álcool metílico ao pó vegetal, na proporção de 1L para cada 200 g, totalizando 1000 g de pó da planta e 5L de álcool metílico. A mistura foi mantida em frascos do tipo Erlenmeyer vedados por 24 horas, e posteriormente o material foi filtrado. O material filtrado foi rotaevaporado (Tecnal TE-210) a 65°C , temperatura próxima de ebulição do solvente. O solvente recuperado foi adicionado à torta resultante da primeira extração e por mais duas vezes o procedimento foi repetido. Após, o extrato foi transferido para um recipiente de vidro com tampa, para ser congelado e liofilizado (liofilizador Liotop L108). Em seguida, o produto liofilizado foi armazenado em temperatura ambiente até a realização dos bioensaios.

Ensaio de inibição do crescimento de lagartas

Lagartas *C. includens* neonatas e de segundo instar foram expostas a cinco concentrações do extrato: 1,25; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 mg de extrato/mL, que foram obtidas pela diluição em água com 2,5% de álcool metílico (v/v). O tratamento controle foi realizado com água destilada contendo 2,5 % de metanol (v/v). Os bioensaios constaram de duas repetições em triplicata. Para cada concentração, 300 µL da solução do extrato foram aplicados à superfície de 10 mL de dieta artificial, previamente acondicionada em recipientes plásticos de 100 mL.

Após a deposição, a solução foi espalhada sobre a superfície de dieta com movimentos circulares. Os potes foram mantidos sem tampa por 2 horas até secar o excesso de umidade. Posteriormente, foram transferidas 10 lagartas neonatas ou de segundo instar em cada pote, sendo tampados e identificados com as concentrações de extrato e idade do inseto. Após 7 dias, as lagartas sobreviventes foram pesadas em balança analítica, sendo calculada a média de peso de lagarta por concentração. Também foi contabilizada a mortalidade de lagartas.

Ensaio de inibição do desenvolvimento de lagartas

A partir do ensaio anterior foram definidas as concentrações do extrato a serem avaliadas no ensaio de inibição do desenvolvimento: 10 e 20 mg de extrato/mL. O procedimento foi realizado de forma semelhante, sendo que extrato metanólico de *S. erecta* foi diluído em água destilada contendo álcool metílico a 2,5% (v/v). No entanto, foram realizadas cinco repetições por concentração, além do controle realizado com água destilada contendo álcool metílico a 2,5%. Após sete dias, as lagartas foram retiradas do recipiente contendo extrato aplicado à superfície da dieta, individualizadas e continuamente alimentadas com dieta artificial sem adição do extrato. A duração larval, pupal e emergência de adultos foram observadas e registradas diariamente. As pupas foram sexadas a fim de verificar a razão entre machos e fêmeas.

Análises estatísticas

Os dados de peso das lagartas nas diferentes concentrações do extrato foliar metanólico de *S. erecta* foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo logístico com três parâmetros, segundo a fórmula: $y = \{a/[1+(x+IC_{50})^b]\}$, onde y corresponde à média do peso em mg; x = concentração do extrato; a corresponde a

diferença entre o ponto máximo e mínimo da curva; b corresponde a declividade da curva; e IC_{50} corresponde a concentração que proporciona 50% de redução de peso do inseto.

Os dados de peso de pupas, duração do período larval, duração do período pupal, duração do desenvolvimento total e viabilidade de imaturos foram submetidos a um teste de normalidade (Kolmogorov-D: Teste normal, Proc Univariate de SAS) e teste de homogeneidade (teste de Bartlett), e foram transformados quando necessário para atender as hipóteses de análise de variância (SAS Institute 2001). As diferenças significativas foram determinadas usando o teste de Tukey.

4.3 Resultados e Discussão

Para testar a hipótese de que o extrato foliar metanólico de *S. erecta* pudesse influenciar no desenvolvimento de lagartas de *C. includens*, estes animais foram expostos por sete dias a dieta com e sem extrato foliar. Após, as lagartas de *C. includens* de idades diferentes tiveram suas massas medidas, a fim de verificar efeitos de inibição do crescimento. Foram também realizados ensaios de inibição do desenvolvimento com lagartas recém-eclodidas expostas à dieta com e sem o extrato por sete dias e, após esse período, transferidas para dieta sem o extrato. Nesses ensaios foram registradas as médias de duração dos períodos larval, pupal e total, além de determinar as viabilidades de imaturos.

Os dados de peso ajustaram ao modelo de regressão não-linear do tipo logístico com três parâmetros, sendo estimada a IC_{50} (Inibição de Crescimento) (Tabela 1). Foi observada diferença significativa entre as estimativas para os instares avaliados ($t = 1,0021 - 14,25$; $P = 0,0444$), sendo a IC_{50} maior para segundo instar. A potência foi calculada através da razão entre os valores de IC_{50} de lagartas de segundo instar e neonatas, mostrando que o extrato foi 1,5 vezes mais potente para lagartas neonatas, evidenciando que lagartas recém eclodidas se mostraram mais vulneráveis, embora, biologicamente, essa diferença possa não apresentar grandes impactos. Esses resultados estão de acordo com o já descrito na literatura, onde maior efeito na mortalidade de lagartas de *C. includens* de primeiro instar foi observado após exposição ao extrato bruto de sementes de *Annona mucosa*, quando comparado às lagartas de terceiro e quinto instar (Massaroli, 2013). Outros trabalhos atribuem a maior susceptibilidade de lagartas de menor idade à ação menos eficiente de enzimas intestinais detoxificantes em Lepidopteros herbívoros (Ghumare et al. 1989; Gould 1984). Além disso, foi também

determinado que as concentrações de 10 mg/mL e de 20 mg/mL chegaram a inibir 92% e 93% do peso das lagartas neonatas, respectivamente. Não houve diferença estatística entre a mortalidade nos tratamentos controle e contendo extrato foliar metanólico de *S. erecta* (Tabela 2).

Tabela 1. Parâmetros da regressão não-linear logística com três parâmetros estimados para redução de peso de lagartas neonatas e de segundo instar de *Chrysodeixis includens* quando submetidos a diferentes concentrações do extrato foliar metanólico de *Serjania erecta*.

Idade da lagarta	a ¹	b ²	IC ₅₀ ± EP	Potência
Neonata	0,01 ± 0,0	3,89 ± 0,94	4,15 ± 0,32	1,51
Segundo instar	0,05 ± 0,001	1,96 ± 0,13	6,24 ± 0,26	-

¹a, corresponde a diferença entre o ponto máximo e mínimo da curva

²b, corresponde a declividade da curva.

Diferenças no tamanho de lagartas podem ser observadas na figura 1. A inibição máxima de crescimento de lagartas de segundo instar foi de 92% para lagartas expostas à concentração de 20 mg/mL.



Figura 1. Lagartas de *Chrysodeixis includens* expostas à dieta controle (esquerda) e à dieta contendo extrato metanólico de *Serjania erecta* aplicados à superfície na concentração de 20 mg/mL.

Em ensaios de inibição do desenvolvimento houve diferença significativa entre os tratamentos para duração de lagarta ($F_{2,12} = 155$; $p < 0,001$), peso de pupa ($F_{2,12} = 9,57$; $p < 0,0033$), duração de pupa ($F_{2,12} = 28,84$; $p < 0,001$), e duração do desenvolvimento total ($F_{2,12} = 242,36$; $p < 0,001$). Para viabilidade de imaturos, não houve diferença significativa entre os tratamentos ($F_{2,12} = 0,49$; $p = 0,6258$). Com relação à duração dos desenvolvimentos larval, pupal e total foi observado que os

tratamentos de 10 mg/mL e 20 mg/mL tiveram o tempo de desenvolvimento alongado, retardando o desenvolvimento e diferindo estatisticamente do tratamento controle (Tabela 2). O peso de pupa foi superior no tratamento controle quando comparado aos tratamentos de 10 mg/mL e 20 mg/mL, que não diferiram entre si (Tabela 2).

Apesar de as lagartas retomarem o seu desenvolvimento quando transferidas para a dieta sem o extrato, esses indivíduos com desenvolvimento retardado e peso reduzido podem ficar mais susceptíveis a outros fatores, como inimigos naturais e radiação solar.

Tabela 2. Influência de diferentes concentrações de extrato foliar metanólico de *Serjania erecta* no desenvolvimento de *Chrysodeixis includens*.

Tratamentos	Duração larval	Duração pupal	Duração Total	Peso de Pupa	Viabilidade de imaturos
Controle	16,9 ± 0,06 ^b	8,07 ± 0,10 ^b	25 ± 0,06 ^b	0,24 ± 0,004 ^a	60,32 ± 4,4 ^a
10 mg/mL	23,5 ± 0,36 ^a	8,94 ± 0,06 ^a	32,4 ± 0,34 ^a	0,22 ± 0,002 ^b	49,40 ± 9,96 ^a
20 mg/mL	24,1 ± 0,42 ^a	8,99 ± 0,12 ^a	33,1 ± 0,36 ^a	0,22 ± 0,005 ^b	48,5 ± 11,7 ^a

Médias seguidas por letras diferentes dentro de uma coluna são diferentes estatisticamente.

Além desses efeitos, foram também observadas alterações morfológicas (asas subdesenvolvidas) em indivíduos expostos ao tratamento de 20 mg de extrato/mL (Figura 2). Esse efeito subletal pode estar associado a menor longevidade do inseto, bem como em menor sucesso reprodutivo, por interferir em diferentes aspectos da vida do inseto, como interferências no sistema imune e alterações do comportamento do animal (Müller, 2018).



Figura 2. Adultos de *Chrysodeixis includens* normal (esquerda) e morfologicamente deformado por influência do extrato foliar metanólico de *Serjania erecta* (direita).

Os efeitos de redução de peso de lagartas *C. includens* e retardo do desenvolvimento podem estar associados aos compostos fenólicos presentes em extratos vegetais de *S. erecta*, como kaempferol (Cardoso et al., 2013), saponinas (Gomig et al., 2008; Brogini et al., 2010) e apigeninas (Cardoso et al., 2013; Guimarães et al., 2015). Compostos fenólicos podem reduzir significativamente a sobrevivência dos insetos e crescimento, uma vez que inativam as enzimas digestivas (Mello e Silva-Filho, 2002). Lagartas *Pieris brassicae* (Lepidoptera) expostas à dieta tratada com kaempferol tiveram massa corporal significativamente reduzida (Onkokesung et al., 2014). Extratos de *Sapindus mukorossi* (Sapindaceae), que apresentam saponinas em sua composição, mostraram efeitos na redução de alimentação de *Thysanoplusia orichalcea* (Lepidoptera), inibição da duração larval e no desenvolvimento de pupas (Eddaya et al., 2013), o que pode estar associado à hidrólise de saponinas em agliconas liberadas pelas glicosilases no intestino do inseto (Manal et al., 2000; Huang et al., 2008; Eddaya et al., 2013). Resultados obtidos por Cipollini et al. (2008) mostraram que a apigenina purificada dissuadiu alimentação de lagartas *Spodoptera exigua* (Lepidoptera Noctuidae), e isso pode estar associado à capacidade de interromper os ciclos de muda (Oberdorster et al. 2001).

Ainda mais, os resultados obtidos neste trabalho nos permitem especular que provavelmente o efeito inseticida dos extratos foliares metanólicos de *S. erecta* em *C. includens* podem ser atribuídos a inibição de enzimas do trato digestivo, diminuindo a absorção de nutrientes e, por consequência, o desenvolvimento das lagartas. No entanto, não se pode afastar a ação inibitória do extrato em outras enzimas alvo, como por exemplo enzimas do sistema nervoso central, como a acetilcolinesterase. Sabendo que as enzimas carboxil-esterases possuem papel importante tanto no metabolismo de lipídeos e triglicerídeos como também na degradação de xenobióticos (Sato e Hosokawa, 1998; Ross et al, 2010), avaliamos no capítulo 3 os efeitos do extrato foliar metanólico de *S. erecta* nessa enzima extraída de *C. includens*.

4.4 Considerações finais

As IC₅₀ corresponderam a 4,15 mg de extrato/mL para lagartas neonatas e 6,24 mg de extrato/mL para lagartas de segundo instar, sendo que as primeiras se mostraram mais vulneráveis. Ensaios de inibição do desenvolvimento mostraram que o peso de pupa foi superior no tratamento controle quando comparado aos demais tratamentos. Os tratamentos de 10 mg de extrato/mL e 20 mg de extrato/mL prejudicaram os

desenvolvimentos larval, pupal e total, prolongando-os. Esses resultados mostram que o extrato foliar metanólico de *S. erecta* tem potencial para controlar *C. includens*.

Ensaio utilizando os compostos isolados presentes no extrato foliar metanólico de *S. erecta* podem ser conduzidos a fim de elucidar os compostos responsáveis pela inibição de peso e de desenvolvimento de *C. includens*, ou se diferentes compostos atuam de forma sinérgica afetando a biologia desse inseto.

4.5. Referências Bibliográficas

ALFORD, R. et al. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybean ecosystems as determined with loop lure-baited traps. **Journal of Economic Entomology**, v. 75, n. 4, p. 647-650, 1982.

ALVES, A. P. C. et al. Toxicity of the phenolic extract from jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg) fruit skins on *Spodoptera frugiperda*. **Chilean journal of agricultural research**, 74(2), 200-204, 2014.

ANDRADE, Jessica Velasco et al. Efeito antialimentar de extratos hidroalcoólicos de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 1, p. 39-43, 2016.

BARTH, V. G. et al. Complicações decorrentes da intoxicação por organofosforados. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 5, n. 2, 2010.

BROGGINI, Luciana SC et al. Behavioral and enzymatic bioassays with *Serjania erecta* Radlk., Sapindaceae, correlated with cognitive dysfunctions. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 519-528, 2010.

CARDOSO, Claudia Andréa Lima et al. Phenolic compounds and antioxidant, antimicrobial and antimycobacterial activities of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 4, p. 775-782, 2013.

CIPOLLINI, D. et al. Phenolic metabolites in leaves of the invasive shrub, *Lonicera maackii*, and their potential phytotoxic and anti-herbivore effects. **Journal of chemical ecology**, 34(2), 144-152, 2008.

EDDAYA, T. et al. Biological activity of *Sapindus mukorossi* Gaerten (Sapindaceae) aqueous extract against *Thysanoplusia orichalcea* (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial crops and products**, 50, 325-332, 2013.

FERNANDES, R. S. **Avaliação da atividade antiofídica do extrato de *Serjania erecta* Radlk in natura e in vitro: isolamento e caracterização estrutural de compostos bioativos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2011.

FIGUEIREDO, M. B. et al. Lethal and sublethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae) and monoterpenes on Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 1, p. 63-69, 2017.

FOUAD, H. A.; DA CAMARA, C. AG. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 30-36, 2017.

GHUMARE, S. S. et al. Effect of rutin on the neonate sensitivity, dietary utilization and mid-gut carboxylesterase activity of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). **Proceedings: Animal Sciences**, v. 98, n. 6, p. 399-404, 1989.

GOMIG, F. et al. Topical anti-inflammatory activity of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) extracts. **Journal of ethnopharmacology**, v. 118, n. 2, p. 220-224, 2008.

GOULD, F. Mixed function oxidases and herbivore polyphagy: the devil's advocate position. **Ecological Entomology**, v. 9, n. 1, p. 29-34, 1984.

GREENE, G.L. et al. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of economic entomology**, v.69, p.487-488, 1976. doi: 10.1093/jee/69.4.487.

GUIMARÃES, C. C. et al. The glycosylated flavonoids vitexin, isovitexin, and quercetrin isolated from *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) leaves protect PC12 cells

against amyloid- β 25-35 peptide-induced toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 86, p. 88-94, 2015.

HUANG, H.C. et al. Triterpenoid saponins from the fruits and galls of *Sapindus mukorossi*. **Phytochemistry** 69, 1609–1616, 2008.

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

MANAL, M.A. et al. Effects of alfalfa saponins on the moth *Spodoptera littoralis*. **J. Chem. Ecol.** 26 (4), 1065–1078. 2000.

MASSAROLI, A. Efeito de extratos de anonáceas sobre a lagarta falsa medideira *Chrysodeixis includens* (Walker 1857) (Lepidoptera: Noctuidae). 2013.

MENEZES, E. L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Embrapa Agrobiologia**, 2005.

MÜLLER, Caroline. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects—Facts and knowledge gaps. **Basic and Applied Ecology**, v. 30, p. 1-10, 2018.

OBERDORSTER, E. et al. Common phytochemicals are ecdysteroid agonists and antagonists: a possible evolutionary link between vertebrate and invertebrate steroid hormones. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.** 77:229–238, 2001.

ONKOKESUNG, N. et al. Modulation of flavonoid metabolites in *Arabidopsis thaliana* through overexpression of the MYB75 transcription factor: role of kaempferol-3, 7-dirhamnoside in resistance to the specialist insect herbivore *Pieris brassicae*. **Journal of experimental botany**, 65(8), 2203-2217, 2014.

PRATTI, D. L. A et al. Mechanistic basis for morphological damage induced by essential oil from Brazilian pepper tree, *Schinus terebinthifolia*, on larvae of *Stegomyia aegypti*, the dengue vector. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 136, 2015.

QIN, W. et al. Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb.(Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro)(Coleoptera: Hispididae). **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 96, n. 3, p. 132-139, 2010.

ROSS, M. K. et al. Carboxylesterases: dual roles in lipid and pesticide metabolism. **Journal of pesticide science**, v. 35, n. 3, p. 257-264, 2010.

SANTOS, M. A. T. et al. Piretróides - uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SATOH, T.; HOSOKAWA, M. The mammalian carboxylesterases: from molecules to functions. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 38, n. 1, p. 257-288, 1998.

SINGH, B. et al. Insecticidal potential of an endophytic *Cladosporium velox* against *Spodoptera litura* mediated through inhibition of alpha glycosidases. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 131, p. 46-52, 2016.

SOUZA, C. M. et al. Lethal and growth inhibitory activities of Neotropical Annonaceae-derived extracts, commercial formulation, and an isolated acetogenin against *Helicoverpa armigera*. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 2, p. 701-709, 2017.

TAVARES, W. de S. et al. Effects of astilbin from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae) flowers and Brazilian plant extracts on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Florida Entomologist**, p. 892-901, 2014.

TURCHEN, L. M. et al. Toxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil against *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) and non-effect on egg parasitoids. **Neotropical entomology**, v. 45, n. 5, p. 604-611, 2016.

5. CAPÍTULO III
EFEITO DO EXTRATO FOLIAR METANÓLICO DE
***Serjania erecta* RADLK (SAPINDACEAE) NA ATIVIDADE DE**
CARBOXIL-ESTERASES EXTRAÍDAS
DE *Crhysodeixis includens*
(WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Resumo: O controle químico de insetos-praga da agricultura teve início com a utilização de inseticidas de primeira geração e, posteriormente, passaram a ser usados inseticidas de segunda geração, entretanto, esses compostos trouxeram diferentes problemas, incluindo a seleção de insetos-praga resistentes. As carboxil-esterases, enzimas que catalisam a hidrólise de ésteres carboxílicos, estão associadas aos mecanismos de resistência de insetos aos inseticidas organofosforados, carbamatos e piretróides. *Serjania erecta* Radlk, uma espécie nativa do domínio Cerrado, é rica em importantes compostos bioativos cujas atividades biológicas incluem inibição de enzimas, portanto, o objetivo do trabalho foi investigar a inibição de enzimas carboxil-esterases extraídas de lagartas *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera) mediante exposição ao extrato foliar metanólico de *S. erecta*. As enzimas carboxil-esterases foram obtidas a partir de intestinos de lagartas *C. includens* de quarto instar e as proteínas totais foram determinadas através do método do ácido bicinconínico. A atividade das carboxil-esterases foi avaliada pela degradação do *p*-nitrofenil acetato em acetato e *p*-nitrofenol, em tampão fosfato de sódio 0,02 M, pH 7,0, a 20 °C ± 2 °C. Para os ensaios de inibição, diluições do extrato metanólico de *Serjania erecta* foram preparadas em tampão fosfato de sódio 0,02 M, pH 7,0, em concentrações finais que variaram de 0,0078 mg/mL a 2,0 mg/mL de inibidor. A atividade das carboxil-esterases diminuiu em 41,96 e 43,43% nas concentrações de 7,8 e 15,6 µg/mL de extrato, respectivamente. A partir da concentração de 31,3 µg/mL de extrato metanólico foliar de *S. erecta*, não foi possível detectar atividade enzimática. Na presença dos extratos ocorreu uma diminuição de V_{max} , e uma manutenção nos valores de K_M , o que poderia indicar uma inibição do tipo mista, devido às diferentes moléculas presentes em extratos brutos, que podem atuar no mecanismo enzimático de diferentes formas. Portanto, o extrato foliar metanólico de *S. erecta* mostrou potencial inibitório de carboxil-esterases.

Palavras chave: inibição de Carboxil-esterases; *Chrysodeixis includens*; *Serjania erecta*; inibição enzimática; inseticidas botânicos.

Abstract: The chemical control of plague insects from agriculture began with the use of first-generation insecticides, and later, second-generation insecticides were used. However, these compounds brought different problems, including the selection of resistant plague insects. Carboxyl esterases, enzymes that catalyze the hydrolysis of carboxylic esters, are associated with insect resistance mechanisms to organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides. *Serjania erecta* Radlk, a Cerrado native species, is rich in important bioactive compounds whose biological activities include inhibition of enzymes. Therefore, the aim of this work was to investigate the inhibition of carboxyl esterase enzymes extracted from caterpillars *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera) through exposure to the methanolic foliar extract of *S. erecta*. Carboxyl esterase enzymes were obtained from intestines of fourth instar *C. includens* caterpillars and total proteins were determined by the bicinchonin acid method. The activity of carboxyl esterases was evaluated by the degradation of p-nitrophenyl acetate in acetate and p-nitrophenol., in 0.02M sodium phosphate buffer, pH 7.0, at $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. For the inhibition assays, dilutions of the methanolic extract of *Serjania erecta* were prepared in 0.02 M sodium phosphate buffer, pH 7.0, at final concentrations ranging from 0.0078 mg / mL to 2.0 mg / mL of inhibitor. The activity of the carboxyl esterases decreased in 41.96 and 43.43% in the concentrations of 7.8 and 15.6 μg / mL of extract, respectively. From the concentration of 31.3 μg / mL foliar methanolic extract of *S. erecta*, it was not possible to detect enzymatic activity. In the presence of the extracts, a reduction of V_{max} and a maintenance in the K_{M} values occurred, which could indicate an inhibition of the mixed type, due to the variety of molecules present in crude extracts, that can act in the enzymatic mechanism of different forms. Therefore, the methanolic foliar extract of *S. erecta* showed an inhibitory potential of carboxyl esterases.

Key-words: carboxyl-esterases inhibition; *Chrysodeixis includens*; *Serjania erecta*; enzymatic inhibition; botanical insecticides.

5.1 Introdução

Um grande desafio enfrentado pelos agricultores são as infestações por insetos-praga em culturas. O controle químico desses insetos iniciou com a utilização de inseticidas de primeira geração contendo arsênio ou flúor e, posteriormente, de segunda geração contendo hidrocarbonetos clorados (Rodrigues, 2012; Casida, 1980). Entretanto, a alta letalidade e persistência destes inseticidas trouxeram diferentes problemas ambientais e toxicológicos (Rodrigues, 2012), incluindo a seleção de insetos-praga resistentes (Isman e Machial, 2006) e afetando organismos não-alvo, incluindo organismos benéficos (Müller, 2018)

Dentre os mecanismos de resistência que contribuem para aumentar a dose efetiva de inseticida estão: penetração reduzida, aumento do sequestro de compostos tóxicos e aumento da detoxificação (Ranson et al., 2002). As principais proteínas

responsáveis pelo metabolismo de inseticidas são o citocromo P450s, as carboxil-esterases e glutatona transferases (Ranson et al., 2002).

As carboxil-esterases estão associadas aos mecanismos de resistência de insetos aos inseticidas organofosforados, carbamatos e piretróides (Li et al., 2007). Carboxil-esterases catalisam a hidrólise de ésteres carboxílicos (Hopkins et al., 2017) e atuam por meio da detoxificação metabólica, modificando os inseticidas para formas menos tóxicas ao inseto ou eliminando-os de modo que não tenham ação no sítio alvo (Gigliolli et al., 2011). Quando um éster carboxílico reage com uma carboxil-esterase, grupos álcool e acil são estabilizados em subpacotes específicos que orientam o éster para reação com a serina catalítica. A serina catalítica reage com os inseticidas organofosforados e carbamatos e esta conjugação resulta em sequestro do inseticida antes de atingir o alvo (Hopkins et al., 2017). A superprodução de carboxil-esterases através de amplificação gênica já foi relatada como responsável pela maior degradação e sequestro de uma ampla gama de inseticidas (Field e Devonshire, 1998) e o aumento na atividade de carboxil-esterases pode resultar na diminuição da toxicidade de compostos com atividade inseticida (Ghumare et al., 1989).

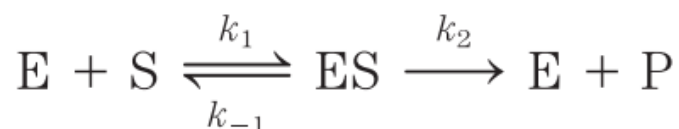
Inseticidas botânicos, elaborados a partir de extratos vegetais já mostraram efeitos de inibição de acetilcolinesterase, carboxil-esterases e glutatona-S-transferase (Qin et al., 2010). *Serjania erecta* Radlk, uma espécie nativa do domínio Cerrado, é rica em importantes compostos bioativos como taninos, flavonoides (Gomig et al., 2008; Slomp et al., 2009; Brogгинi et al., 2010; Fernandes et al., 2011; Cardoso et al., 2013; Guimarães et al., 2015), esteroides, saponinas e terpenoides. Atividades atribuídas aos extratos dessa planta incluem inibição de enzimas acetilcolinesterase e butilcolinesterase (Brogгинi et al., 2010). Apesar do potencial biotecnológico de *S. erecta*, seus extratos vegetais ainda não foram avaliados quanto aos efeitos no metabolismo de insetos ou de enzimas detoxificantes.

Cinética enzimática (adaptado de COX, 2011)

Os estudos iniciais de mecanismos de ação enzimática conduzidos por Emil Fischer, que datam de 1894, mostraram que as enzimas são capazes de se ligar transitoriamente a seus substratos. Esse modelo, conhecido como modelo chave-fechadura, foi continuamente evoluindo em conjunto com os achados sobre estrutura tridimensional de proteínas, culminando com o modelo do encaixe induzido, proposto por Koshland et al. (1966) e Fersht (1998). Neste modelo, propõe-se que o substrato

induz mudanças conformacionais no sítio catalítico e/ou na estrutura tridimensional de toda a enzima, a fim de permitir a interação e subsequente catálise (ou inibição, caso estejamos tratando de uma molécula inibidora).

Essa interação transitória entre a enzima e o substrato e por fim a obtenção do produto pode ser sumarizada na equação a seguir:



onde E é enzima, S, substrato, ES, complexo enzima-substrato e P, produto. As constantes k_{-1} e k_2 contribuem para a dissociação do complexo ES, e a constante k_1 , para a formação do complexo ES. Da razão entre a soma de k_{-1} e k_2 e k_1 , obtém-se a constante de afinidade da enzima pelo substrato, a constante de Michaelis, como mostrado abaixo:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Os dados de cinética enzimática são estudados à luz do mecanismo descrito por Leonor Michaelis e Maud Menten. Neste mecanismo, a ação enzimática é analisada de forma estacionária, isto é, considera-se a concentração do complexo ES constante, mantendo-se a hidrólise do substrato nunca superior a 10% da concentração total de substrato. Essa análise permite minimizar os efeitos de reações reversíveis, inativação da enzima por seus produtos e a inativação progressiva da enzima.

A equação de Michaelis-Menten, equação básica da cinética enzimática, descreve a atividade de uma enzima através da relação entre a velocidade inicial da reação (v_o), concentração do substrato ($[S]$), a velocidade máxima da enzima (V_{max}) e a constante de afinidade da enzima pelo substrato, conhecida com constante de Michaelis (K_M), como mostrado abaixo:

$$v_o = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

Neste modelo, o K_M é numericamente igual à concentração de substrato necessária para atingir a metade da velocidade máxima da enzima. O resultado gráfico desta equação é uma hipérbole onde é mostrado o efeito da concentração do substrato nas velocidades iniciais da enzima (Figura 1).

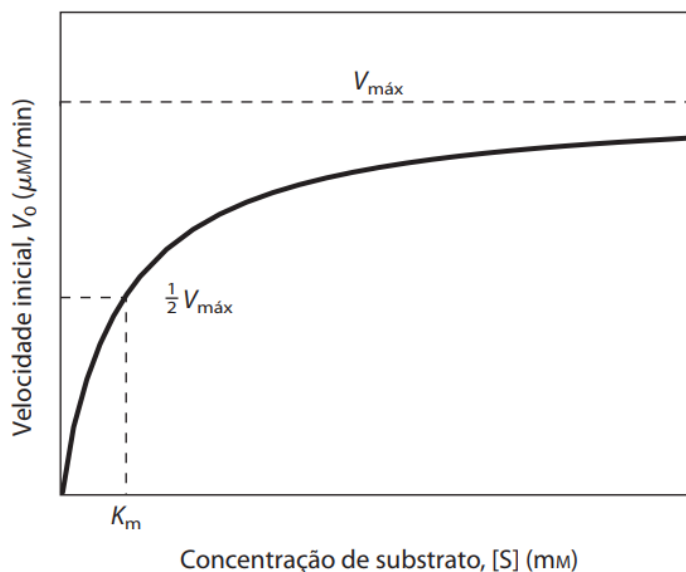


Figura 1. Efeito da concentração do substrato sobre a velocidade inicial de uma reação catalisada por enzima.

Inibidores enzimáticos são moléculas que afetam o perfil cinético das enzimas, diminuindo sua atividade. Os inibidores enzimáticos podem agir competindo com os substratos pelo sítio ativo das enzimas livres (inibidores competitivos), ligando-se ao complexo ES (inibidores incompetitivos), e, finalmente, ligando-se tanto à enzima livre quanto ao complexo ES (inibidores não competitivos). Todos estes processos de inibição são classificados como reversíveis, isto é, ocorre um equilíbrio entre a forma inibida e a forma livre da enzima (ou do complexo ES), de onde pode-se calcular uma constante de equilíbrio (K_I). Existem ainda os processos irreversíveis de inibição enzimática, e neste caso as moléculas que causam este efeito são chamadas de inativadores.

As análises de efeitos inibitórios são normalmente realizadas através de uma transformação do modelo de Michaelis-Menten. Essa transformação permite a linearização dos gráficos de cinética enzimática, permitindo a construção de gráficos de duplos-recíprocos ou gráfico de Lineweaver-Burk. A linearização é obtida pela utilização dos valores de $1/v_0$ e $1/[S]$, seguindo a equação abaixo:

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{K_M}{V_{max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Na figura 2, são mostrados os esquemas cinéticos de enzimas inibidas de forma competitiva (A), incompetitiva (B) e não competitiva ou mista (C), bem como a representação dos gráficos dos duplos-recíprocos de cada uma das situações.

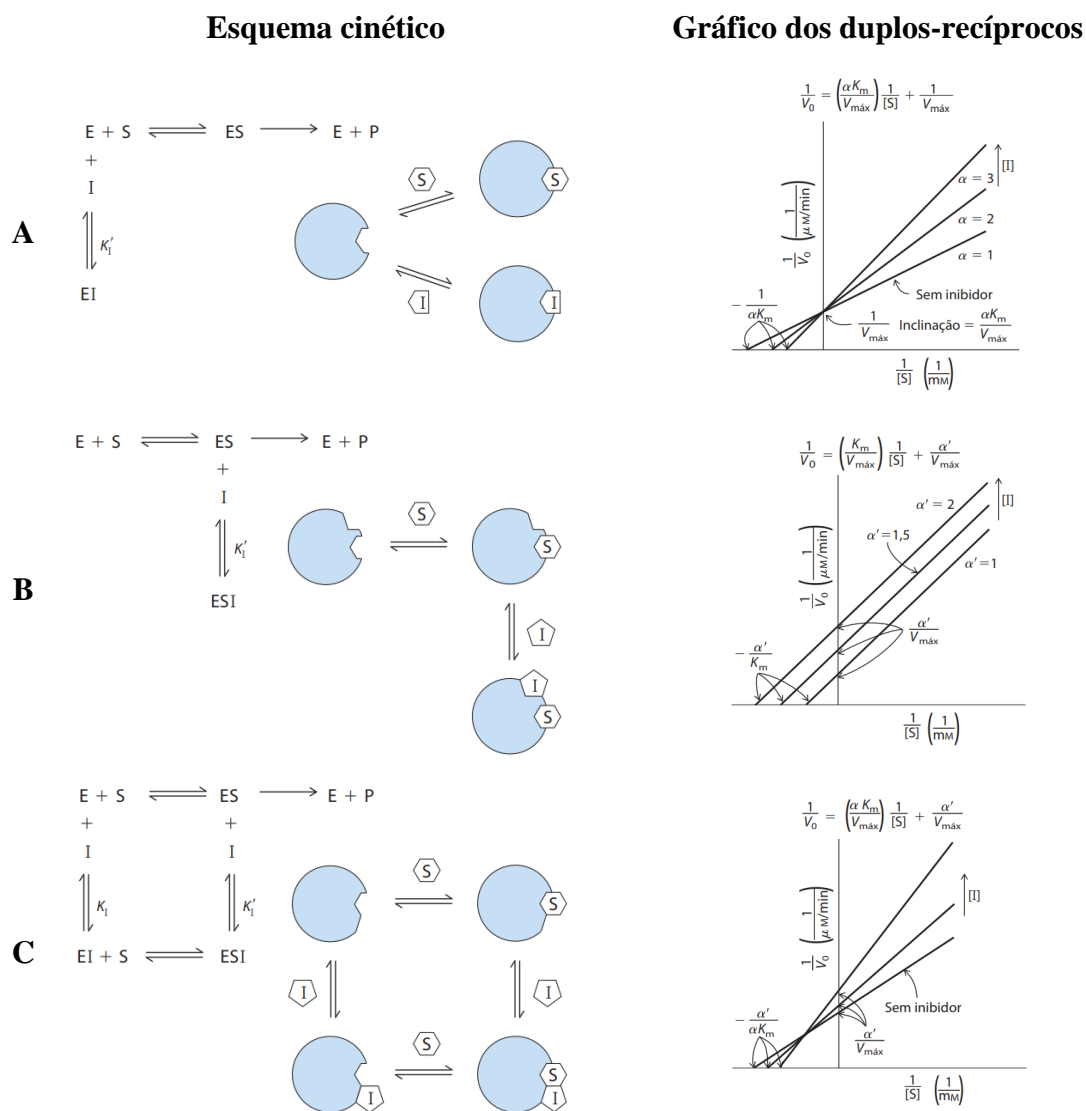


Figura 2. Modelos cinéticos (esquerda) e gráficos de duplos recíprocos (direita) para inibidores competitivos (A), incompetitivos (B) e mistos (C).

O objetivo do capítulo foi investigar a inibição de enzimas carboxil-esterases extraídas de lagartas *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera) mediante exposição ao extrato foliar metanólico de *S. erecta* através do modelo de Michaelis-Menten e de uma transformação desse modelo, permitindo a linearização dos gráficos de cinética enzimática e construção de gráficos de Lineweaver-Burk.

5.2 Material e métodos

Extração de carboxil-esterases

Inicialmente, cinco amostras, cada uma contendo cinco lagartas de quarto instar de *C. includens* foram obtidas a partir da criação do Laboratório de Entomologia Agrícola do

IFGoiano, campus Rio Verde. Para a extração de carboxil-esterases, as lagartas foram dissecadas em solução fisiológica e, posteriormente, seus abdomens foram homogeneizados em 50 μL de tampão fosfato de sódio (0,02 M, pH 7,0). Após a homogeneização, foram adicionados 950 μL de tampão fosfato de sódio (0,02 M, pH 7) e o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 RCF por 15 min a 4°C. O sobrenadante foi coletado e congelado para posterior quantificação de proteínas. As proteínas totais foram determinadas através do método do ácido bicinonínico utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão (Smith, 1985; Rodrigues 2014).

Ensaio de atividade enzimática

A atividade das carboxil-esterases (EC 3.1.1.1) foi avaliada pela adaptação do método de van Asperen, com *p*-nitrofenil-acetato solubilizado em DMSO como substrato, utilizando placas de microtitulação de 96 poços. A atividade carboxil-esterase degrada o *p*-nitrofenil acetato em acetato e *p*-nitrofenol (figura 3). O aumento de absorvância do produto *p*-nitrofenol foi monitorado em leitora de placas (Versamax, Molecular Devices), com $\lambda = 405 \text{ nm}$, por 10 minutos em cada concentração de substrato. As leituras, realizadas em triplicata, de cada poço foram monitoradas em intervalos de 8 segundos, totalizando 76 leituras por poço. Os ensaios de cinética enzimática em estado estacionário foram realizados seguindo o modelo de Michaelis-Menten, mantendo-se a taxa de consumo de substrato dentro de, no máximo, 10% da concentração final de substrato em cada concentração estudada. A concentração de substrato variou de 7,8 a 500,0 μM , e os ensaios foram conduzidos em tampão fosfato de sódio 0,02M, pH 7,0, a $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, com uma concentração de proteínas totais de 1 μg .

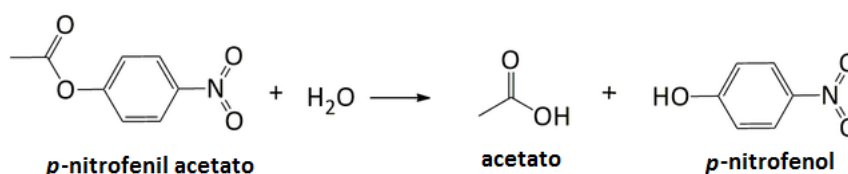


Figura 3. Reação catalisada pelas carboxil-esterases, degradando o *p*-nitrofenil acetato em acetato e *p*-nitrofenol.

Ensaio de inibição enzimática

Para os ensaios de inibição, diluições do extrato metanólico de *Serjania erecta* foram preparadas em tampão fosfato de sódio 0,02 M, pH 7,0, em concentrações finais que variaram de 0,0078 mg/mL a 2,0 mg/mL de inibidor. Neste tampão contendo o inibidor,

as enzimas foram diluídas a uma concentração final de 1 μg de proteína total. As concentrações de substrato e demais condições de aquisição de dados foram idênticas às descritas no item “Ensaio de atividade enzimática”.

5.3 Resultados e discussão

Neste trabalho, foi testada a atividade inibitória dos extratos metanólicos foliares de *S. erecta* frente a carboxil-esterases extraídas do intestino de larvas de quarto instar. A atividade enzimática foi monitorada com o substrato colorimétrico PNPA.

Ao verificar a atividade enzimática na presença de 500 μM de substrato, pode-se perceber que, nas concentrações de 7,8 e 15,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extrato, a atividade das carboxil-esterases diminuiu em 41,96 e 43,43%, respectivamente (Figura 4). A partir da concentração de 31,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extrato metanólico foliar de *S. erecta*, não é possível detectar atividade enzimática.

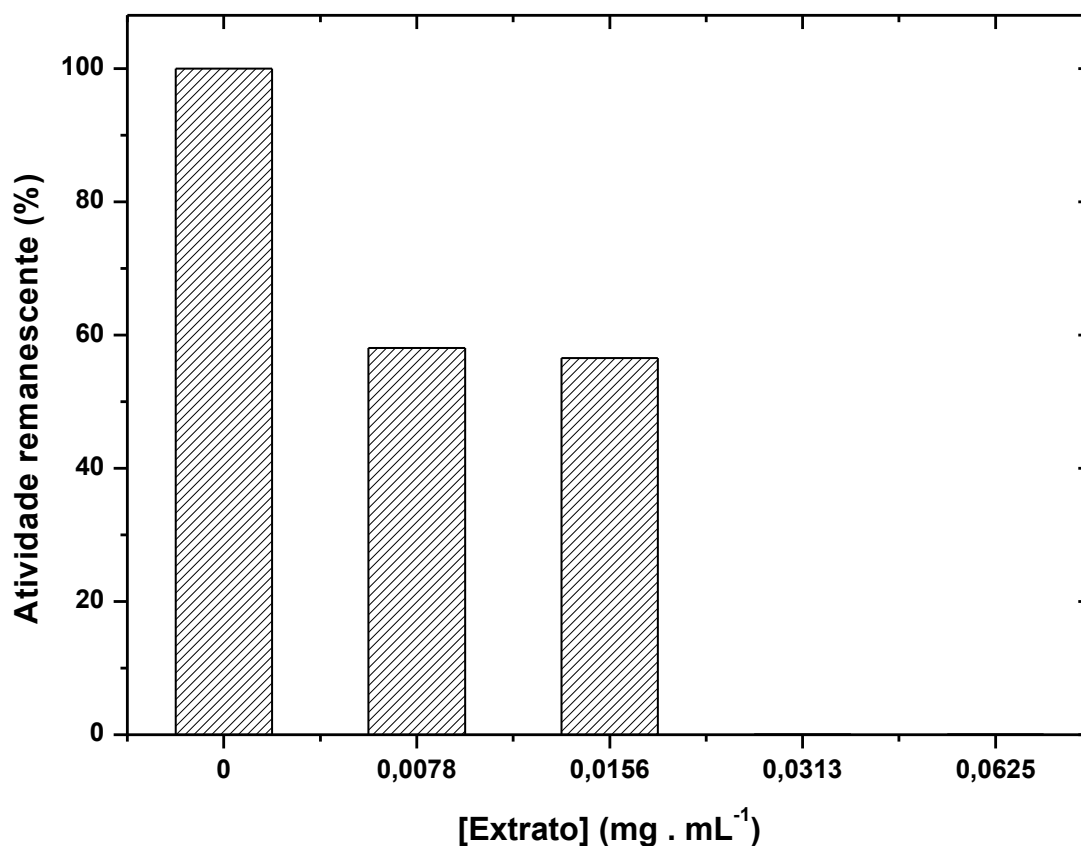


Figura 4. Atividade remanescente de carboxil-esterases extraídas de intestinos de larvas de quarto instar de *C. includens* na presença de 500 μM de substrato em diferentes concentrações do extrato metanólico foliar de *S. erecta*.

O efeito inibitório de extratos de plantas é assunto já conhecido há longa data (Schmeda-Hirschmann et al., 1992). Nestes trabalhos, metabólitos secundários como as saponinas, flavonoides, taninos e terpenos parecem agir de diferentes formas na atividade de enzimas importantes para o metabolismo de vários organismos (Singh et al., 2016; Rizvi et al., 2018; Thu et al., 2018)

No que diz respeito aos extratos de *S. erecta*, existem poucos relatos na literatura a respeito de atividade inibitória de seus extratos. Brogginini et al. (2010) mostraram o efeito inibitório de extratos brutos desta espécie utilizando a metodologia de cromatografia de camada delgada. Neste trabalho, a fração flavonoide desse extrato mostrou ser mais seletiva para inibição de acetilcolinesterase do que para butirilcolinesterase, enquanto a fração de saponina mostrou maior inibição para butirilcolinesterase do que para acetilcolinesterase (Brogginini et al., 2010). No entanto, os autores não realizaram nenhum estudo a fim de entender os possíveis mecanismos de inibição enzimática. De fato, não existem, na literatura, trabalhos que caracterizem o comportamento cinético de enzimas na presença de extratos de *S. erecta*.

No presente trabalho, a fim de caracterizar o comportamento cinético destas enzimas na ausência e na presença do extrato metanólico foliar de *S. erecta*, foram realizados experimentos de cinética enzimática em estado estacionário, seguindo o modelo de Michaelis-Menten (Figura 5).

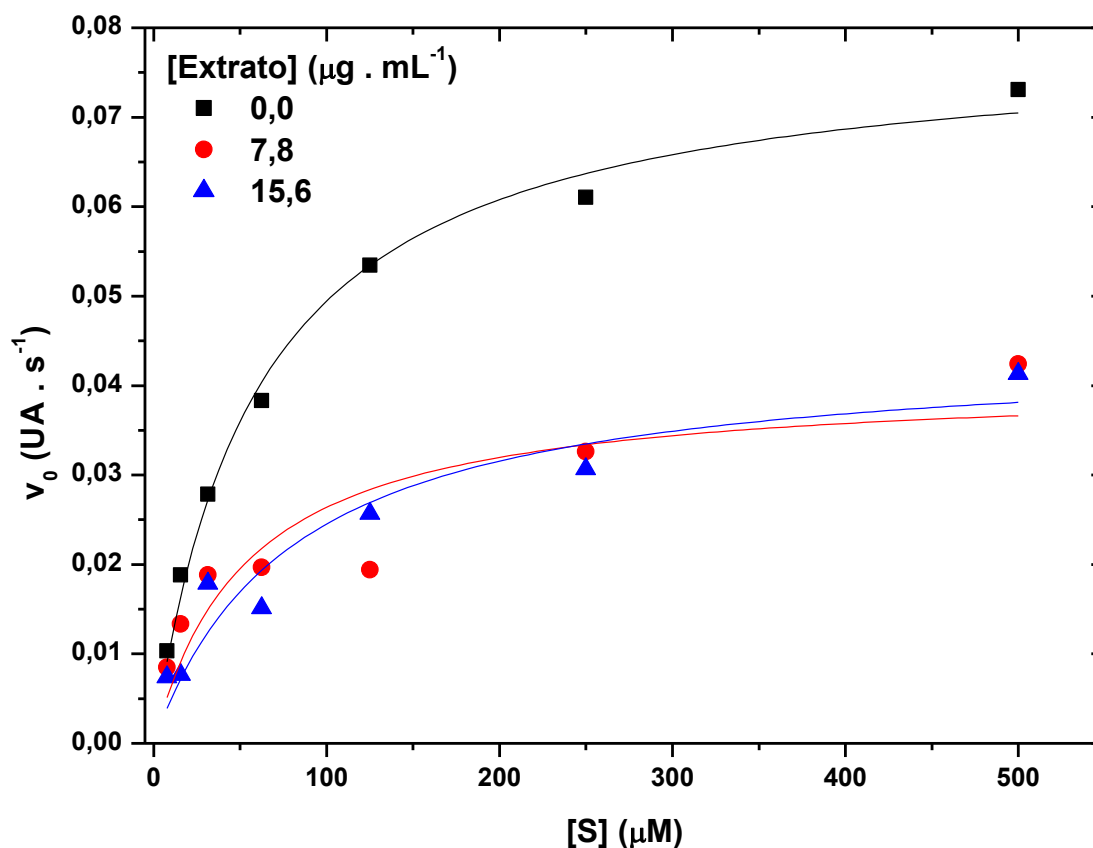


Figura 5. Perfil cinético de carboxil-esterases extraídas de intestinos de larvas de quarto instar de *C. includens* na ausência e na presença de 7,8 e 15,6 $\mu\text{g/mL}$ de extrato metanólico foliar de *S. erecta*. Tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,0, T = 22 °C.

Analisando os resultados segundo o modelo de Michaelis-Menten, pode-se obter a velocidade máxima da enzima (V_{max}), bem como sua constante de afinidade (constante de Michaelis, K_M), como mostrado na tabela 1.

Tabela 1. V_{max} (UA/s) e K_M (μM) de carboxil-esterases extraídas de intestinos de larvas de quarto instar de *C. includens* na ausência e na presença de 7,8 e 15,6 $\mu\text{g/mL}$ de extrato metanólico foliar de *S. erecta*. Tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,0, T = 22 °C.

[Extrato] ($\mu\text{g/mL}$)	R^2	V_{max} (UA/s)	K_M (μM)
0,0	0,99027	$0,07890 \pm 0,00265$	$59,59000 \pm 6,35617$
7,8	0,75802	$0,04057 \pm 0,00631$	$53,80821 \pm 27,31495$
15,6	0,89753	$0,04426 \pm 0,00549$	$80,50957 \pm 29,27428$

Na presença dos extratos, a atividade enzimática é perturbada a ponto de não permitir um bom ajuste dos dados experimentais à curva teórica, refletindo-se em altos erros, principalmente no que diz respeito à determinação de K_M , e também no R^2 . No

entanto, pode-se perceber, na presença dos extratos, uma diminuição de V_{\max} , e, pelo menos na menor concentração de extrato, uma manutenção nos valores de K_M , o que poderia indicar uma inibição do tipo mista. Isso pode ser visualizado no gráfico dos duplos recíprocos, mostrado na figura 6, que mostra um comportamento típico de inibições mistas.

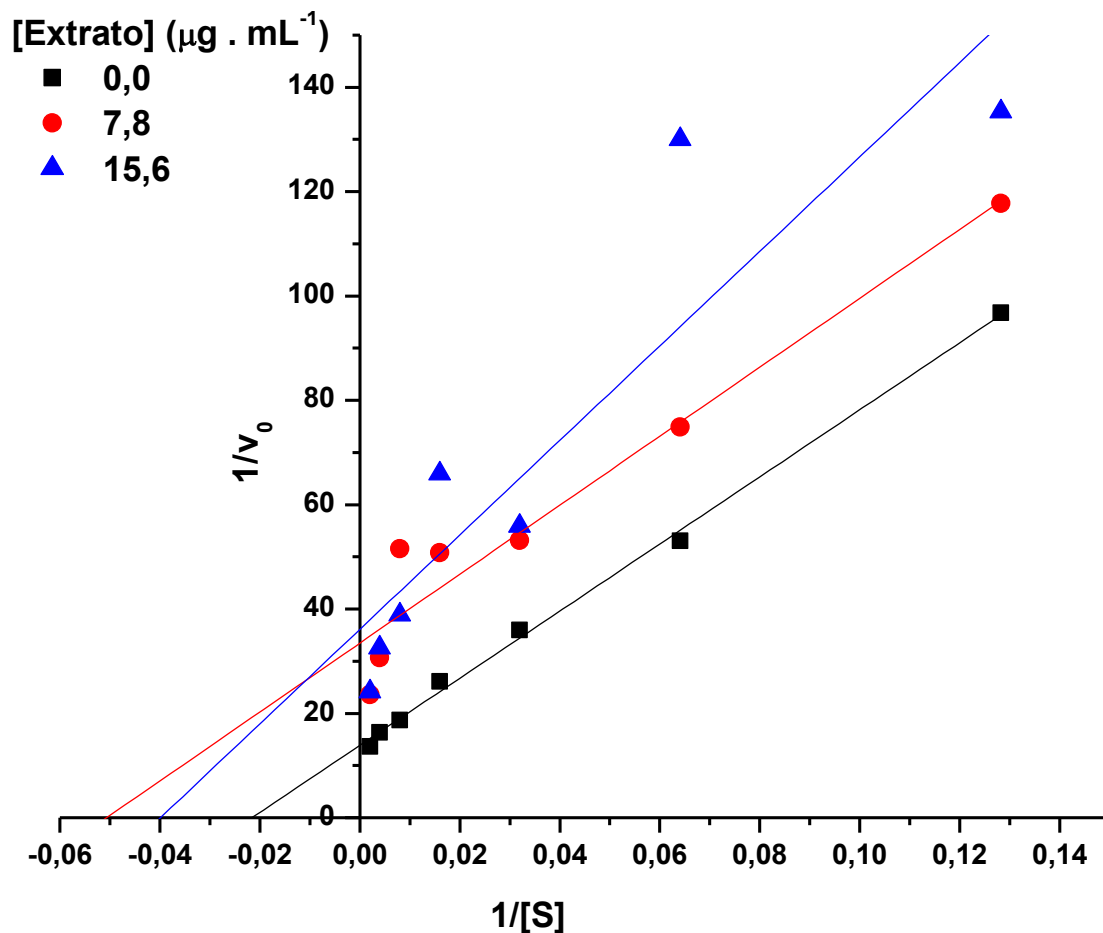


Figura 6. Gráfico dos duplos recíprocos para carboxil-esterases extraídas de intestinos de larvas de quarto instar de *C. includens* na ausência e na presença de 7,8 e 15,6 $\mu\text{g/mL}$ de extrato metanólico foliar de *S. erecta*. Tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,0, T = 22 °C.

Como mostrado na literatura (Thu et al., 2018), a inibição mista pode ser explicada pelo fato de o extrato ser uma mistura de múltiplos componentes, que podem atuar de forma sinérgica em diferentes passos da catálise enzimática, seja ligando-se à enzima livre ou ao complexo enzima-substrato. Inibidores mistos são caracterizados por este comportamento, como mostrado na figura 2.

No entanto, uma melhor caracterização do comportamento inibitório pode necessitar de processos de purificação utilizando técnicas como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os resultados aqui obtidos não nos permitem calcular uma

constante de inibição (K_I) justamente pelo fato de existir uma mistura de moléculas, que podem atuar de diferentes formas nos mecanismos catalíticos enzimáticos. Assim, podemos ter um composto do extrato que age de forma competitiva e outra molécula atuando de forma incompetitiva, resultando em uma inibição mista apenas aparente.

Embora muitos trabalhos busquem purificar os extratos brutos, a fim de identificar os compostos que apresentam maior atividade inibitória (Singh et al., 2016; Rizvi et al., 2018), existem relatos na literatura mostrando que os extratos brutos podem apresentar compostos que atuam de forma sinérgica, mostrando maior atividade inibitória (Qin et al., 2010) ou ainda que apresentem resultados idênticos, dependendo da enzima analisada (Rizvi et al., 2018).

Assim, as análises conduzidas neste trabalho mostram a potencial utilização do extrato bruto de *S. erecta* como inibidor de enzimas de *C. includens*. Este potencial deve ser melhor explorado em trabalhos posteriores, a fim de caracterizar as moléculas presentes neste extrato bruto tanto com relação à sua composição química como também com relação à sua atividade como inibidor enzimático.

5.4 Considerações finais

O extrato foliar metanólico de *S. erecta* mostrou potencial inibitório de carboxil-esterases, como ficou demonstrado por experimentos de cinética enzimática em estado estacionário. O modelo da inibição pôde ser estudado utilizando o método dos duplos recíprocos, sendo caracterizado como uma inibição mista, o que está dentro do esperado, uma vez que os extratos brutos são compostos por diferentes moléculas, que podem atuar no mecanismo enzimático de diferentes formas.

5.5 Referências Bibliográficas

BROGGINI, L. et al. Behavioral and enzymatic bioassays with *Serjania erecta* Radlk., Sapindaceae, correlated with cognitive dysfunctions. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 519-528, 2010.

CARDOSO, C. A. L. et al. Phenolic compounds and antioxidant, antimicrobial and antimycobacterial activities of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 4, p. 775-782, 2013.

CASIDA, J. E. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. **Environmental health perspectives**, v. 34, p. 189, 1980.

FERNANDES, R. S. et al. Neutralization of pharmacological and toxic activities of *Bothrops jararacussu* snake venom and isolated myotoxins by *Serjania erecta* methanolic extract and its fractions. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2011.

FERSHT, A. et al. **Structure and mechanism in protein science: a guide to enzyme catalysis and protein folding**. Macmillan, 1999.

FIELD, M. L.; DEVONSHIRE, L. A. Evidence that the E4 and FE4 esterase genes responsible for insecticide resistance in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer) are part of a gene family. **Biochemical Journal**, v. 330, n. 1, p. 169-173, 1998.

GHUMARE, S. S. ET AL. Effect of rutin on the neonate sensitivity, dietary utilization and mid-gut carboxylesterase activity of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). **Proceedings: Animal Sciences**, v. 98, n. 6, p. 399-404, 1989.

GIGLIOLLI, A. A. S. et al. IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS ESTERASES EM *Tribolium castaneum* COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 6, n. 1, 2011.

GOMIG, F. et al. Topical anti-inflammatory activity of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) extracts. **Journal of ethnopharmacology**, v. 118, n. 2, p. 220-224, 2008.

GUIMARÃES, C. C. et al. The glycosylated flavonoids vitexin, isovitexin, and quercetrin isolated from *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) leaves protect PC12 cells against amyloid- β 25-35 peptide-induced toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 86, p. 88-94, 2015.

HOPKINS, D. H. et al. Structure of an Insecticide Sequestering Carboxylesterase from the Disease Vector *Culex quinquefasciatus*: What Makes an Enzyme a Good Insecticide Sponge?. **Biochemistry**, v. 56, n. 41, p. 5512-5525, 2017.

ISMAN, M. B.; MACHIAL, C. M. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. **Advances in phytomedicine**, v. 3, p. 29-44, 2006.

KOSHLAND JR, D. E. et al. Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits. **Biochemistry**, v. 5, n. 1, p. 365-385, 1966.

LI, X. et al. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 52, p. 231-253, 2007.

MÜLLER, Caroline. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects—Facts and knowledge gaps. **Basic and Applied Ecology**, v. 30, p. 1-10, 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2014.

QIN, W. et al. Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb.(Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro)(Coleoptera: Hispididae). **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 96, n. 3, p. 132-139, 2010.

RANSON, H. et al. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. **Science**, v. 298, n. 5591, p. 179-181, 2002.

RIZVI, S. A. H. et al. Toxicity and enzyme inhibition activities of the essential oil and dominant constituents derived from *Artemisia absinthium* L. against adult Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Industrial Crops and Products**, v. 121, p. 468-475, 2018.

RODRIGUES, A. R. S. et al. Caracterização da resistência de joaninhas predadoras ao lambda-cialotrina. 2012.

SCHMEDA- HIRSCHMANN, G. et al. Hypotensive effect and enzyme inhibition activity of Mapuche medicinal plant extracts. **Phytotherapy Research**, v. 6, n. 4, p. 184-188, 1992.

SINGH, B. et al. Insecticidal potential of an endophytic *Cladosporium velox* against *Spodoptera litura* mediated through inhibition of alpha glycosidases. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 131, p. 46-52, 2016.

SLOMP, L. et al. In vitro nematocidal effects of medicinal plants from Sao Paulo state, Brazil. **Pharmaceutical biology**, v. 47, n. 3, p. 230-235, 2009.

THU, N. et al. In Vitro Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Fractions from *Centella asiatica* (Linn.) Extract. **Current Bioactive Compounds**, v. 14, n. 1, p. 86-91, 2018.

CONCLUSÃO GERAL

Foi encontrado um avanço considerável em estudos envolvendo inseticidas botânicos no Brasil, sendo observado aumento desses trabalhos com base em uma avaliação temporal. Esses trabalhos estiveram direcionados para dois eixos basicamente, controle de pragas agrícolas e urbanas. Os bioensaios realizados a partir da exposição de lagartas *Chrysodeixis includens* ao extrato foliar metanólico de *Serjania erecta* mostraram que esse material tem potencial para controlar *C. includens*, logo que foi capaz de inibir o crescimento e desenvolvimento de lagartas. Além disso, o extrato foliar metanólico de *S. erecta* mostrou potencial inibitório de carboxil-esterases extraídas dos intestinos de lagartas *C. includens* de quarto instar, uma enzima importante na detoxificação de xenobióticos.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela I: Famílias e espécies avaliadas como inseticidas botânicos no Brasil, origem e categoria de ameaça.

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
Adoxaceae	<i>Sambucus nigra</i>	<i>Sambucus nigra</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	1
	<i>Anacardium humile</i>	<i>Anacardium humile</i> A.St.-Hil	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Anacardium occidentale</i>	<i>Anacardium occidentale</i> L.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Mangifera indica</i>	<i>Mangifera indica</i> L.	Cultivada	Não avaliada	1
Anacardiaceae	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Nativa	Pouco preocupante	2
	<i>Schinopsis brasiliensis</i>	<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Nativa	Pouco preocupante	2
	<i>Schinus molle</i>	<i>Schinus molle</i> L.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Schinus terebinthifolia</i>	<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	Nativa	Não avaliada	3
	<i>Tapirira guianensis</i>	<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Annona coriacea</i>	<i>Annona coriacea</i> Mart.	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Annona crassiflora</i>	<i>Annona crassiflora</i> Mart.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Annona montana</i>	<i>Annona montana</i> Macfad.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Annona mucosa</i>	<i>Annona mucosa</i> Jacq.	Nativa	Não avaliada	3
	<i>Annona muricata</i>	<i>Annona muricata</i> L.	Cultivada	Não avaliada	2
Annonaceae	<i>Annona reticulata</i>	<i>Annona reticulata</i> L.	Cultivada	Não avaliada	1
	<i>Annona sylvatica</i>	<i>Annona sylvatica</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	3
	<i>Annona cornifolia</i>	<i>Annona cornifolia</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Cardiopetalum calophyllum</i>	<i>Cardiopetalum calophyllum</i> Schltld.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Duguetia furfuracea</i>	<i>Duguetia furfuracea</i> (A.St.-Hil.) Saff.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Xylopia aromatica</i>	<i>Xylopia aromatica</i> (Lam.) Mart.	Nativa	Pouco preocupante	2
	<i>Xylopia emarginata</i>	<i>Xylopia emarginata</i> Mart.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Aspidosperma macrocarpon</i>	<i>Aspidosperma macrocarpon</i> Mart. & Zucc.	Nativa	Pouco preocupante	2
	<i>Aspidosperma spruceanum</i>	<i>Aspidosperma spruceanum</i> Benth. ex Müll.Arg.	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Condylocarpon isthmicum</i>	<i>Condylocarpon isthmicum</i> (Vell.) A.DC.	Naturalizada	Não avaliada	1
Apocynaceae	<i>Hancornia pubescens</i>	<i>Hancornia speciosa</i> var. <i>pubescens</i> (Nees & Mart.) Müll.Arg.	Nativa	Não avaliada	1

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
	<i>Himatanthus obovatus</i>	<i>Himatanthus obovatus</i> (Müll. Arg.) Woodson	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Peschiera affinis</i>	<i>Tabernaemontana catharinensis</i> A.DC.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Tabernaemontana bracteolaris</i>	<i>Tabernaemontana hystrix</i> Steud.	Nativa	Não avaliada	1
Araceae	<i>Montrichardia linifera</i>	<i>Montrichardia linifera</i> (Arruda) Schott	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Dendropanax cuneatum</i>	<i>Dendropanax cuneatus</i> (DC.) Decne. & Planch.	Nativa	Pouco preocupante	1
Araliaceae	<i>Schefflera vinosa</i>	<i>Schefflera vinosa</i> (Cham. & Schltdl.) Frodin & Fiaschi	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Achillea millefolium</i>	<i>Achillea millefolium</i> Linn.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Ageratum conyzoides</i>	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Ageratum fastigiatum</i>	<i>Ageratum fastigiatum</i> (Gardner) R.M.King & H.Rob.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Artemisia vulgaris</i>	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Baccharis reticularia</i>	<i>Baccharis reticularia</i> DC.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Bidens sulphurea</i>	<i>Cosmos sulphureus</i> Cav.	Naturalizada	Não avaliada	1
	<i>Eremanthus glomerulatus</i>	<i>Eremanthus glomerulatus</i> Less.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Lepidaploa aurea</i>	<i>Lepidaploa aurea</i> (Mart. ex DC.) H.Rob.	Nativa	Pouco preocupante	3
Asteraceae	<i>Piptocarpha macropoda</i>	<i>Piptocarpha macropoda</i> (DC.) Baker	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piptocarpha rotundifolia</i>	<i>Piptocarpha rotundifolia</i> (Less.) Baker	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Porophyllum ruderale</i>	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Pseudobrickellia brasiliensis</i>	<i>Pseudobrickellia brasiliensis</i> (Spreng.) R.M.King & H.Rob.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Serratula flavescens</i>	<i>Serratula flavescens</i> (L.) Poiret in Lam.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Solidago chilensis</i>	<i>Solidago chilensis</i> Meyen	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Tagetes minuta</i>	<i>Tagetes minuta</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	2
	<i>Tithonia diversifolia</i>	<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A.Gray	Naturalizada	Não avaliada	2
	<i>Vernonia brasiliana</i>	<i>Vernonanthura brasiliana</i> (L.) H.Rob.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Vernonia ferruginea</i>	<i>Vernonanthura ferruginea</i> (Less.) H.Rob.	Nativa	Não avaliada	1
Bignoniaceae	<i>Adenocalymma nodosum</i>	<i>Adenocalymma nodosum</i> (Silva Manso) L.G.Lohmann	Nativa	Não avaliada	5

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
	<i>Anemopaegma arvense</i>	<i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stellfeld ex de Souza	Nativa	Em perigo	1
	<i>Cybistax antisyphilitica</i>	<i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Jacaranda caroba</i>	<i>Jacaranda caroba</i> (Vell.) DC.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Memora nodosa</i>	<i>Adenocalymma nodosum</i> (Silva Manso) L.G.Lohmann	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Tabebuia aurea</i>	<i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S.Moore	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Tabebuia avellanedae</i>	<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Nativa	Quase ameaçada	2
	<i>Tabebuia caraiba</i>	<i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S.Moore	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Tabebuia heptaphylla</i>	<i>Handroanthus heptaphyllus</i> (Vell.) Mattos	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Tabebuia impetiginosa</i>	<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Nativa	Quase ameaçada	1
Brassicaceae	<i>Brassica</i> sp.	<i>Brassica</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
Bromeliaceae	<i>Ananas ananassoides</i>	<i>Ananas ananassoides</i> (Baker) L.B.Sm.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Protium heptaphyllum</i>	<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) Marchand	Nativa	Deficiente de dados	2
Burseraceae	<i>Protium ovatum</i>	<i>Protium ovatum</i> Engl.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Protium spruceanum</i>	<i>Protium spruceanum</i> (Benth.) Engl.	Nativa	Não avaliada	1
Caryocaraceae	<i>Caryocar brasiliensis</i>	<i>Caryocar brasiliense</i> Cambess.	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Caryocar coriaceum</i>	<i>Caryocar coriaceum</i> Wittm.	Nativa	Pouco preocupante	1
Celastraceae	<i>Maytenus rigida</i>	<i>Maytenus rigida</i> Mart.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Licania rigida</i>	<i>Licania rigida</i> Benth.	Nativa	Não avaliada	1
Chrysobalanaceae	<i>Licania tomentosa</i>	<i>Licania tomentosa</i> (Benth.) Fritsch	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Tovomita brevistaminea</i>	<i>Tovomita brevistaminea</i> Engl. (Clusiaceae, antes Guttiferae)	Nativa	Não avaliada	1
Clusiaceae	<i>Hypericum carinatum</i>	<i>Hypericum carinatum</i> Griseb	Nativa	Quase ameaçada	1
	<i>Buchenavia tomentosa</i>	<i>Buchenavia tomentosa</i> Eichler	Nativa	Não avaliada	1
Combretaceae	<i>Terminalia fagifolia</i>	<i>Terminalia fagifolia</i> Mart.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Connarus deterrentus</i>	<i>Connarus deterrentus</i> Planch	Nativa	Não avaliada	1
Connaraceae	<i>Rourea doniana</i>	<i>Rourea doniana</i> Baker	Nativa	Não avaliada	1

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
Convolvulaceae	<i>Merremia aegyptia</i>	<i>Merremia aegyptia</i> (L.) Urb	Nativa	Não avaliada	1
Costaceae	<i>Costus spiralis</i>	<i>Costus spiralis</i> (Jacq.) Roscoe	Nativa	Não avaliada	1
Dilleniaceae	<i>Davilla elliptica</i>	<i>Davilla elliptica</i> A.St.-Hil	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Doliocarpus dentatus</i>	<i>Doliocarpus dentatus</i> (Aubl.) Standl	Nativa	Não avaliada	1
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum affine</i>	<i>Erythroxylum affine</i> A.St.-Hil	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Erythroxylum campestre</i>	<i>Erythroxylum campestre</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	1
Esterculiaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Croton argyrophylloides</i>	<i>Croton argyrophylloides</i> Müll.Arg.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Croton heliotropiifolius</i>	<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Croton nepetaefolius</i>	<i>Croton nepetaefolius</i> Baill.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Croton pulegiodorus</i>	<i>Croton pulegiodorus</i> Baill.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Croton regelianus</i>	<i>Croton pulegiodorus</i> Baill	Nativa	Não avaliada	1
Euphorbiaceae	<i>Croton Rhamnifolioides</i>	<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Croton sonderianus</i>	<i>Croton sonderianus</i> Müll.Arg	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Croton tetradenius</i>	<i>Croton tetradenius</i> Baill.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Ricinus communis</i>	<i>Ricinus communis</i> L.	Cultivada	Não avaliada	2
	<i>Sebastiania hispida</i>	<i>Microstachys hispida</i> (Mart. & Zucc.) Govaerts	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Adenanthera pavonina</i>	<i>Adenanthera pavonina</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Amburana cearensis</i>	<i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C.Sm.	Nativa	Quase ameaçada	2
	<i>Anadenanthera colubrina</i>	<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Anadenanthera falcata</i>	<i>Anadenanthera peregrina</i> var. <i>falcata</i> (Benth.) Altschul	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	<i>Anadenanthera colubrina</i> var. <i>cebil</i> (Griseb.) Altschul	Nativa	Não avaliada	1
Fabaceae	<i>Andira cujabensis</i>	<i>Andira cujabensis</i> Benth.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Andira inermis</i>	<i>Andira inermis</i> (W.Wright) DC.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Bauhinia cheilantha</i>	<i>Bauhinia cheilantha</i> (Bong.) Steud.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Bauhinia rufa</i>	<i>Bauhinia rufa</i> (Bong.) Steud.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	<i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L.P.Queiroz	Nativa	Não avaliada	2

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
	<i>Copaifera langsdorffii</i>	<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Copaifera reticulata</i>	<i>Copaifera reticulata</i> Ducke	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Derris (Lonchocarpus) urucu</i>	<i>Deguelia urucu</i> (Killip & A.C.Sm.) A.M.G.Azevedo & R.A.Camargo	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Derris amazonica</i>	<i>Deguelia amazonica</i> Killip	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Dimorphandra mollis</i>	<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.	Nativa	Não avaliada	4
	<i>Dioclea megacarpa</i>	<i>Dioclea megacarpa</i> Rolfe	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Dioclea grandiflora</i>	<i>Dioclea grandiflora</i> Mart. ex Benth.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Diptychandra aurantiaca</i>	<i>Diptychandra aurantiaca</i> Tul.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Erythrina velutina</i>	<i>Erythrina velutina</i> Willd.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Hymenaea courbaril</i>	<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Indigofera hirsuta</i>	<i>Indigofera hirsuta</i> L.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Inga uruguensis</i>	<i>Inga vera</i> subsp. <i>affinis</i> (DC.) T.D.Penn.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Lonchocarpus sericeus</i>	<i>Lonchocarpus sericeus</i> (Poir.) Kunth ex DC.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Luetzelburgia auriculata</i>	<i>Luetzelburgia auriculata</i> (Allemão) Ducke	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Mimosa regnelli</i>	<i>Mimosa regnelli</i> Benth.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Parkia platycephala</i>	<i>Parkia platycephala</i> Benth.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piptadenia moniliformis</i>	<i>Pityrocarpa moniliformis</i> (Benth.) Luckow & R.W.Jobson	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piptadenia viridiflora</i>	<i>Piptadenia viridiflora</i> (Kunth) Benth.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Poincianella pyramidalis</i>	<i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L.P.Queiroz	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Pterodon emarginatus</i>	<i>Pterodon emarginatus</i> Vogel	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Senna obtusifolia</i>	<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H.S.Irwin & Barneby	Nativa	Não avaliada	3
	<i>Senna spectabilis</i>	<i>Senna spectabilis</i> (DC.) H.S.Irwin & Barneby	Nativa	Não avaliada	1
Flacourtiaceae	<i>Casearia arborea</i>	<i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	Nativa	Não avaliada	4

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
Lacistemataceae	<i>Lacistema hasslerianum</i>	<i>Lacistema hasslerianum</i> Chodat	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Glechoma hederacea</i>	<i>Glechoma hederacea</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Hesperozygis ringens</i>	<i>Hesperozygis ringens</i> (Benth.) Epling	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Hyptis fruticosa</i>	<i>Eplingiella fruticosa</i> (Salzm. ex Benth.) Harley & J.F.B. Pastore	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Hyptis pectinata</i>	<i>Mesosphaerum pectinatum</i> (L.) Kuntze	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Hyptis suaveolens</i>	<i>Mesosphaerum suaveolens</i> (L.) Kuntze	Nativa	Não avaliada	1
Lamiaceae	<i>Mentha spicata</i>	<i>Mentha spicata</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	2
	<i>Ocimum americanum</i>	<i>Ocimum americanum</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	1
	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Exótica	Não avaliada	4
	<i>Ocimum gratissimum</i>	<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	3
	<i>Ocimum tenuiflorum</i>	<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Salvia rosmarinus</i> Schleid.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Aiouea trinervis</i>	<i>Aiouea trinervis</i> Meisn.	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Cassytha filiformis</i>	<i>Cassytha filiformis</i> L.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	<i>Cinnamomum verum</i> J.Presl	Exótica	Não avaliada	3
	<i>Mezilaurus crassiramea</i>	<i>Mezilaurus crassiramea</i> (Meisn.) Taub. ex Mez	Nativa	Quase ameaçada	1
Lauraceae	<i>Nectandra grandiflora</i>	<i>Nectandra grandiflora</i> Nees	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Nectandra megapotamica</i>	<i>Nectandra megapotamica</i> (Spreng.) Mez	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Ocotea minarum</i>	<i>Ocotea minarum</i> (Nees & Mart.) Mez	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Ocotea suaveolens</i>	<i>Ocotea diospyrifolia</i> (Meisn.) Mez	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Ocotea velloziana</i>	<i>Ocotea velloziana</i> (Meisn.) Mez	Nativa	Não avaliada	1
Lecytidaceae	<i>Eschweilera ovata</i>	<i>Eschweilera ovata</i> (Cambess.) Mart. ex Miers	Nativa	Não avaliada	1
Loganiaceae	<i>Antonia ovata</i>	<i>Antonia ovata</i> Pohl	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Strychnos pseudoquina</i>	<i>Strychnos pseudoquina</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	1
Lythraceae	<i>Lafoensia densiflora</i>	<i>Lafoensia pacari</i> A.St.-Hil.	Nativa	Pouco preocupante	1
Magnoliaceae	<i>Talauma ovata</i>	<i>Magnolia ovata</i> (A.St.-Hil.) Spreng.	Nativa	Pouco preocupante	1
Malpighiaceae	<i>Heteropterys aphrodisiaca</i>	<i>Heteropterys tomentosa</i> A.Juss.	Nativa	Não avaliada	1

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
	<i>Mascagnia rigida</i>	<i>Amorimia rigida</i> (A.Juss.) W.R.Anderson	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Eriotheca gracilipes</i>	<i>Eriotheca gracilipes</i> (K.Schum.) A.Robyns	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	Nativa	Não avaliada	1
Malvaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam. (Malvaceae, antes Sterculiaceae)	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Melochia parvifolia</i>	<i>Melochia parvifolia</i> Kunth (Malvaceae, antes Sterculiaceae)	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Malva sylvestris</i>	<i>Malva sylvestris</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Acisanthera sp.</i>	<i>Acisanthera</i> P. Browne	Exótica	Não avaliada	2
Melastomataceae	<i>Miconia albicans</i>	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Miconia ligustroides</i>	<i>Miconia ligustroides</i> (DC.) Naudin	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Azadirachta indica</i>	<i>Azadirachta indica</i> A.Juss.	Exótica	Não avaliada	7
	<i>Carapa guianensis</i>	<i>Carapa guianensis</i> Aubl.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Cedrela fissilis</i>	<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	Nativa	Vulnerável	1
	<i>Guarea convergens</i>	<i>Guarea convergens</i> T.D.Penn.	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Guarea guidonia</i>	<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Guarea humaitensis</i>	<i>Guarea humaitensis</i> T.D.Penn.	Nativa	Pouco preocupante	1
Meliaceae	<i>Guarea kunthiana</i>	<i>Guarea kunthiana</i> A.Juss.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Guarea scabra</i>	<i>Guarea scabra</i> A.Juss.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Guarea silvatica</i>	<i>Guarea silvatica</i> C.DC.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Melia azedarach</i>	<i>Melia azedarach</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	4
	<i>Swietenia macrophylla</i>	<i>Swietenia macrophylla</i> King	Nativa	Vulnerável	1
	<i>Trichilia catigua</i>	<i>Trichilia catigua</i> A.Juss.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Trichilia pallida</i>	<i>Trichilia pallida</i> Sw	Nativa	Não avaliada	1
Musaceae	<i>Musa sapientum</i>	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Cultivada	Não avaliada	1
Myristicaceae	<i>Virola sebifera</i>	<i>Virola sebifera</i> Aubl.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Campomanesia adamantium</i>	<i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O.Berg	Nativa	Não avaliada	1
Myrtaceae	<i>Campomanesia pubescens</i>	<i>Campomanesia pubescens</i> (Mart. ex DC.) O.Berg	Nativa	Pouco preocupante	1

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
	<i>Corymbia intermedia</i>	<i>Corymbia intermedia</i> (F. Muell. Ex RT Baker) KD Hill e LAS Johnson	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Corymbia citriodora</i>	<i>Corymbia citriodora</i> (Hook.) KD Hill e LAS Johnson	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Corymbia maculata</i>	<i>Corymbia maculata</i> (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Corymbia ptychocarpa</i>	<i>Corymbia ptychocarpa</i> (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Eucalyptus andrewsii</i>	<i>Eucalyptus andrewsii</i> Maiden	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Eucalyptus crebra</i>	<i>Eucalyptus crebra</i> F. Muell.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Eucalyptus punctata</i>	<i>Eucalyptus punctata</i> DC.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Eucalyptus pyrocarpa</i>	<i>Eucalyptus punctata</i> DC.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Eucalyptus siderophloia</i>	<i>Eucalyptus siderophloia</i> Benth.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Eucalyptus sphaerocarpa</i>	<i>Eucalyptus sphaerocarpa</i> L.A.S. Johnson & Blaxell	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Eucalyptus urograndis</i>	<i>Eucalyptus urograndis</i>	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Eugenia aurata</i>	<i>Eugenia aurata</i> O.Berg	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Eugenia uniflora</i> L.	Nativa	Não avaliada	3
	<i>Melaleuca leucadendra</i>	<i>Melaleuca leucadendra</i> (L.) L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Pimenta pseudocaryophyllus</i>	<i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Psidium guajava</i>	<i>Psidium guajava</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	2
	<i>Psidium laruotteanum</i>	<i>Psidium laruotteanum</i> Cambess.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Eugenia aromatica</i> O. Berg	Exótica	Não avaliada	2
	<i>Syzygium jambolanum</i>	<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	Naturalizada	Não avaliada	
Nyctaginaceae	<i>Mirabilis jalapa</i>	<i>Mirabilis jalapa</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	1
Ochnaceae	<i>Ouratea nitida</i>	<i>Gomphia nitida</i> (Sw.) Vahl	Exótica	Não avaliada	1
Papaveraceae	<i>Argemone mexicana</i>	<i>Argemone mexicana</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	1
Phyllanthaceae	<i>Hyeronima alchorneoides</i>	<i>Hyeronima alchorneoides</i> Allemão	Nativa	Não avaliada	1
Phytolaccaceae	<i>Petiveria alliacea</i>	<i>Petiveria alliacea</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	1
	<i>Ottonia anisum</i>	<i>Piper anisum</i> (Spreng.) Angely	Nativa	Não avaliada	1
Piperaceae	<i>Piper aduncum</i>	<i>Piper anisum</i> (Spreng.) Angely	Nativa	Não avaliada	4

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
	<i>Piper alatabaccum</i>	<i>Piper alatabaccum</i> Trel. & Yunck.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piper callosum</i>	<i>Piper callosum</i> Ruiz & Pav.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piper divaricatum</i>	<i>Piper divaricatum</i> G.Mey.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piper gaudichaudianum</i>	<i>Piper gaudichaudianum</i> Kunth	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piper hispidinervum</i>	<i>Piper hispidinervum</i> C.DC.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Piper hostmannianum</i>	<i>Piper hostmannianum</i> (Miq.) C.DC.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piper humaytanum</i>	<i>Piper humaytanum</i> Yunck.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piper marginatum</i>	<i>Piper marginatum</i> Jacq.	Nativa	Não avaliada	3
	<i>Piper permucronatum</i>	<i>Piper permucronatum</i> Yunck.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Piper tuberculatum</i>	<i>Piper tuberculatum</i> Jacq.	Nativa	Não avaliada	2
Platanaceae	<i>Platanus orientalis</i>	<i>Platanus orientalis</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Naturalizada	Não avaliada	2
Poaceae	<i>Cymbopogon flexuosus</i>	<i>Cymbopogon flexuosus</i> (Nees ex Steud.) Will. Watson	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Cymbopogon winterianus</i>	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt ex Bor	Exótica	Não avaliada	3
	<i>Coccoloba mollis</i>	<i>Coccoloba mollis</i> Casar.	Nativa	Não avaliada	1
Polygonaceae	<i>Triplaris americana</i>	<i>Triplaris americana</i> L.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Triplaris gardneriana</i>	<i>Triplaris gardneriana</i> Wedd.	Nativa	Não avaliada	1
Proteaceae	<i>Roupala montana</i>	<i>Roupala montana</i> Aubl.	Nativa	Não avaliada	3
Rhamnaceae	<i>Ziziphus joazeiro</i>	<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Genipa americana</i>	<i>Genipa americana</i> L.	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Guettarda Grazielae</i>	<i>Guettarda grazielae</i> M.R.V.Barbosa	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Palicourea marcgravii</i>	<i>Palicourea marcgravii</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Psychotria capitata</i>	<i>Psychotria capitata</i> Ruiz & Pav.	Nativa	Pouco preocupante	1
Rubiaceae	<i>Psychotria carthagenensis</i>	<i>Psychotria carthagenensis</i> Jacq.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Psychotria goyazensis</i>	<i>Psychotria deflexa</i> DC. subsp. <i>deflexa</i>	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i> (Willd. ex Schult.) Müll.Arg.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Psychotria prunifolia</i>	<i>Psychotria prunifolia</i> (Kunth) Steyerm.	Nativa	Pouco preocupante	3
	<i>Spermacoce verticillata</i>	<i>Borreria verticillata</i> (L.) G.Mey.	Nativa	Não avaliada	1

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
	<i>Citrus aurantiifolia</i>	<i>Citrus aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Citrus aurantium</i>	<i>Citrus aurantium</i> L.	Exótica	Não avaliada	2
	<i>Citrus limon</i>	<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	Exótica	Não avaliada	2
	<i>Citrus reticulata</i>	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Naturalizada	Não avaliada	1
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i>	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Exótica	Não avaliada	3
	<i>Esenbeckia grandiflora</i>	<i>Esenbeckia grandiflora</i> Mart. subsp. <i>grandiflora</i>	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Ruta graveolens</i>	<i>Ruta graveolens</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	<i>Zanthoxylum rhoifolium</i> Lam.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Zanthoxylum sp.</i>	<i>Zanthoxylum</i> L.	Exótica	Não avaliada	1
	<i>Cupania vernalis</i>	<i>Cupania vernalis</i> Cambess.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Magonia pubescens</i>	<i>Magonia pubescens</i> A.St.-Hil.	Nativa	Pouco preocupante	1
Sapindaceae	<i>Matayba guianensis</i>	<i>Matayba guianensis</i> Aubl.	Nativa	Não avaliada	2
	<i>Sapindus saponaria</i>	<i>Sapindus saponaria</i> L.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Serjania lethalis</i>	<i>Serjania lethalis</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Chrysophyllum marginatum</i>	<i>Chrysophyllum marginatum</i> (Hook. & Arn.) Radlk.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Chrysophyllum soboliferum</i>	<i>Pradosia brevipes</i> (Pierre) T.D.Penn.	Nativa	Pouco preocupante	1
Sapotaceae	<i>Pouteria gardneri</i>	<i>Pouteria gardneri</i> (Mart. & Miq.) Baehni	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Pouteria ramiflora</i>	<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Pouteria torta</i>	<i>Pouteria torta</i> (Mart.) Radlk.	Nativa	Pouco preocupante	1
	<i>Simarouba amara</i>	<i>Simarouba amara</i> Aubl.	Nativa	Não avaliada	2
Simaroubaceae	<i>Simarouba versicolor</i>	<i>Simarouba versicolor</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	1
Siparunaceae	<i>Siparuna guianensis</i>	<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.	Nativa	Não avaliada	2
Solanaceae	<i>Solanum lycocarpum</i>	<i>Solanum lycocarpum</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	2
Symplocaceae	<i>Symplocos pubescens</i>	<i>Symplocos pubescens</i> Klotzsch ex Benth.	Nativa	Não avaliada	1
Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum majus</i>	<i>Tropaeolum majus</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	1
Velloziaceae	<i>Vellozia gigantea</i>	<i>Vellozia gigantea</i> N.L.Menezes & Mello-Silva	Nativa	Em perigo	1
Verbenaceae	<i>Aloysia gratissima</i>	<i>Aloysia gratissima</i> (Gillies & Hook.) Tronc.	Nativa	Não avaliada	1

Continuação...

Família	Espécies	Classificação atual ¹	Origem ²	Categoria de ameaça ³	Citações
	<i>Lantana camara</i>	<i>Lantana camara</i> L.	Naturalizada	Não avaliada	1
	<i>Lantana montevidensis</i>	<i>Lantana montevidensis</i> (Spreng.) Briq.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Lippia alba</i>	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. ex P. Wilson	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Lippia gracilis</i>	<i>Lippia grata</i> Schauer	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Lippia sidoides</i>	<i>Lippia organoides</i> Kunth	Nativa	Não avaliada	5
	<i>Callisthene fasciculata</i>	<i>Callisthene fasciculata</i> Mart.	Nativa	Não avaliada	1
Vochysiaceae	<i>Qualea parviflora</i>	<i>Qualea parviflora</i> Mart.	Nativa	Não avaliada	1
	<i>Salvertia convallariaeodora</i>	<i>Salvertia convallariodora</i> A.St.-Hil.	Nativa	Não avaliada	2
Zingiberaceae	<i>Alpinia zerumbet</i>	<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm.	Cultivada	Não avaliada	1
	<i>Curcuma longa</i>	<i>Curcuma longa</i> L.	Exótica	Não avaliada	1

Nota: ¹Classificação atual de acordo com o banco de dados do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (www.floradobrasil.jbrj.gov.br), e , quando não presente nesse banco de dados, consultado o banco de dados Tropicos Missouri Botanical Garden (www.tropicos.org). ²Origem consultada no banco de dados Jardim Botânico do Rio de Janeiro (www.floradobrasil.jbrj.gov.br), tendo o Brasil como referência. ³Categoria de ameaça consultada no banco de dados Jardim Botânico do Rio de Janeiro (www.floradobrasil.jbrj.gov.br).