

**EFEITO DOS EXTRATOS OBTIDOS DE *Swartzia argentea*  
Spruce ex BENTH., *S. laevicarpa* AMSHOFF, *S. panacoco*  
(AUBLET) COWAN, *S. polyphylla* DC. E DE *S. sericea*  
VOGEL DA AMAZÔNIA CENTRAL SOBRE FUNGOS  
DEGRADADORES DE MADEIRA**

**MARIA APARECIDA DE JESUS**

**Orientadora: Dra. VERA LUCIA RAMOS BONONI**

**Co-orientadora: Dra. ANA CLAÚDIA FERNANDES AMARAL**

Tese apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade Estadual  
Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus  
de Rio Claro, para a obtenção do título de  
Doutor em Ciências Biológicas (Área de  
Concentração: Microbiologia Aplicada)

**Rio Claro  
Estado de São Paulo-Brasil**

**Março de 2003**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Jesus, Maria Aparecida de

Efeito dos Extratos Obtidos de *Swartzia argentea* Spruce ex Benth., *S. Laevicarpa* Amshoff, *S. Panacoco* (Aublet) Cowan, *S. Polyphylla* DC. E de *S. Sericea* Vogel da Amazônia Central Sobre Fungos Degradadores de Madeira.

Rio Claro, 2003. 97p. : fotos, gráficos e tabelas

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro – Área Microbiologia Aplicada

Orientadora: Bononi, Vera Lucia Ramos

1. *Swartzia*
2. Atividade antifúngica
3. Fungos Apodrecedores de Madeira

## AGRADECIMENTOS

Aos integrantes do Projeto Leguminosae/INPA/FUAM/FIOCRUZ, incluindo, tanto os pesquisadores como o pessoal de apoio que colaboraram na coleta e no processamento do material de *Swartzia*. Particularmente aos coordenadores do Projeto, Ana Paula Barbosa e Luiz Augusto Gomes de Souza, que sem os seus esforços, incentivos e dedicação, não seria possível a realização desta pesquisa;

À direção do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia pela oportunidade do afastamento, estendendo-se aos colegas e amigos do Centro de Pesquisas de Produtos Florestais /CPPF, pela amizade e pela colaboração nos momentos em que foram solicitados;

A todos do setor de Capacitação e intercâmbio do INPA, especialmente a Valcicléia Sarquis pelo apoio dado durante o afastamento das atividades do INPA;

A todos funcionários e pesquisadores do Lab. de Química de Produtos Naturais de Farmanguinhos/FIOCRUZ, pela colaboração nas diferentes fases experimentais e pelo convívio saudável e incentivador; em especial, a pesquisadora Dra. Ana Cláudia Fernandes Amaral, pela orientação e profissionalismo, sobretudo pelas contribuições fundamentais para minha caminhada pela química de produtos naturais, estendendo-se à Dra. Maria Dutra Behrens, pelo incentivo que deu no início desta trajetória. Ao André Freitas e a Maria Anatonietta Farrara pelo espaço no Laboratório de Biotecnologia para a realização dos bioensaios e pela convivência agradável;

A todos do Laboratório de Coleção de Fungos da FIOCRUZ, especialmente a micóloga Maria Inês M. Sarquis disposta em auxiliar, por toda a colaboração;

Aos professores, funcionários e amigos do Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP/RC, pelo incentivo e amizade;

Aos professores, funcionários e amigos do Centro de Estudos de Insetos Sociais/CEIS/UNESP/RC, pelo incentivo e amizade, em especial a secretária Necis Miranda, pela atenção. Ao Prof. Dr. Fernando C. Pagnocca pelo espaço no Laboratório de Microbiologia para a realização do bioensaio, pelas sugestões e correções aos relatórios, principalmente pelo exemplo profissional;

Ao professor Dr. Jairo Kenupp Bastos do Lab. de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da USP/RP, pela colaboração e contribuições;

Ao Carlos I. Aguilar Vildoso do Centro de Citricultura/IAC pela ajuda na elaboração das planilhas do banco de dados e sugestões nos bioensaios;

Ao professor Dr. Antônio C. Pião do departamento de Geociências e Ciências Exatas/UNESP/RC, pelo auxílio nas análises estatísticas dos dados e pelas sugestões;

A orientadora Dra. Vera L. Ramos Bononi, sugestões e correções que muito contribuíram para o aprimoramento do texto;

Às bibliotecárias, Sueli de B. Clemente, Moema de B. Medina e Silva A. X. de Camargo, pelo auxílio na revisão bibliográficas e acesso as referências;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa;

Às amigas, em especial a Kleiber, Nádia, Indu, Adelaide, Marle e Ana pelos momentos de alegria, convívio e discussões que contribuíram para o nosso crescimento e fortalecimento da amizade;

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa;

**Meu muito obrigada**

## ÍNDICE

	Página
RESUMO	V
ABSTRACT	VI
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. CAPITULO 1. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE <i>Swartzia</i> SPP A BASIDIOMICETOS DEGRADADORES DE MADEIRA	12
2.1. Introdução.....	13
2.2. Material e métodos.....	16
2.3. Resultados e discussão.....	22
2.4. Conclusões	47
2.5. Referências.....	50
Apêndice.....	55
3. CAPITULO 2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE FRAÇÕES OBTIDAS DE <i>Swartzia argentea</i> Spruce ex BENTH., <i>S. laevicarpa</i> AMSHOFF, <i>S. panacoco</i> (AUBLET) COWAN, <i>S. polyphylla</i> DC. E DE <i>S. sericea</i> À FUNGOS DEGRADADORES DE MADEIRA SOBRE CCD (BIOAUTOGRAFIA)	59
3.1. Introdução .....	60
3.2. Material e métodos.....	63
3.3. Resultados e discussão.....	69
3.4. Conclusões	86
3.5. Referências.....	88
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	92
5. Referências da introdução.....	95

## RESUMO

Extratos etanólicos do ritidoma, da casca do caule e do fruto e da semente de *Swartzia argentea*, *S. laevicarpa*, *S. panacoco*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* foram testados para os fungos degradadores de madeira. O volume de 10 mL de cada extrato nas concentrações de 0, 1; 0,01 e 0,001 mg/ $\mu$ L foi adicionado a 90 mL de meio de cultura agar-malte e inoculado com *Pycnoporus sanguineus* (L.:Fr.) Murr., *Trametes villosa* (Fr.) Ryv. e *Lenzites trabea* Pers.:Fr. A área (cm<sup>2</sup>) da colônia do fungo e o índice antifúngico (IAF) dos extratos foram calculados. A diferença significativa entre as médias do crescimento dos fungos (cm<sup>2</sup>) foi observada nos extratos do ritidoma, da casca do fruto e da semente, independente da espécie de *Swartzia*, mas para os extratos da casca do caule não houve diferença significativa para *S. laevicarpa* e para *S. sericea*. Houve variação significativa entre as médias da área micelial (cm<sup>2</sup>) dos fungos para cada concentração do extrato. Os extratos dos ritidomas de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* apresentaram o índice antifúngico de 100% para as três espécies de fungos. Estes extratos foram submetidos à partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente, obtendo-se as frações: hexânica, diclorometano, acetato de etila e aquosa, visando a atividade antifúngica das frações em ensaio de bioautografia. As frações: diclorometano, acetato de etila e aquosa, foram aplicadas em concentrações diferentes para cada espécie de *Swartzia* em cromatofolha de gel de sílica GF<sub>254</sub>, sendo que a fração aquosa foi eluída com a fase móvel butanol:etanol:agua (4,0;1,1;1,9), a fração acetato de etila com o sistema de solvente diclorometano:acetato de etila:metanol (5:3:2), acrescido de 0,01 mL de ácido acético, e a fração diclorometano com os sistema de solventes diclorometano:acetato de etila (7:3). Os cromatogramas foram inoculados com *P. sanguineus*, *T. villosa* e *L. trabea* em meio de cultura agar-malte e como controle usou-se cromatofolhas sem as frações e eluídas com as fases móveis. A potencialidade antifúngica foi constatada nas frações do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* aos fungos degradadores de madeira. A atividade antifúngica observada pode estar associada à presença de taninos condensados nas frações acetato de etila e de flavonóides nas frações diclorometano e aquosa.

## ABSTRACT

Ethanollic extracts from the ritidome, the barks of the stem and of the fruit, and the seed of *Swartzia argentea*, *S. laevicarpa*, *S. panacoco*, *S. polyphylla* and *S. sericea* were tested for decay fungi. *Pycnoporus sanguineus* (L.:Fr.) Murr., *Trametes villosa* (Fr.) Ryv. and *Lenzites trabea* Pers.:Fr. were inoculated in 90 mL of Malt Agar plus 10 mL of each extract, in the concentrations of 0,1, 0.01 and 0,001 mg/mL. Colony area (cm<sup>2</sup>) and antifungal index of the extracts were calculated. Significant difference among the fungal growth average (cm<sup>2</sup>) was observed in the extracts of the ritidome, the barks of the fruit and of the seed, despite the species studied. However, there was no difference in the extracts of the barks of the stem in *S. laevicarpa* and *S. sericea*. There was significant variation among the averages of the fungal mycelial area (cm<sup>2</sup>) in each extract concentration. The extract of the ritidome of *S. argentea*, *S. polyphylla*, and *S. sericea*, besides one from the barks of the stem of *S. panacoco*, resulted in 100% antifungal index for all fungal species. These extracts were submitted to liquid-liquid partition with solvents of increasing polarity resulting the following fractions: hexanic, dichloromethane, ethyl acetate and water, aiming the fraction antifungal activity in thin layer chromatography TLC. Dichloromethane, ethyl acetate and the watery fraction were applied in different concentrations on each *Swartzia* species studied, in TLC GF<sub>254</sub>. The watery fraction was eluted with butanol:ethanol:water (4,0; 1,1; 1,9), the fraction ethyl acetate with the solvent system dichloromethane:ethyl acetate: methanol (5:3:2) plus 0,01mL acetic acid, and the dichloromethane fraction with the solvent system dichloromethane: ethyl acetate (7:3). The chromatograms were inoculated with *P. sanguineus*, *T. villosa* and *L. trabea* in Malt Agar, and chromatographic strips with no fractions and eluted with the mobile phases were used as controls. The antifungal potentiality was evidenced in the fractions of the ritidome of *S. argentea*, *S. polyphylla* and *S. sericea*, and of the barks of the stem of *S. panacoco*, concerning the decay fungi. Antifungal activity may be associated with the presence of condensed tannins in the ethyl acetate fraction and the flavanoids in the dichloromethane and watery fractions.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### Família Leguminosae

A família Leguminosae numericamente em espécies, está entre as três maiores famílias de plantas, abrangendo cerca de 649 gêneros, representados por 17.030 espécies, amplamente distribuídas em três sub-famílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. As Leguminosae apresentam uma distribuição cosmopolita, com ocorrência nas regiões tropical, subtropical e temperada. Papilionoideae está mais representada em regiões temperadas e frias, mas ocorrem também nos trópicos. Enquanto que Caesalpinioideae e Mimosoideae são mais abundantes nos trópicos, sendo raras ou ausentes nas regiões frias (POLHILL; STIRTON, 1981, p.55-57). As plantas leguminosas têm hábitos variados, desde árvores de grande porte, arbustos, cipós, ervas e plantas aquáticas e semi-aquáticas, ocorrendo nos vários ecossistemas. Dentre esses, incluindo-se as várzeas e igapós da Amazônia, e os ambientes xerofíticos (SOUZA; SILVA, 2001).

Na família Leguminosae, as espécies arbóreas compõem um grupo muito diversificado, com predominância em florestas subtropicais e tropicais, sendo que a maior diversidade ocorre na América tropical, com cerca de 198 gêneros na região Amazônica, 146 ocorrem na Amazônia brasileira (SILVA et al., 1989, p.220). Destacam-se as espécies arbóreas (macucu) *Aldina heterophylla* Benth., (sucupira-prêta) *Andira parviflora* Ducke, (cedrorana) *Cedrelinga catanaeformis* Ducke, (jacarandá) *Dalbergia spruceanum* Ducke, (jutai café) *Dialium guianensis* (Aubl.) Sandw., (sucupira do igapó) *Diploptropis martiusii* Benth., (sucupira) *D. purpurea* (Rich.) Amsh., (angelim-da-mata) *Hymenolobium petraem* Ducke, (ingá turi) *Inga alba* (Sw.) Willd., (angelim rajado) *Marmaroxylon racemosum* (Ducke) Rec., (pracuúba) *Mora paraensis* (Ducke) Ducke, (arara tucupi) *Parkia decussata* Ducke, (pau roxo) *Peltogyne paniculata* Benth, (tachizeiro) *Sclerolobium hypoleucum* Benth, (saboarana) *Swartzia laevicarpa* Amshoff, (coração-de-negro) *S. panacoco* (Aublet) Cowan, (girimum) *S. ulei* Hams e (fava mutum) *Vatairea guianensis* Aublet., entre outras espécies com excelentes propriedades tecnológicas da madeira, comercializadas tanto no mercado madeireiro interno

quanto no externo (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA. INPA, 1991, p.55, 1998, p.7; SOUZA; SILVA, 2001).

Alguns produtos não madeireiros de leguminosas têm também sido explorados nas últimas décadas, como o óleo de (copaíba) *Copaifera multijuga* L., resinas de (jatobá) *Hymenaea coubaril* L., corantes de (cumaru) *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd., de gomas naturais de (bico de arara) *Parkia discolor* Benth., *P. pendula* (Willd.) Benth. ex Willd. e de (faveira-benguê) *P. nitida* Miq. e, de cola, laca e verniz de *H. coubaril*. O tanino obtido de (acácia-negra) *Acacia mearnsii* D. Wild. e (faveira camuzé) *Stryphnodendron guianensis* (Aubl.) Benth. e de outras espécies vem sendo pesquisado com o intuito de se aplicar nas formulações de adesivos para a manufatura de chapas e painéis de madeira (INPA, 1998, p.8-9) e como preservante de madeira (VITAL et al., 2001, p.245).

Os frutos e flores das Leguminosas são grandes, coloridos e vistosos e podem ser usados, principalmente no paisagismo urbano, como *Heterostemon mimosoides* Desf. cujas flores parecem com orquídeas e as flores de (ingá de sapo) *P. inaequale* (Willd.) Benth., como uma cauliflora rosada em seus ramos. A copa de *Pterocarpus santalinoídes* D C, destaca-se na vegetação com os cachos de flores alaranjados exuberantes, como também os de flores roxas a branco de *Clitoria amazonum* Benth. Os frutos de algumas espécies são extremamente coloridos como os alaranjados de *Swartzia sericea* Vog., os marrons veludosos e volumosos distribuídos na copa aberta de *S. argentea* Benth. e os amarelos de (arapari) *Macrobium acaciifolium* (Benth.) Cowan (SOUZA; SILVA, 2001).

Do ponto de vista químico, as leguminosas apresentam amplo potencial, sendo que muitas espécies são constituídas de tritepenos, os quais podem ser usados nos processos de industrialização de produtos farmacêuticos. Na etnomedicina, a casca do caule de *Crudia amazonica* Benth. é usada como vermífugo, as sementes de *Vatairea guianensis* Aublet são utilizados no tratamento de empingem e os frutos em tratamentos de vários problemas dermatológicos. A seiva de *H. coubaril* é utilizada pelos índios nas enfermidades respiratórias e urinárias (SOUZA; SILVA, 2001).

Informações científicas e tecnológicas de Leguminosae da Amazônia Central têm sido geradas por pesquisas multidisciplinares, abrangentes e com

prioridade em taxionomia das espécies. Selecionar as espécies nodulíferas que podem ser usadas na composição e sustentabilidade de sistemas agroflorestais é o objetivo de trabalhos recentes. A identificação química e a determinação das características e propriedades da madeira, das cascas do caule e do fruto e da semente de espécies pouco conhecidas que podem fornecer indicativos importantes como fonte alimentar e de constituintes bioativos com propriedades adesivas à madeira, inseticidas e, ou, fungicidas e, ou, anti-inflamatórias e analgésicas, dentre outros insumos farmacêuticos, vêm sendo realizados (INPA, 1998 p.6).

A integração das informações pode conduzir de uma forma mais efetiva, no manejo sustentável, uma vez que contribui para a seleção bem fundamentada e científica da potencialidade biotecnológica das espécies de Leguminosae. A procura de novos constituintes para as formulações química e estrutural de resinas para adesivos e de substâncias bioativas na preservação de madeira, e, ou na produção de novos fármacos, certamente promoverá o uso mais adequado de espécies de Leguminosae

### **Gênero *Swartzia* Schreber**

*Swartzia* Schreber é um dos gêneros de Leguminosae mais difíceis para estudar, pois apresenta características morfológicas, paleomorfológicas, anatômicas e genéticas diferentes entre as espécies neotropicais e tropicais. Com isso, encontra-se espécies da tribo *Swartzieae* classificadas em Fabaceae (KIRKBRIDE e WIERSEMA,1997, p.1) e na subfamília Papilionoideae em (FORERO e MORI,1995, p.387) e na tribo das Sophoreae (GASSON,1996, p.45). A classificação das espécies de *Swartzia* em diferentes posições taxionômicas podem estar associadas ao seu habitat, número de cromossomos e aos polinizadores. Tais informações podem ser consideradas como um recurso adicional e não como parâmetros taxionômicos segundo Kirkbride e Wiersema (1997, p.18).

*Swartzia* é um gênero tropical, representado por cerca de 155 espécies, a maioria das quais se encontra na América Central e do Sul. Somente *S. fistuloides*

Harms e *S. madagascariensis* Desv. ocorrem na África tropical, a última foi taxionomicamente colocada em *Bobgunnia* (KIRKBRIDE; WIERSEMA, 1997, p.1). As espécies de *Swartzia* usualmente são árvores, arbustos ou lianas. *S. polyphylla* DC. e *S. gigantea* R.S. Cowan são árvores que atingem 35,0-40,0 m de altura, *S. invenusta* Barn. pequenos arbustos e *S. palustris* Barn. apresentam caule fino com galhos sarmentosos. As espécies do gênero ocorrem em florestas de terra baixa, especialmente ao longo de rios e em floresta úmidas, mas nos Andes aparecem a 2100 m do nível do mar, como *S. amplifolia* Harms var. *colombiana* Cowan (SOUZA; GREYER, 2002, p.115).

A posição e a descrição taxionômica de espécies de *Swartzia* que ocorrem no Brasil constam em Cowan (1967), algumas espécies do sudeste do Brasil são citadas por Mansano; Tozzi (1999) e as espécies amazônicas por Loureiro; Rodrigues (1975); Silva et al. (1989) e Souza; Silva (2001). As espécies de *Swartzia* da flora da Guiana Venezuelana são descritas por Barneby (1991) e as da flora Colombiana por Duivenvoorden (1995).

A madeira de muitas espécies de *Swartzia* é de excelente qualidade, de rara beleza e alta durabilidade natural (LOUREIRO; RODRIQUES, 1975, p. 79; INPA, 1991, p.55,75; JESUS et al.,1998, p.86). Tais características favorecem a aplicação da madeira na confecção de instrumentos musicais, móveis, pequenos objetos, postes e na produção de carvão. Dentre as madeiras amazônicas, destaca-se (coração-de-negro) *S. panacoco* (Aublet) Cowan, devido ao seu alto valor estético e é comercialmente importante, tanto no mercado interno como no externo (GALVÃO, 2002). A madeira de *S. laevicarpa* Amshoff é largamente explorada economicamente nas proximidades de Manaus, principalmente na construção de embarcações (MOREIRA et al.,1995, p.150). *S. corrugata* Benth. e *S. ingifolia* Ducke são madeiras de rara beleza, com o cerne negro, o que eleva o seu valor comercial (LOUREIRO; RODRIQUES, 1975, p.79).

O gênero, também possui espécies com aplicabilidade farmacológica e na etnomedicina, tendo em vista que das folhas, das sementes e dos frutos, foram isolados vários constituintes bioativos, os quais vêm sendo usados no controle de várias doenças tropicais (SARDAS; CHABRAS; MINJAS, 1986, p.211; MARSTON; MAILLARD; HOSTETTMANN; 1993, p.215; DUBOIS; SNEDEN, 1995, p. 629;

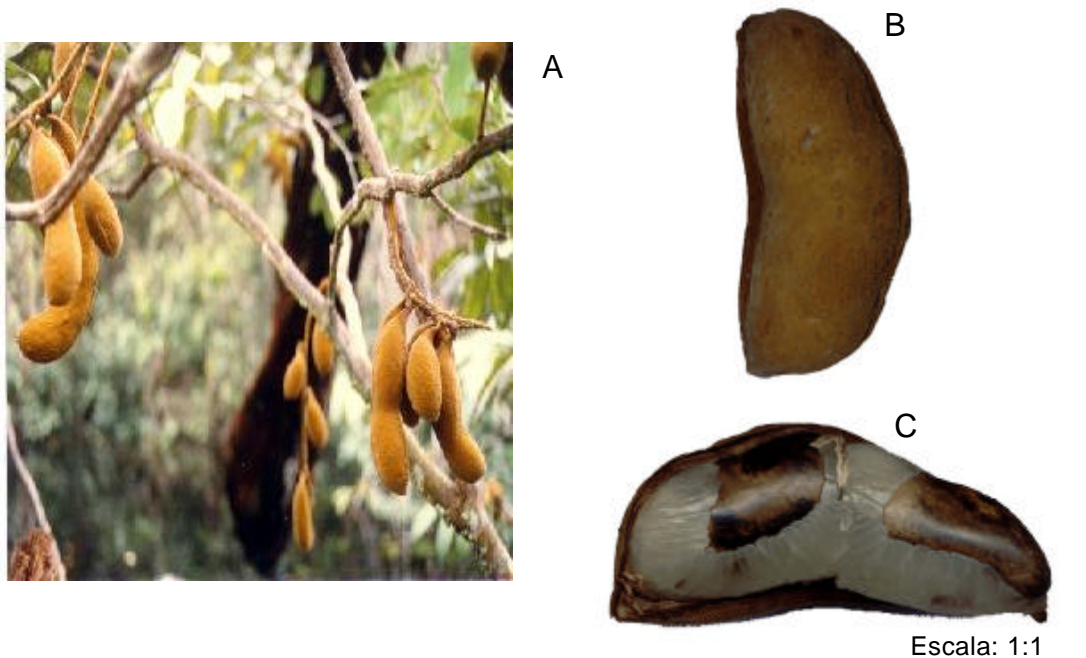
HOSTETTMANN; WOLFENDER, 1997, p.472-3), tratamento cardiovascular, (JIMÉNEZ, et al., 2001, p.79), como analgésico (SANCHÉZ, et al., 1999, p.419), dentre outros tratamentos terapêuticos.

A linha de pesquisa de durabilidade natural da madeira direcionada à aplicabilidade de substâncias naturais ativas no controle da biodegradação de madeira está sendo retomada em vários países com o intuito de se obter compostos bioativos como alternativa aos preservantes químicos de madeira, os quais são tóxicos ao homem e ao meio ambiente se não forem manipulados e utilizados racionalmente (JESUS et al., 2000, p.224). Novos constituintes obtidos de extratos de plantas medicinais ou de madeiras altamente duráveis, como também os isolados, recentemente de fungos, estão sendo explorados, procurando alternativas com baixa toxicidade ao homem, animais e ao meio ambiente, baixo custo, conservação do ecossistema e alta longevidade da madeira. Estas perspectivas biotecnológicas têm sido extensivamente exploradas na Austrália (RUDMAN, 1964, 1965; RUDMAN; GAY, 1964; HILLS; YAZAKI, 1977; YAZAKI, 1983), no México (GOMES-GARIBAY et al., 1990; REYES-CHILPA et al., 1987, 1997,1998; SOLANO et al., 2000, p.953) e no Brasil (JESUS et al., 1993, 2000; TEIXEIRA; JESUS, 1997; NASCIMENTO, 1999, 2001; COUTO et al., 2000; VITAL et al., 2001). É importante ressaltar os conhecimentos alcançados para o extrato em éter sulfúrico, obtido do fruto de *Tratinnickia galziovii* Swartz (Burseraceae) que apresenta bioatividade fungicida à fungos degradadores de madeira (JESUS et al.1994, p.4).

As informações gerais sobre as características morfológicas, ecológicas, farmacológicas e de durabilidade natural da madeira relatadas na literatura para as espécies de *Swartzia* selecionadas para o presente estudo, encontram-se sucintamente descritas. Os dados farmacológicos, principalmente os de durabilidade natural de madeira em condições de campo de espécies de *Swartzia*, particularmente de *S. panacoco* (INPA, 1998, p. 131; JESUS et al., 1998, p. 86), foram considerados na seleção do gênero *Swartzia* visando os constituintes bioativos com potencial antifúngico, com intuito de avaliar a atividade antifúngica de extratos de *Swartzia argentea* Benth, *S. laevicarpa*, *S. panacoco*, *S. polyphylla* DC. e de *S. sericea* Vog. a fungos degradadores de madeira, tendo os objetivos:

**Objetivos:**

- Avaliar a atividade antifúngica dos extratos etanólicos do ritidoma, casca do caule, da casca do fruto e da semente de cinco espécies *Swartzia* spp frente aos fungos degradadores de madeira, *Pycnoporus sanguineus* (L.: Fr.) Murr., *Trametes villosa* (Fr.) Ryv. e *Lenzites trabea* Pers.:Fr.;
- Verificar a existência de sinergismo ou antagonismo entre os extratos etanólicos obtidos de *Swartzia* spp e os fungos degradadores de madeira;
- Avaliar a atividade antifúngica das frações obtidas a partir dos extratos etanólicos de *Swartzia* spp que apresentaram melhor performance antifúngica, frente aos fungos degradadores de madeira.



**Figura 1.** A: Árvore de *S. argentea* com frutos; B: fruto inteiro; C: fruto com duas sementes com arilo de cor creme translúcido

***Swartzia argentea*** Spruce ex Benth. Martius, Fl. Bras. 15 (2): 1.1870.

**Sinonímia** *Touatea argentea* (Benth.) Taub., *Tunatea argentea* (Benth.) Kuntze

**Características morfológicas** – Árvores de porte entre 3,0-15,0 m com galhos veludosos, folhas glabras na parte superior, pilosas na parte inferior de cor dourada ou prata-sericea, flores com pétalas velutíneas amarelas, frutos marrons veludosos, com 3,5 cm de comprimento e 2,0 cm de largura (Figura 1 B), sementes com arilo creme sobre as sementes (Figura 1 C) (Cowan, 1967, p.68-69).

**Distribuição** – Ocorre no Rio Negro ao norte da cidade de Manaus até sudeste da Colômbia e sudeste da Venezuela em florestas inundadas ao longo dos rios e dos igarapés (Cowan, 1967, p.69).



**Figura 2.** A: fruto inteiro de *S. laevicarpa*; B: semente com arilo branco e bastante grande, cobrindo a semente; C: pericarpo;casca do fruto

***Swartzia laevicarpa*** Amshoff, Meded. Bot. Mus. Utrecht 52:37.1939

**Nome popular** – Saboarana, Saboarana branca

**Características morfológicas** - Árvore de porte mediano a grande, 6,0-30 m de altura, tronco com 1,5-2,0 m de diâmetro, casca fina e persistente, resina vermelha abundante na entrecasca, folhas com lâminas arredondadas a obtusas e subobtusas, parte inferior glabra, ou tenuemente estrigulosa, parte superior glabra, flores nitidamente ascendentes, brácteas decíduas e persistentes, frutos lenhosos, glabros, indeiscentes, brilhantes, ovais a ovalados, tenuemente estrigulosos externamente, lateralmente achatados com 5,5-8,0 cm de comprimento, 3,5-5,0 cm de largura (Figura 2 A-C), COWAN, 1967, p.137-138; LOUREIRO; RODRIQUES,1975, p. 84),..

**Distribuição** – Amplamente distribuída no Estado do Amazonas, Brasil, menos freqüente no Suriname e na Guiana, Venezuela e Colômbia. Ocorre amplamente em terra baixa, nas matas de igapó, de rios e de igarapés de água preta, usualmente em solos arenosos e menos freqüente em solo argiloso, não inundado ou raramente inundado (LOUREIRO; RODRIQUES,1975, p. 84).

**Informações tecnológicas e farmacológicas** – A madeira é muito bonita, com cerne escuro a castanho avermelhado-pardacento com veias, é fácil de trabalhar, podendo-se obter bom acabamento, com polimento é muito atrativo. É altamente explorada para a fabricação de embarcação, marcenaria de luxo e em construções LOUREIRO; RODRIQUES,1975, p. 85). Apresenta simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (MOREIRA et al.,1995, p.155). Pterocarpanos isolados do cerne de cerne de *S. laevicarpa* apresentam atividade antimicrobiana (BRAZ FILHO et al., 1980; NAGY et al., 1984).

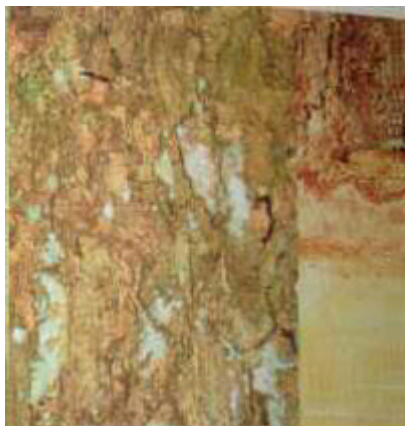


Foto Acervo do INPA

**Figura 3.** Casca do caule *S. panacoco* com ritidoma

***Swartzia panacoco*** (Aublet) Cowan,

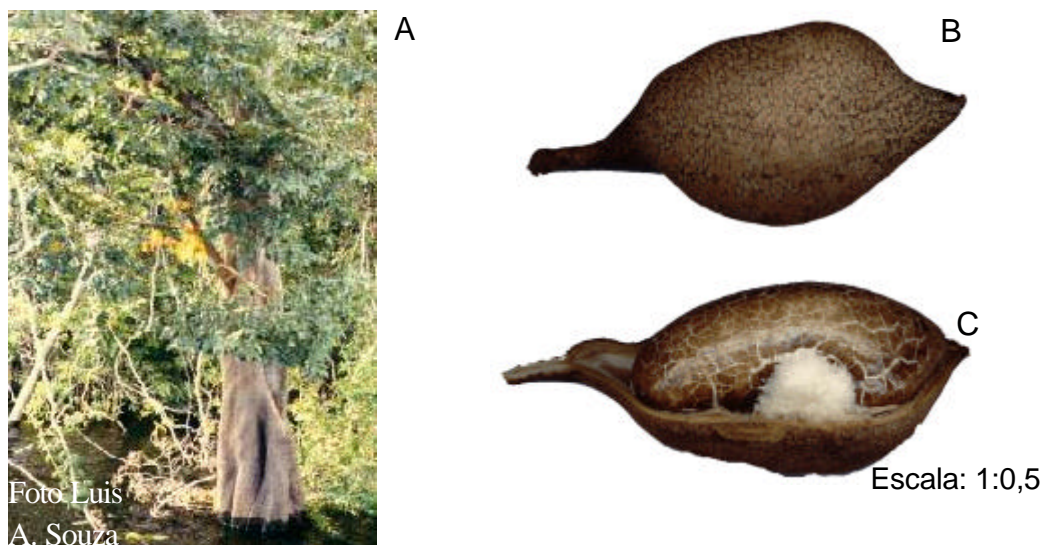
**Sinonímia:** *Robinia panacoco* Aublet, Pl. Guian. 2:768,.307.1775

**Nome popular** – Coração de negro

**Características morfológicas** - Árvores de porte médio, tronco ereto e cilíndrico com diâmetro em torno de 50 cm, ritidoma distinto (Figura 3) desprendendo-se em placas grandes, característica exclusiva da espécie (RIBEIRO et al., 1999, p.410). A casca do caule é acinzentada sulcada com 0,5 cm de espessura, galho com a casca veludosa à tomentosa, folhas estrigulosas ou velutinosas, flores com pétalas amarelas, fruto lenhoso, achatado lateralmente, usualmente oblíquo com 11,5-13,0 cm de comprimento e 4,0-4,5 cm de largura, marrom e tomentoso (COWAN,1967, p.32-33).

**Distribuição** – Ocorre deste o sudeste da Venezuela até a região da cidade de Manaus, Brasil, Guiana, Suriname e Guiana Francesa (COWAN,1967, p.33).

**Informações tecnológicas** – A madeira é altamente resistente e de beleza rara, de coloração negra com reflexos dourados. É de fácil acabamento, própria para confecção de objetos decorativos e principalmente de móveis, instrumentos musicais de sopro e componentes de cordas (GALVÃO, 2002).



**Figura 4.** A: Aspecto da árvore de *S. polyphylla* em área inundada, igapó;  
B: fruto inteiro; C: semente arilada

***Swartzia polyphylla*** A. P. de Candolle, Prod. 2:425.1825

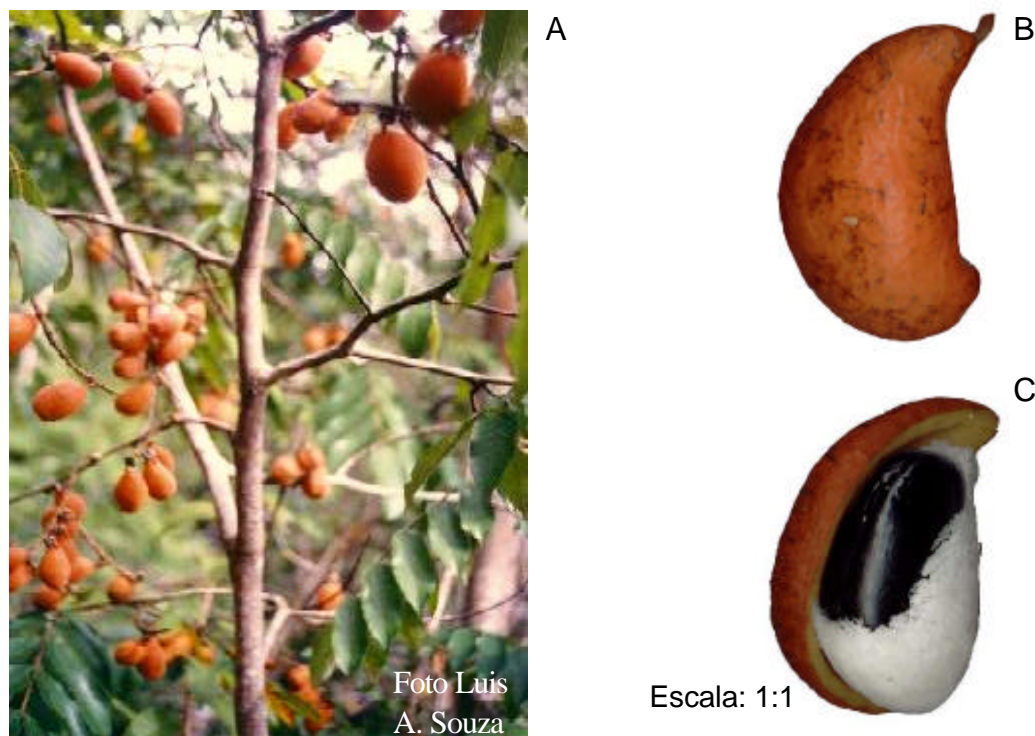
**Sinonímia:** *Swartzia acuminata* Willd. ex Vogel, *Touatea acuminata* (Willd. ex Vogel) Taubert, *Touatea acuminata* (Willd. ex Vogel) Kuntze, *Touatea acuminata* var. *puberula* Taubert, *Swartzia acuminata* var. *tridynamia* Huber, *Swartzia acuminata* var. *puberula* (Taubert) Glaz., *Swartzia platygyna* Ducke, *Swartzia opacifolia* Macbride, *Swartzia urubuensis* Ducke

**Nome popular** - Paracutaca

**Características morfológicas** - Árvore de porte mediano a grande, de 3,0-40 m de altura, tronco de 4,0 m de diâmetro, lamelado, geralmente com sapopemas altas e onduladas, exsudação vermelha abundante na entrecasca (Figura 4 A), folhas estrigulosas, pouco glabrascentes, ou ovais, ocasionalmente lanceoladas ou ovadas, partes superior e inferior ligeiramente glabras, flores brancas, frutos glabros, cilíndricos a oval ou obovado, com 6,5–12,0 cm de comprimento e 4,0-5,0 cm de largura, cor chocolate, com lentícelas brancas ou pálidas (Figura 4 B e C), leves e flutuantes com 1 ou 2 sementes grandes mais ou menos reniformes (COWAN,1967, p.84-85).

**Distribuição** – Abundante na Amazonas brasileira, oeste do Peru, Colômbia, no Rio Orinoco, na Venezuela, menos freqüente na Guiana e no Suriname. Ocorre freqüentemente em locais permanentes ou apenas temporariamente inundados (COWAN,1967, p.85).

**Informações farmacológicas** –Isoflavonas isolada de *S. polyphylla* apresenta atividade antifúngica e antibacteriana ao homem (DUBOIS; SNEDEN, 1995, p.629).



**Figura 5.** A: Árvore de *S. sericea* com frutos; B: fruto inteiro; C: semente arilada

***Swartzia sericea*** Vogel, Linnaea 11:176.1837

**Características morfológicas** – Árvores com 4,0-15,0 m de altura, os galhos jovens são densamente estrigulosos ou raramente pilosos (Figura 5 A), folhas lanceoladas a elípticas à oblongas elípticas–ovatas, parte superior glabra, parte inferior pilosa ou estrigulosa, flores com pétalas branco amareladas, frutos extremamente coloridos laranja, 4,0-5,0 cm de comprimento e 1,5-3,5 cm de largura, ovais, elípticos ou obovatos, pilosos (Figura 5 B), semente de cor creme, finamente enrugada, com hilo branco cobrindo um terço da sua superfície (Figura 5 C) (COWAN, 1967, p.140-1).

**Distribuição** – Guiana Francesa, sudeste da Venezuela, Colômbia e ao longo do Rio Negro, Brasil. (COWAN, 1967, p.141).

**Informações farmacológicas** – Casca e folhas são tóxicas a peixes (SCHULTERS,1979, p.86).

**CAPÍTULO 1**

---

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS  
ETANÓLICOS DE *Swartzia* spp A BASIDIOMICETOS  
DEGRADADORES DE MADEIRA**

## 2. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Swartzia* spp A BASIDIOMICETOS DEGRADADORES DE MADEIRA

### 2.1. Introdução

O gênero *Swartzia* Schreber (Leguminosae) está representado por cerca de 155 espécies, com maior distribuição na América do Sul. As espécies *S. fistuloides* Harms e *S. madagascariensis* Desv. ocorrem somente na África tropical (FERGUSON; SKYVARLA, 1988, p.1884). As plantas de *Swartzia* são fontes de constituintes biológicos ativos com potencial farmacológico. O interesse decorrente do emprego industrial destes princípios ativos, têm contribuído para o aperfeiçoamento de técnicas, tanto no desenvolvimento de novos bioensaios, como de isolamento e elucidação estrutural de substâncias, visando a otimização e a identificação de novos constituintes. Várias substâncias obtidas de frutos, folhas, caule e sementes, vêm sendo testadas “*in vitro*” e “*in vivo*”, especialmente para o controle de fungos, bactérias, insetos e de moluscos causadores de doenças tropicais.

Especificamente em relação à *S. madagascariensis* amplamente difundida, entre a população mais carente da África, pelo potencial etnomedicinal. Resultados de pesquisas têm revelado uma diversidade muito grande de constituintes químicos em termos de estrutura e de bioatividade terapêuticas, principalmente aos fungos, bactérias, insetos e moluscos (LWAMBO; MOYO, 1991, p.827; MARSTON et al.,1993, p.215-18; HOSTETTMANN; WOLFENDER, 1997; BOREL; GUPTA; HOSTETTMANN, 1987, p.570; SCHALLER et al., 2000, p.407).

Os constituintes químicos bioativos reportados para diversas espécies de *Swartzia* constam na Tabela 1. Destacam-se alguns resultados com saponinas derivadas, principalmente do ácido oleonólico que têm apresentado amplo espectro de aplicabilidade no controle de agentes patógenos e fitopatógenos. (HOSTETTMANN; WOLFENDER, 1997; MARSTON et al.,1993; JIMÉNEZ et al. 2001, p.81). Também, incluindo um diterpeno obtido da fração diclorometano da casca da raiz de *S. madagascariensis*, o qual apresenta alta atividade antifúngica a diferentes fungos patogênicos aos seres humanos, principalmente à *Candida*

**Tabela 1.** Constituintes químicos isolados de *Swartzia* spp e suas respectivas bioatividades

Espécie de <i>Swartzia</i>	Local de ocorrência	Parte da planta	Extrato/ Solvente	Constituinte	Bioatividade/ Agente	Referência
<b>S. madagascariensis</b>		Casca da raiz	Diclorometano	Diterpeno	Antifúngica/ <i>C. albicans</i>	Schaller et al., 2000
		Fruto	Aquoso	Ácido oleanólico	Moluscicida/ <i>B. glabrata</i> e <i>B. globosus</i>	Borel; Hostettmann, 1987
	África	Fruto	Aquoso		Larvicida/ <i>A. aegypti</i>	Marston et al. 1993
		Fruto	Metanol	Triterpeno	Anti-térmita	Crombié et al. 1971; Schulters, 1979
		Semente	Aquoso		<i>M. cornuarietis</i>	Lwambo; Moyo, 1991
<b>S. laeviscarpa</b> <b>Amshoff</b>	Brasil	Caule	Etanol	Pterocarpanos	Antimicrobiana	Braz-Filho et al., 1980, Nagy et al., 1984
<b>S. polyphylla</b> <b>DC.</b>			Etanol	Isoflavona	Antimicrobiana fungo e bactéria	Dubois; Sneden, 1995
	Peru	Cerne		Biochanina Ferreirinol e hidroxiisoflavonona	Antineoplásica	Dubois; Sneden, 1996
			Diclorometano	Isoflavanona	<i>Streptococcus</i> sp	Osawa et al.,1992
<b>S. schomburgkii</b> <b>Benth</b>	Suriname	-	Metanol	Ácido oleanólico	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	AbdeL et al., 2000
<b>S. simplex</b> <b>Spreng</b>	Panama	Folhas	Metanol	Triterpeno	Moluscicida/ <i>B. glabrata</i>	Borel et al., 1987

*albicans* (Robin) Berkhout. O extrato aquoso obtido das sementes desta espécie de *Swartzia* demonstrou ser efetivo à *Marisa cornuarietis*, predador intermediário do hospedeiro da esquistossomose. Dentre as informações sobre constituintes bioativos isolados de espécies americanas de *Swartzia* pode-se destacar um triterpeno monodesmosídeo com atividade moluscícida à *Biompharia glabrata*, isolado do extrato metanólico de folhas de *S. simplex*. Do extrato etanólico do cerne de *S. polyphylla* isolou-se uma nova isoflavona, que apresenta potencialidade antimicrobiana em ensaios com fungos e bactérias patogênicos ao homem. Também, foi isolado da fração do mesmo extrato, o flavonóide biochanina que apresenta capacidade antineoplásica, redutora da atividade da proteína quinase C, ativadora de tumores. Ainda do extrato metanólico do cerne de *S. polyphylla*, obteve-se uma isoflavanona com capacidade de bloquear a formação da placa dental causada por *Streptococcus* sp (Tabela1).

Vários estudos direcionados à aplicabilidade de constituintes bioativos obtidos de madeiras altamente resistentes, de plantas e de fungos, vêm sendo desenvolvidos, com o intuito de aplicar estas substâncias no controle de fungos e térmitas xilófagos, como alternativa aos preservantes sintéticos, os quais são tóxicos ao homem e ao meio ambiente, principalmente se não forem manipulados e utilizados racionalmente (NASCIMENTO, 1999, p.2, 2001, p.20; JESUS et al., 2000, p.224; COUTO et al., 2000, p.106).

Neste contexto, avaliou-se a atividade antifúngica de extratos etanólicos obtidos de *Swartzia argentea* Benth, *S. laevicarpa*, *S. panacoco* (Aublet) Cowan, *S. polyphylla* e de *S. sericea* Vog. frente aos fungos degradadores de madeira, tendo os seguintes objetivos específicos.

**Objetivos:**

- Testar a atividade antifúngica de diferentes concentrações do extrato, obtido do ritidoma, das cascas do caule e do fruto e das sementes de *S. argentea*, *S. laevicarpa*, *S. panacoco*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* frente aos basidiomicetos degradadores de madeira, *Pycnoporus sanguineus* (L.: Fr.) Murr., *Trametes villosa* (Fr.) Ryv. e *Lenzites trabea* Pers.:Fr.;
- Verificar as alterações nas características culturais, especialmente a morfologia dos fungos, para cada concentração do extrato obtido das diferentes partes de *Swartzia argentea*, *S. laevicarpa*, *S. panacoco*, *S. polyphylla* e de *S. sericea*.
- Selecionar, dentre os extratos testados, o(s) que apresenta(m) atividade antifúngica efetiva aos fungos degradadores de madeira.

**2.2. Material e métodos****2.2.1. Material****2.2.1.1. Características do Arquipélago de Anavilhanas**

O Arquipélago das Anavilhanas compreende uma área de 350.000 hectares, localizado no baixo rio Negro, no estado do Amazonas, entre os municípios de Manaus e Novo Airão (latitude de 2°00' a 3°02' S e 60°27' a 61°07' W), com predominância de vegetação de igapó e matas ribeirinhas. O arquipélago ocupa 90 km de comprimento e 15 km de largura em seu trecho mais largo (SECRETARIA ESPECIAL DO MEIO AMBIENTE. SEMA, 1977, p.17). O Parque Nacional do Jaú compreende uma área de 22.700 km<sup>2</sup>, e está localizado no médio rio Negro, acima do município de Novo Airão (latitude de 1°00' a 3°00' S e 61°31' a 64°00' W), com predominância de vegetação de igapó, matas ribeirinhas e terra firme.

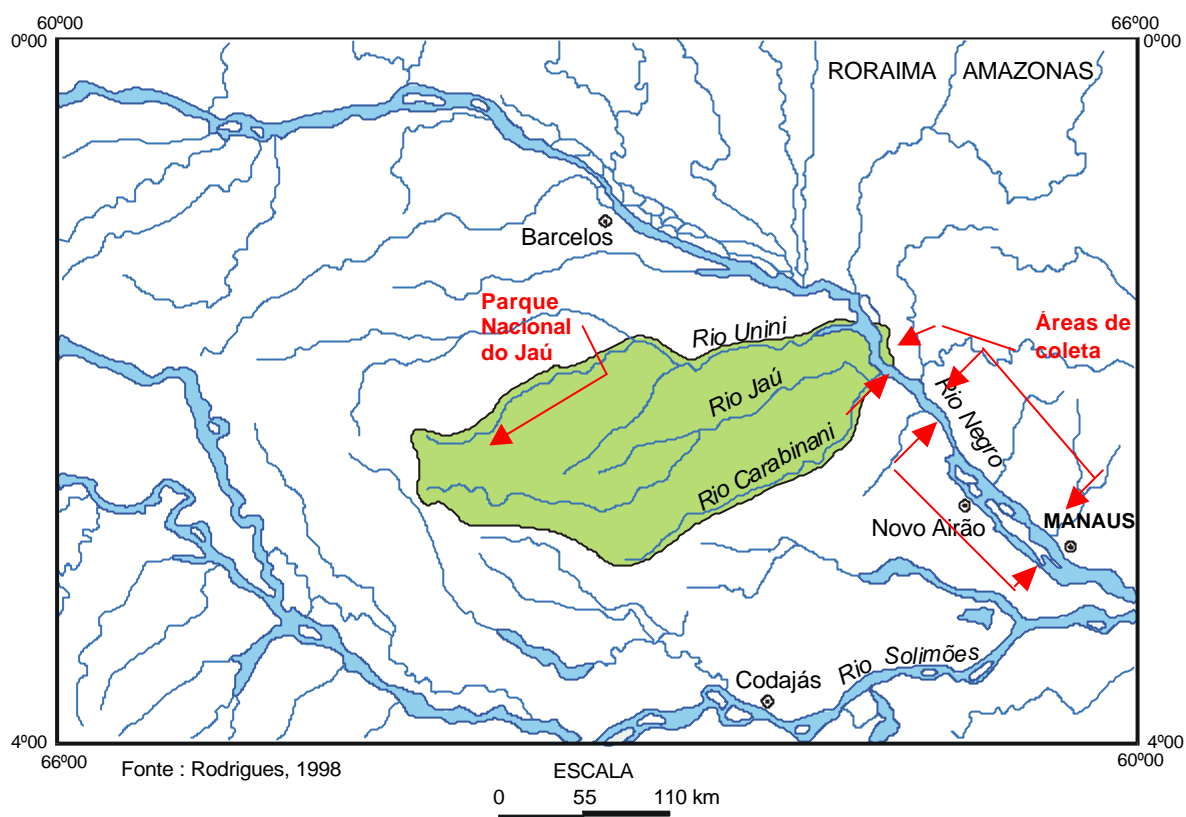
O arquipélago de Anavilhanas situa-se entre os rios de águas pretas e a floresta densa. A formação vegetal é caracterizada pela sua exuberância, com grande número de árvores altas e finas. A composição florística da floresta densa


tropical de terra firme está distribuída em 46 famílias, 127 gêneros e 260 espécies, com representantes em Sapotaceae, Chrysobalanaceae, Caesalpiniaceae, Burseraceae, Lecythidaceae, Moraceae e Myristicaceae e a vegetação de caatinga-gapó apresenta um certo grau de endemismos, com a distribuição restrita das espécies, em 34 famílias, 77 gêneros e 109 espécies, com diversidade maior em Rubiaceae, Chrysobalanaceae, Caesalpiniaceae, Fabaceae e Apocynaceae (INSTITUTO BRASILEIRO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS RENOVÁVEIS. IBAMA, 1999, p.5-4,11,13,15). Dentre as Leguminosas, o gênero *Swartzia* apresenta freqüência elevada de oito espécies (SOUZA; SILVA; 2001).

A vegetação da floresta de igapó, ocorre em áreas de floresta inundáveis, devido a inundações sazonais, a produção dos frutos apresenta estrita sincronia, normalmente ocorrendo durante o período de cheia. Esta característica torna este habitat especialmente importante para a fauna aquática, pois tanto a produção dos frutos como a ciclagem de nutrientes participam da cadeia trófica aquática durante seis meses. As espécies arborícolas, em geral, resistem à inundações prolongadas, suportando até seis meses com suas raízes submersas (IBAMA, 1999, p.5-8,16).

#### **2.2.1.2. Áreas de coleta do material botânico de *Swartzia* spp**

A casca do caule foi coletada dos exemplares de *S. argentea*, *S. laevicarpa*, *S. panacoco* e de *S. polyphylla* com ocorrência ao longo dos igarapés da Estação Ecológica de Anavilhanas e do Parque Nacional do Jaú, em setembro de 1999. Outra coleta da casca do caule e dos frutos, de pelo menos três exemplares de *S. argentea*, *S. laevicarpa*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* foi feita em junho de 2000. A área de amostragem encontra-se apresentada na Figura 1 e o local de coleta e o número dos espécimes em que os materiais botânicos foram coletados constam na Tabela 2. As espécies foram identificadas pelo pesquisador Luiz Augusto Gomes de Souza, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. As exsiccatas e as amostras de madeira de *S. argentea* (H-156.590), *S. laevicarpa* (H-13433, X-4362 e H-30082), *S. panacoco* (X-3312 e X-33418), *S. polyphylla* (H-156.567) e de *S. sericea* (H-174.347) foram incorporadas ao Herbário e à Xiloteca do INPA.



**Figura 1.** Mapa da região do arquipélago das Anavilhanas e do parque Nacional do Jaü, baixo rio Negro, estado do Amazonas;  local de coletas das plantas

**Tabela 2.** Número de exemplares de *Swartzia* spp coletados na Estação Ecológica de Anavilhanas e no Parque Nacional do Jaú, Amazonas, AM

<b>Espécie</b>	<b>Local de Coleta</b>	<b>Amostragem</b>
<i>Swartzia argentea</i>	Anavilhanas/igapó	Amostras de 03 árvores
<i>S. laevicarpa</i>	Anavilhanas/igapó	Amostras de 03 árvores
<i>S. panacoco</i>	Rio Carabinani/Terra firme	Amostras de 01 árvore
<i>S. polyphylla</i>	Anavilhanas/igapó	Amostras de 03 árvores
<i>S. sericea</i>	Rio Carabinani e Anavilhanas/igapó	Amostras de 03 árvores

### 2.2.2. Obtenção dos extratos etanólicos

Os frutos de *S. argentea*, *S. laevicarpa*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* coletados em junho de 2000, foram limpos com escova em água corrente, em seguida as sementes foram separadas da casca do fruto. Os ritidomas que são conjuntos de tecidos externos à última periderme formada do caule, constituindo de peridermes seqüenciais e de tecidos agregados as mesmas, incluindo as porções de tecidos de origem primária, segundo Richter et al., (1996, p.22), as cascas do caule e dos frutos e as sementes de *Swartzia* spp foram colocados para secar em estufa de circulação forçada a 40°C. Após a secagem, cada material foi pulverizado em moinho de facas. O pó obtido de cada parte foi mantido em saco plástico totalmente selado e em temperatura de 5°C. O solvente etanol foi usado na maceração de cada material à temperatura ambiente com agitação semi estática, por cerca de 45 dias, sendo realizadas extrações a cada 7 dias. Na maceração pretendeu-se usar 300g do pó, no entanto, foi utilizada a quantidade de pó obtido, principalmente para o ritidoma. As sementes de *Swartzia* spp também foram, posteriormente maceradas com hexano. Os solventes foram evaporados em evaporador rotatório à temperatura entre 40-45°C e os resíduos foram liofilizados.

As cascas dos caules de *S. argentea*, *S. laevicarpa*, *S. polyphylla* e de *S. panacoco* coletadas em setembro de 1999, foram lixadas e moídas. Os extratos foram processados da mesma maneira descrita anteriormente, porém entre as temperaturas de 70-80°C, com exceção do extrato da casca do caule de *S.*

*panacoco* que foi obtido entre 40-45°C. As plantas de *S. panacoco* não foram encontradas na segunda amostragem devido ao alagamento nos igapós, o que impossibilitou a coleta da casca do caule e dos frutos.

Algumas características dos extratos etanólicos e hexânicos, como rendimento, cor e aspecto, pH e solubilidade foram determinadas. A solubilidade do extrato é importante na preparação da solução, considerando-se que o extrato solúvel em água e em temperatura ambiente é o indicado, pois além de ser totalmente dissolúvel não contém produto químico. De modo que a solubilidade dos extratos foi obtida á temperatura ambiente e entre 40-45°C, em proporções diferentes de solventes: água; (água e etanol, 1:1); (água e etanol, 2:1) conforme a metodologia proposta por Nascimento (2001, p.4), como também a solubilidade foi considerada como parcial, para os extratos que não dissolveram totalmente. O pH das soluções aquosas de cada extrato foi determinado com auxílio de potenciômetro.

### **2.2.3. Bioensaio da atividade antifúngica dos extratos etanólicos**

Para o ensaio foram utilizados os fungos *P. sanguineus* (LPM408) e *T. villosa* (LPM406), causadores severos de podridão branca e *L. trabea* (LPM368), da podridão parda. Todas as espécies ocorrem no Brasil, sendo que *T. villosa* com maior distribuição em madeiras no país (CALVACANTI, 1983, p.86; JESUS, 1991, p.8;1998, p.89). A seleção das espécies dos fungos foi baseada na importância econômica e na linhagem de resistência e sensibilidade em ensaios de deterioração biológica acelerada de madeira em condições laboratoriais (LOPEZ; MILANO,1986, p.485). As culturas de *P. sanguineus*, *Trametes villosa* e de *L. trabea* foram fornecidas pelo Laboratório de Patologia da Madeira/LPM do Centro de Pesquisas de Produtos Florestais/INPA e pela coleção de fungos do Instituto de Botânica/IBT/SP.

A solução de cada extrato obtida de cada parte das plantas de *Swartzia* spp foi preparada com 1 g do extrato diluído em 5 mL do(s) solvente(s) que promovem melhor solubilidade, em seguida acrescentou-se 5 mL de água destilada estéril até

completar a alíquota de 0,1 mg/mL. A partir desta solução foram preparadas as concentrações de 0,01 mg/mL e 0,001 mg/mL do extrato etanólico.

Primeiramente a solução do extrato foi homogeneizada, depois 10 mL de cada solução do extrato foi adicionado a 90 mL de meio de extrato agar-malte e, novamente homogeneizada. Para o extrato da casca do caule, principalmente de *S. polyphylla* na concentração de 0,1 mg/mL, usou-se entre 10 e 15 µL de sulfóxido de dimetila (DMSO), no sentido de evitar a coagulação do meio de cultura. Da solução meio de cultura e extrato, 20 mL foi vertido em 5 placas de Petri. Após a solidificação do meio de cultura, foi colocado inóculo do fungo de 4,0 mm de diâmetro no centro da placa de Petri. Como testemunha usou-se somente o meio de cultura sem o extrato. As culturas foram mantidas à 28°C, com umidade relativa de 70%. O crescimento micelial foi medido em (mm) com um paquímetro manual no sentido horizontal e vertical da colônia nos dias de incubação; 4, 8, 12 e 16, período necessário para o crescimento dos fungos em toda a placa de Petri.

#### **2.2.4. Avaliação dos dados da atividade antifúngica dos extratos etanólicos**

A partir do valor médio do crescimento micelial radial (mm), foi calculada a área (cm<sup>2</sup>) da colônia do fungo de cinco repetições, para cada concentração do extrato obtido de cada parte de *Swartzia* spp. Com base no valor médio das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias dos fungos, obtido no décimo sexto dia de incubação, foi determinado o índice antifúngico (IAF), expresso em porcentagem, usando a fórmula descrita por Jesus et al. (2000, p.224):

$$IAF = \left[ 1 - \left( \frac{Tratamento}{Testemunha} \right) \right] \times 100$$

Também, a partir dos valores das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias das espécies fúngicas, obtidos no décimo sexto dia de incubação, para cinco repetições foi feita a análise estatística usando o programa SAS (Statistical Analysis System 5.0) com arranjo fatorial completo, com o desdobramento dos graus de liberdade para os tratamentos, no esquema fatorial 4x3x4x4x5, para cada tratamento; espécie de *Swartzia* e de fungo apodrecedor de madeira, para cada parte da planta,

concentração do extrato etanólico, tempo de desenvolvimento do fungo (dia) e as interações entre esses tratamentos. Primeiramente, foi realizada a análise de variância, seguida pelo teste de Tukey, utilizando o nível de probabilidade de ( $\alpha = 0,05$ ) para todos os tratamentos, visando as diferenças significativas entre as médias das áreas ( $\text{cm}^2$ ) das colônias dos fungos, para cada concentração do extrato obtido de cada parte da planta, entre as espécies de *Swartzia* e de fungos.

A variabilidade no crescimento micelial de *P. sanguineus*, *Trametes villosa* e *L. trabea* sob o efeito de cada concentração do extrato etanólico de cada parte de *Swartzia* spp, referentes às cinco repetições, foi estabelecida com base no desvio padrão entre os valores das áreas ( $\text{cm}^2$ ) das colônias dos fungos, referentes às cinco repetições.

### 2.3. Resultados e discussão

Os rendimentos dos extratos das diferentes partes das espécies de *Swartzia* obtidos à temperatura entre 40-45°C variaram entre 0,15% e 6,5%, sendo que aqueles de natureza hexânica provenientes das sementes apresentaram rendimento inferior a 1%. O ritidoma apresentou quantidade de massa (g) menor em relação às demais partes da planta, no entanto, o ritidoma de *S. sericea*, mesmo com pouca quantidade, apresentou rendimento maior (Tabela 3). Os extratos das cascas do caules de *S. argentea* e de *S. polyphylla*, ambos obtidos à temperatura entre 70-80°C apresentaram maior rendimento (Tabela 4). Este rendimento pode estar relacionado com o efeito da temperatura na extração maior de constituintes químicos.

Os extratos obtidos da casca do fruto de *S. laevicarpa* e *S. sericea* apresentam solubilidade total em água e etanol, somente, os de *S. laevicarpa* são totalmente solúveis em água. O extrato da casca do caule e do ritidoma de *Swartzia* spp são menos solúveis, principalmente os da casca do caule evaporados à temperatura entre 70-80°C (Tabela 4). Os extratos obtidos das diferentes partes de *S. polyphylla* e da semente das demais espécies de *Swartzia*, quando diluídos em água, geralmente produzem espuma (Tabela 3 e 4), o que pode ser um indicativo de saponina. Este constituinte ocorre na maioria das leguminosas da

**Tabela 3.** Características dos extratos de diferentes partes dos exemplares de *Swartzia* spp, obtidos entre 40-45°C

Espécie de Swartzia	Parte da planta	Massa g	Rendimento o%	Solvente	Solubilidade	Características do extrato		pH
						Espuma	Cor/aspecto	
<b><i>S. argentea</i></b>	Ritidoma	166,0	1,4	Etanol	Parcial ( 2)	+	Ambar	4,0
	C. do caule	300,0	1,3	Etanol	Parcial (2)	+	Amarelo-laranja/oleoso	4,0
	C. do fruto	200,0	2,7	Etanol	Total (2)	-	Verde abacate/mucilagem	4,1
	semente	698,0	4,7	Etanol	Total (1)	+	Verde-musgo/translúcido	4,6
			2,7	Hexano	Total (3)	++		-
<b><i>S. laeviscarpa</i></b>	Ritidoma	228,0	1,6	Etanol	Total (2)	+	Ambar/translúcido	4,0
	C. do caule	299,0	6,5	Etanol	Total (2)	+	Vermelho-vinho escuro	4,0
	C. do fruto	296,0	2,7	Etanol	Total (1)	+	Verde	4,2
	semente	696,0	5,0	Etanol	Total (2)	+++	Verde musgo/mucilagem	5,2
		696,0	0,15	Hexano	Total (3)		Verde musgo/mucilagem	-
<b><i>S. polyphylla</i></b>	Ritidoma	187,0	2,2	Etanol	Parcial (2)	+	Ambar/translúcido	4,2
	C. do caule	252,0	4,6	Etanol	Parcial (2)	+++	Café	4,6
	C. do fruto	200,0	6,2	Etanol	Parcial (2)	++	Ambar claro/viscoso	4,4
	semente	700,0	2,8	Etanol	Parcial (2)	+++	Café-claro/viscoso	4,4
		700,0	0,15	Hexano	Parcial (3)		Café-claro/Viscoso	-
<b><i>S. sericea</i></b>	Ritidoma	112,0	2,96	Etanol	Parcial (2)	-	Amarelo/leitoso	4,4
	C. do caule	256,0	2,4	Etanol	Parcial (2)	-	Laranja/oleoso	4,5
	C. do fruto	299,0	2,3	Etanol	Total (3)	+	Ocre escuro/oleoso	4,2
	semente	556,9	4,7	Etanol	Total (3)	++	Verde água/mucilagem	5,3
		556,9	0,18	Hexano	Total (3)		Verde água/Mucilagem	-
<b><i>S. panacoco</i></b>	C. do caule	224,4	4,8	Etanol	Parcial (3)	++	Ambar/transparente	4,0

**Solubilidade do extrato, 1= água; 2= (água e etanol, 1:1); 3 = (água e etanol, 2:1);**

**Espuma = - sem espuma; + pouco; ++ = médio; +++ = bastante**

**Tabela 4.** Características dos extratos etanólicos das cascas dos caules de *Swartzia* spp, obtidos à temperatura entre 70-80°C

Espécie de <i>Swartzia</i>	Massa g	Rend. %	Solub.	Características do extrato		
				Espuma	Cor/aspecto	pH
<i>S. argentea</i>	295,5	7,7	Total (2)	+	Amarelado/translúcido	4,0
<i>S. laevicarpa</i>	145,7	4,8	Total (2)	+	Ambar escuro	4,0
<i>S. polyphylla</i>	224,7	8,22	Parcial (2)	+	Ambar/translúcido	4,4

**Solubilidade do extrato,** 1 = água,1; 2 = (água e etanol, 1:1); 3 = (água e etanol, 2:1)

região amazônica (SIMÕES et al., 1988, p.94). Os valores do pH dos extratos etanólicos estão entre 4,0 e 4,4, com exceção aos das sementes que estão entre 4,5 e 5,3 (Tabela 3).

Este constituinte ocorre na maioria das leguminosas da região amazônica (SIMÕES et al., 1988, p.94). Os valores do pH dos extratos etanólicos estão entre 4,0 e 4,4, com exceção aos das sementes que estão entre 4,5 e 5,3 (Tabela 3).

A literatura menciona a toxicidade dos extratos da casca do fruto e da semente de algumas espécies de Leguminosae. Sabe-se que as sementes de algumas leguminosas são constituídas por ácidos aminados muitos tóxicos (SAITO; LUCCHINI, 1998, p.36). Os frutos e as folhas de *S. madagascariensis* são conhecidos como veneno aos animais como gado, gato, porco e rato. Provavelmente, as espécies de *Swartzia* estudadas também contêm princípio ativo tóxico ou alérgico ao homem, tendo em vista que o manuseador apresentou sintomas como náuseas, febre e faringite, durante a moagem da casca e do fruto. Os sintomas acentuaram-se durante as extrações e manuseio dos extratos e das frações, causando grande irritação na mucosa do nariz e dos olhos, mesmo com o uso de medidas preventivas e de biossegurança como o uso de máscara, câmara de fluxo, óculos de proteção, dentre outros. Estes sintomas são relatados para as saponinas de leguminosas por Hegnauer (1996, p.318-9). No entanto, ainda não existem dados de toxicidade para as espécies de *Swartzia* americanas.

O resumo da análise de variância no esquema fatorial 4x3x4x4x5 com os tratamentos e as principais interações entre os tratamentos, consta no Apêndice A. Observou-se efeitos principais significativos para os tratamentos; espécies de *Swartzia* e de fungos, nas diferentes partes das plantas, para as concentrações do

extrato, tempo (dia) de desenvolvimento do fungo na cultura e nas interações entre os tratamentos. Os dados da análise de variância foram comparados, notando-se diferença significativa entre as médias da área (cm<sup>2</sup>) da colônia dos fungos, para os extratos do ritidoma, casca do fruto e da semente, independentemente da espécie de *Swartzia*, enquanto que para os extratos da casca do caule de *S. laevicarpa* e de *S. sericea* não houve diferença significativa (Tabela 5). A menor colônia (cm<sup>2</sup>) dos fungos foi observada nas culturas com o extrato da casca do caule de *S. panacoco* (Tabela 6).

Estatisticamente, verificou-se que houve variação significativa entre as médias das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias, para cada espécie de fungo, independentemente do extrato testado. *T. villosa* apresenta maior a tolerância, comparada com as duas outras espécies de fungos testadas (Tabela 6). Também, foi constatada variação

**Tabela 5.** Comparação múltipla entre as médias das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias de *L. trabea*, *P. sanguineus* e de *T. villosa* sob o efeito de cada extrato de cada parte de *Swartzia* spp

Espécie de <i>Swartzia</i>	Área da colônia do fungo (cm <sup>2</sup> )			
	Parte da planta			
	Ritidoma	Casca do caule	Casca do fruto	Semente
<i>S. argentea</i>	18,59 <sup>b</sup>	29,73 <sup>a</sup>	31,85 <sup>d</sup>	26,85 <sup>d</sup>
<i>S. laevicarpa</i>	14,47 <sup>d</sup>	27,74 <sup>b</sup>	34,97 <sup>b</sup>	28,85 <sup>b</sup>
<i>S. panacoco</i>	-	10,38 <sup>d</sup>	-	-
<i>S. polyphylla</i>	24,09 <sup>a</sup>	26,93 <sup>c</sup>	34,47 <sup>c</sup>	31,36 <sup>a</sup>
<i>S. sericea</i>	17,90 <sup>c</sup>	27,88 <sup>b</sup>	39,04 <sup>a</sup>	27,74 <sup>c</sup>

As médias seguidas com letras iguais não diferem entre si em  $\alpha = 0,05$ , pelo teste de Tuckey

**Tabela 6.** Comparação múltipla entre as médias da área (cm<sup>2</sup>) das colônias de *L. trabea*, *P. sanguineus* e de *T. villosa* sob o efeito do extratos obtidos de cada parte de *Swartzia* spp

Fungo	Área da colônia do fungo (cm <sup>2</sup> )			
	Parte da planta			
	Ritidoma	Casca do caule	Casca do fruto	Semente
<i>L. trabea</i>	15,00 <sup>c</sup>	19,90 <sup>c</sup>	26,80 <sup>c</sup>	19,72 <sup>c</sup>
<i>P. sanguineus</i>	19,16 <sup>b</sup>	25,52 <sup>b</sup>	37,48 <sup>b</sup>	28,79 <sup>b</sup>
<i>T. villosa</i>	19,37 <sup>a</sup>	27,82 <sup>a</sup>	40,97 <sup>a</sup>	37,58 <sup>a</sup>

As médias seguidas com letras iguais não diferem entre si, em  $\alpha = 0,05$ , pelo teste de Tukey

significativa entre as médias das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias dos fungos, para cada concentração dos extratos etanólicos, sendo que a área (cm<sup>2</sup>) das mesmas se reduz gradualmente frente as concentrações maiores do extrato (Tabela 7). Por outro lado, a área (cm<sup>2</sup>) de uma mesma colônia do fungo, aumenta significativamente em 16 dias, particularmente nas concentrações menores do extrato etanólico (Tabela 8).

Ao analisar o coeficiente explicativo (R<sup>2</sup>) que fornece uma medida da qualidade do ajuste do modelo aos dados experimentais e o coeficiente de variação C.V. (%), verifica que os extratos da casca do fruto e do ritidoma de

**Tabela 7.** Comparação múltipla entre as médias das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias de *L. trabea*, *P. sanguineus* e de *T. villosa*, para cada concentração do extrato obtido de cada parte de *Swartzia* spp

Concentração do extrato/mg/mL	Área da colônia do fungo (cm <sup>2</sup> )			
	Parte da planta			
	Ritidoma	Casca do caule	Casca do fruto	Semente
0,00	37,78 <sup>a</sup>	37,74 <sup>a</sup>	38,95 <sup>a</sup>	37,42 <sup>a</sup>
0,001	26,94 <sup>b</sup>	28,55 <sup>b</sup>	37,42 <sup>b</sup>	33,26 <sup>b</sup>
0,01	8,79 <sup>c</sup>	18,97 <sup>c</sup>	32,59 <sup>c</sup>	25,68 <sup>c</sup>
0,1	0,53 <sup>d</sup>	11,85 <sup>d</sup>	31,39 <sup>d</sup>	18,43 <sup>d</sup>

Concentração 0,00 = meio de cultura sem extrato,. As médias seguidas com letras iguais não diferem entre si, em  $\alpha = 0,05$ , pelo teste de Tukey

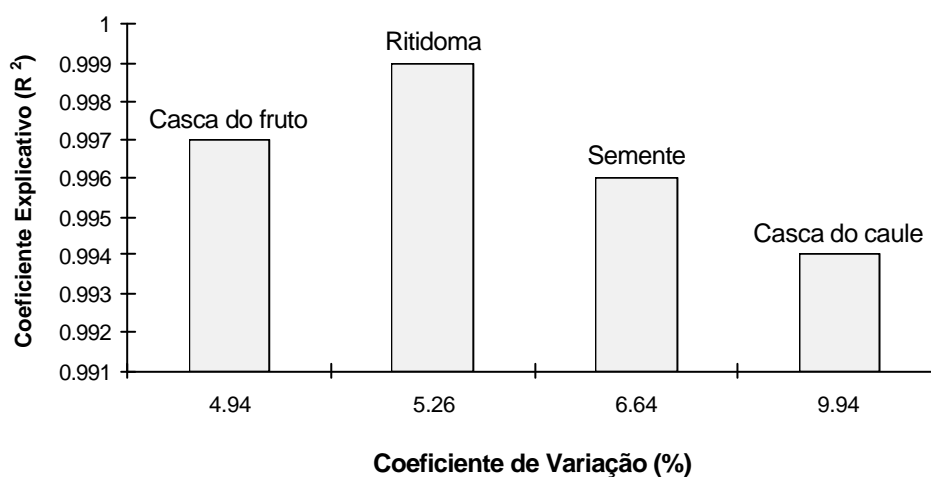
**Tabela 8.** Comparação múltipla entre as médias das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias de *L. trabea*, *P. sanguineus* e de *T. villosa*, obtidas a cada quatro dias, para os extratos de cada parte de *Swartzia* spp

Tempo (dia)	Área da colônia do fungo (cm <sup>2</sup> )			
	Parte da planta			
	Ritidoma	Casca do caule	Casca do fruto	Semente
0	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>e</sup>
4	1,70 <sup>d</sup>	13,29 <sup>d</sup>	13,29 <sup>d</sup>	5,83 <sup>d</sup>
8	21,15 <sup>c</sup>	24,48 <sup>c</sup>	42,96 <sup>c</sup>	33,37 <sup>c</sup>
12	32,01 <sup>b</sup>	42,79 <sup>b</sup>	58,60 <sup>b</sup>	50,15 <sup>b</sup>
16	35,19 <sup>a</sup>	49,23 <sup>a</sup>	60,58 <sup>a</sup>	54,14 <sup>a</sup>

As médias seguidas com letras iguais não diferem entre si, em  $\alpha = 0,05$ , pelo teste de Tukey

de *Swartzia* spp apresentaram melhor ajuste do modelo aos dados, com C. V. de 4.9% e 5.2% respectivamente, para os erros experimentais. Enquanto que os extratos obtidos da casca do caule apresentam maior erro experimental de 9.94% (Figura 2). O alto coeficiente de variação obtido para os extratos da casca do caule provavelmente deve-se à coagulação da solução do meio de cultura com o extrato na concentração de 0,1 mg/mL, principalmente de *S. polyphylla*. O ajuste do modelo aos dados está acima de 99% para os extratos de cada parte de *Swartzia* spp, portanto, os dados ajustam ao modelo.

Os extratos etanólicos do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* na concentração de 0,1 mg/mL apresentaram o índice antifúngico (IAF) de 100% para as três espécies de fungos, o mesmo índice, foi também obtido para o extrato da casca do caule de *S. panacoco* nas concentrações de 0,01 e 0,001 mg/mL (Tabela 9). Observa-se que o extrato 100% obtido para o extrato da casca



**Figura 2.** Ajuste do modelo fatorial de análise da variância para as médias da área ( $\text{cm}^2$ ) das colônias dos fungos, para os extratos obtidos de diferentes partes das plantas das espécies de *Swartzia* estudadas.  $R^2$  = Qualidade de ajuste do modelo aos dados, **C.V.** = medida do erro experimental

de *S. laevicarpa* obtido na temperatura entre 70-80°C na concentração de 0,01 e 0,001 mg/mL para *P. sanguineus* e para *L. trabea* na concentração de 0,01 mg/mL (Tabela 10). Este índice antifúngico sugere que provavelmente a alta temperatura pode ter contribuído para a extração maior de constituintes químicos ou na modificação de algumas substâncias, considerando que o extrato da casca do caule da mesma espécie obtido entre 40-45°C apresentou índice antifúngico menor (Tabela 9).

O índice antifúngico (IAF) dos extratos etanólicos testados, mostra que os extratos obtidos do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* apresentam índices antifúngicos altos, enquanto que os extratos obtidos das cascas do caule e dos frutos e das sementes apresentam índices menores. Esses dados indicam a probabilidade de se encontrar constituinte(s) antifúngico(s) mais potentes no ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e no extrato da casca do caule de *S. panacoco*.

Comparando as médias das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias *L. trabea*, *P. sanguineus* e de *T. villosa* nota-se que a área das colônias destes fungos é menor para o extrato do ritidoma de *S. laevicarpa* em relação à dos demais extratos de *Swartzia* spp testados (Tabela 6), ao contrário do esperado, o mesmo extrato apresenta índice antifúngico baixo, principalmente para *P. sanguineus* (Tabela 9).

Como os extratos etanólicos do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* apresentaram a atividade antifúngica a fungos degradadores, pode-se considerar que a potencialização da bioatividade seja resultante de uma substância ou de um conjunto delas, podendo acontecer o aumento ou a diminuição da atividade delas no fracionamento em decorrência do decréscimo da complexidade da mistura. Essas observações sugerem o monitoramento da atividade antifúngica obtida nos ensaios através do particionamento dos extratos etanólicos pode indicar qual (is) fração(ões) possui(m) potencialidades antifúngicas.

O índice antifúngico fornece valores indicativos, os quais estão estritamente relacionados com o valor da área (cm<sup>2</sup>) da colônia do fungo, referentes às cinco repetições para cada concentração do extrato testado. No entanto os dados devem ser analisados com cautela, considerando-se os fatores que podem estar

**Tabela 9** Índice antifúngico (IAF) de cada concentração do extrato obtido de cada parte de *Swartzia* spp, obtidos entre 40-45°C frente aos fungos, aos 16 dias de incubação

Fungo	Parte da Planta	Concentração mg/mL	Índice antifúngico (%)			
			Espécie de <i>Swartzia</i>			
			<i>S. argentea</i>	<i>S. laeviscarpa</i>	<i>S. polyphylla</i>	<i>S. sericea</i>
<i>Lenzites trabea</i>	Ritidoma	0,001	0,00	97,78	0,00	0,00
		0,01	70,50	97,78	0,00	97,00
		0,1	100,00	97,78	100,00	100,00
	Casca do Caule	0,001	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,01	41,34	0,00	0,00	0,00
		0,1	86,60	82,88	-	69,96
	Casca do Fruto	0,001	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,01	57,79	0,00	0,00	0,00
		0,1	88,89	0,00	39,51	42,85
	Semente	0,001	0,00	0,00	0,00	39,51
		0,01	55,56	51,27	11,48	51,86
		0,1	83,34	74,18	92,76	68,30
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	Ritidoma	0,001	0,00	20,99	0,00	0,00
		0,01	69,14	49,40	0,00	97,26
		0,1	100,00	63,10	100,00	100,00
	Casca do caule	0,001	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,1	0,00	28,70	0,00	27,05
	Casca do Fruto	0,001	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,1	0,00	0,00	0,00	0,00
	Semente	0,001	0,00	0,00	0,00	12,59
		0,01	20,90	22,10	0,00	20,99
		0,1	55,56	34,75	0,00	20,99
<i>Trametes villosa</i>	Ritidoma	0,001	0,00	95,10	0,00	0,00
		0,01	88,88	99,78	0,00	99,80
		0,1	100,00	100,00	100,00	100,00
	Casca do caule	0,001	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,01	0,00	0,00	28,10	0,00
		0,1	0,00	0,00	39,5	0,00
	Casca do fruto	0,001	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,1	0,00	0,00	0,00	0,00
	Semente	0,001	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,1	0,00	0,00	0,00	0,00

**Tabela 10.** Índice antifúngico (IAF) de cada concentração do extrato da casca do caule de *Swartzia* spp, obtido em diferentes temperaturas, frente aos fungos aos 16 dias de incubação

Fungo	Conc. Mg/mL	Índice antifúngico (%)			
		Espécie de <i>Swartzia</i>			
		S. <i>argentea</i> *	S. <i>laevicarpa</i> *	S. <i>polyphylla</i> *	S. <i>panacoco</i> **
<i>L. trabea</i>	0,001	0,00	97,45	15,96	100,0
	0,01	58,66	100,0	44,65	100,0
	0,1	86,62	95,86	87,82	97,3
<i>P. sanguineus</i>	0,001	0,00	100,0	100,0	100,0
	0,01	0,00	100,0	75,55	100,0
	0,1	0,00	69,14	69,11	10,98
<i>T. villosa</i>	0,001	0,00	97,74	0,00	100,0
	0,01	0,00	95,29	0,00	100,0
	0,1	0,00	98,19	3,02	98,40

\* = extrato obtido entre 70-80°C; \*\* = extrato obtido entre 40-45°C

interferindo no crescimento micelial de cada espécie fúngica. Os índices antifúngicos de 83,34; 74,18; 92,76 e 68,30% obtidos, respectivamente para os extratos da semente de *S. argentea*, *S. laevicarpa*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* na concentração de 0,1 mg/mL frente à *L. trabea* (Tabela 9) podem ser resultantes da presença de contaminantes, os quais estariam degradando o extrato ou interferindo no desenvolvimento dos fungos, ou, ainda, o princípio ativo pode não ter sido extraído em etanol. A ampla bioatividade antimicrobiana é relatada para extratos do fruto e da semente de *Swartzia* spp (Tabela 1), ao contrario da observada para os extratos do fruto e da semente das espécies de *Swartzia* testadas.

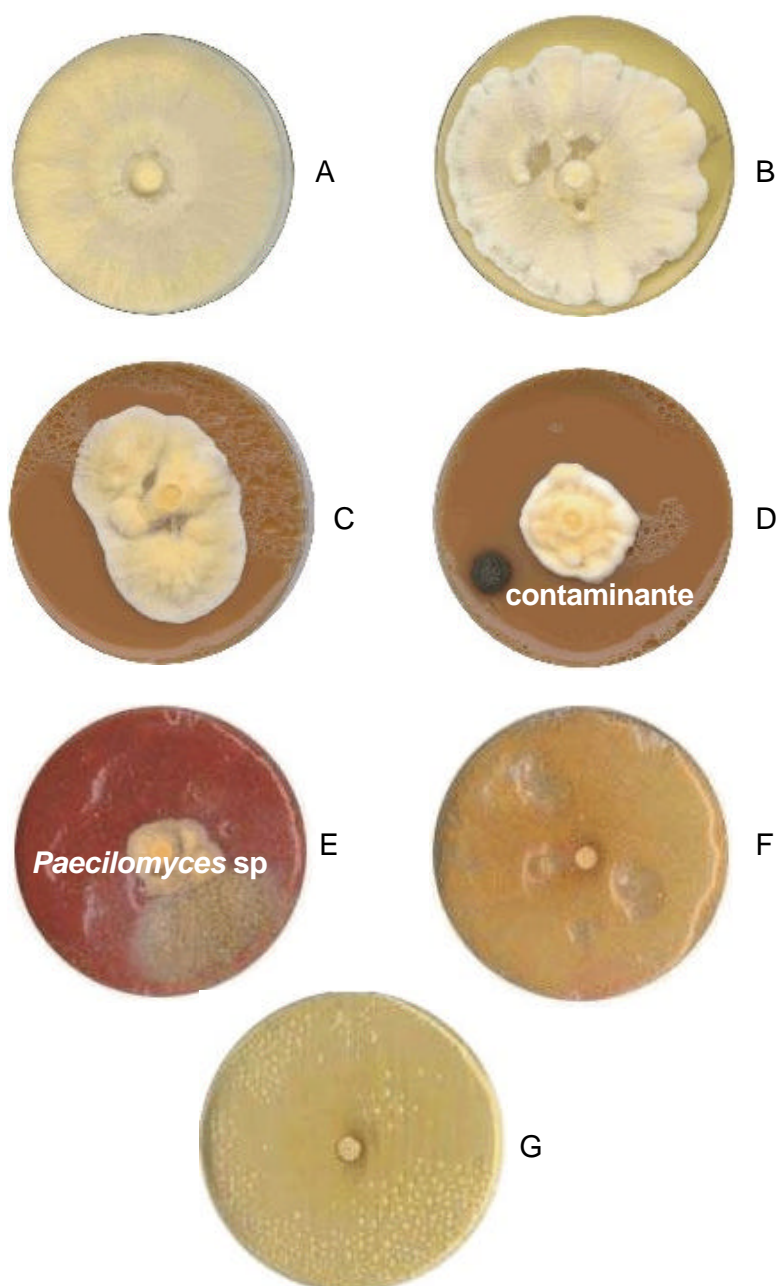
O extrato da casca do caule de *S. panacoco* na concentração de 0,1 mg/mL, apresentou o menor índice antifúngico de 10,98% para *P. sanguineus* (Tabela 10). Este índice antifúngico poderia estar relacionado com o contaminante, *Paecilomyces* sp (Figura 3 E), o qual não cresceu nas concentrações de 0.01 e 0,001 mg/mL. A presença de *Paecilomyces* sp, que é um fungo muito agressivo pode ter estimulado o crescimento de *P. sanguineus*. Provavelmente, na ausência

de *Paecilomyces* sp, o extrato etanólico da casca do caule de *S. panacoco* poderia apresentar alto índice antifúngico na concentração 0,1 mg/mL, considerando-se que este índice de 100%, foi obtido nas concentrações menores do mesmo extrato etanólico.

As três espécies de fungos apresentaram alterações nas características morfológicas das colônias, sendo que *P. sanguineus* se desenvolveu atipicamente, com hifas condensadas, rarefeitas e menos coloridas nas culturas em contato com extratos, principalmente o da casca do fruto e o da semente de *S. argentea* e de *S. laevicarpa* na presença de contaminante. O mesmo comportamento ocorreu com *T. villosa*. Geralmente, *L. trabea* se desenvolveu desordenadamente e com micélio denso nas culturas com extratos de concentrações maiores (Figura 3 B e C), comparado com o do controle (Figura 3 A), principalmente na presença de contaminante, sendo que alguns contaminantes foram inibidos ou cresceram com dificuldade (Figura 3 D), com exceção de *Paecilomyces* sp que estimulou o crescimento de *L. trabea* na cultura com o extrato etanólico da casca do caule de *S. panacoco* na concentração de 0,1mg/mL (Figura 3 E). Enquanto que *L. trabea* não cresceu nas concentrações de 0,01 e 0,001 mg/mL do mesmo extrato (Figura 3 F e G).

O comportamento dos contaminantes e de *L. trabea* sugere que esse fungo provavelmente possui constituintes com atividade antimicrobianas. Derivados de triterpenos e alguns constituintes aromáticos foram isolados de espécies de *Lenzites* por Rösecke; Köning (2000, p.603). Porém para verificar tal hipótese é necessário a comprovação da atividade antimicrobiana de *L. trabea*. Ainda com relação à contaminação, recomenda-se cautela na análise dos valores do crescimento micelial do fungo sob o efeito da contaminação, considerando-se que estes dados estão diretamente relacionados com os valores do índice antifúngico do extrato em questão.

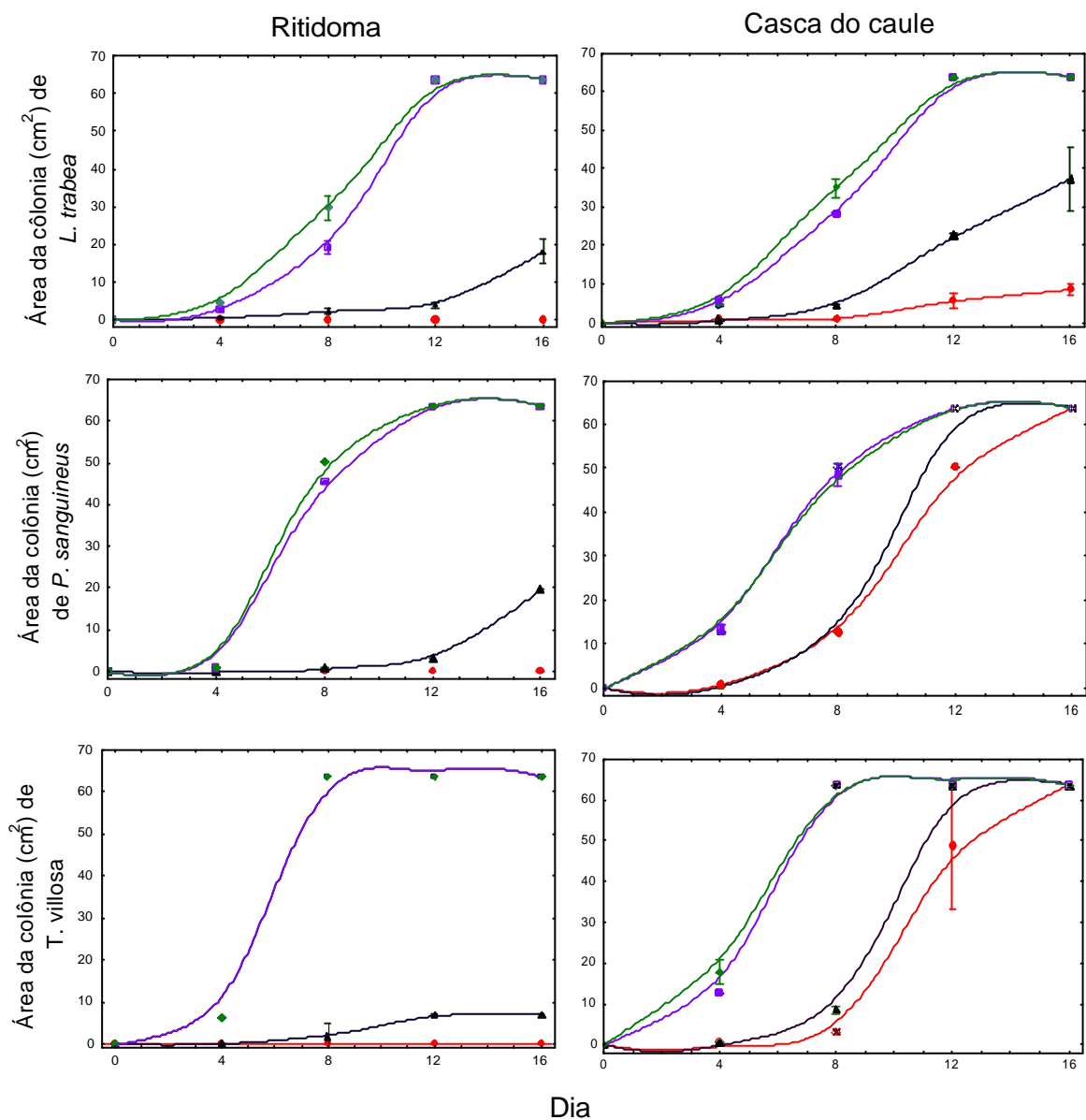
A partir dos valores das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias obtidas para as cinco repetições, para cada concentração de cada extrato etanólico, foi elaborada uma curva do crescimento para os fungos, sob o efeito de cada concentração do extrato etanólico obtido de cada parte de *Swartzia* spp (Figuras 4;5;6;7;8;9;10;11;12 e 13), os valores médios das áreas (cm<sup>2</sup>) da colônia dos fungos constam no Apêndice B



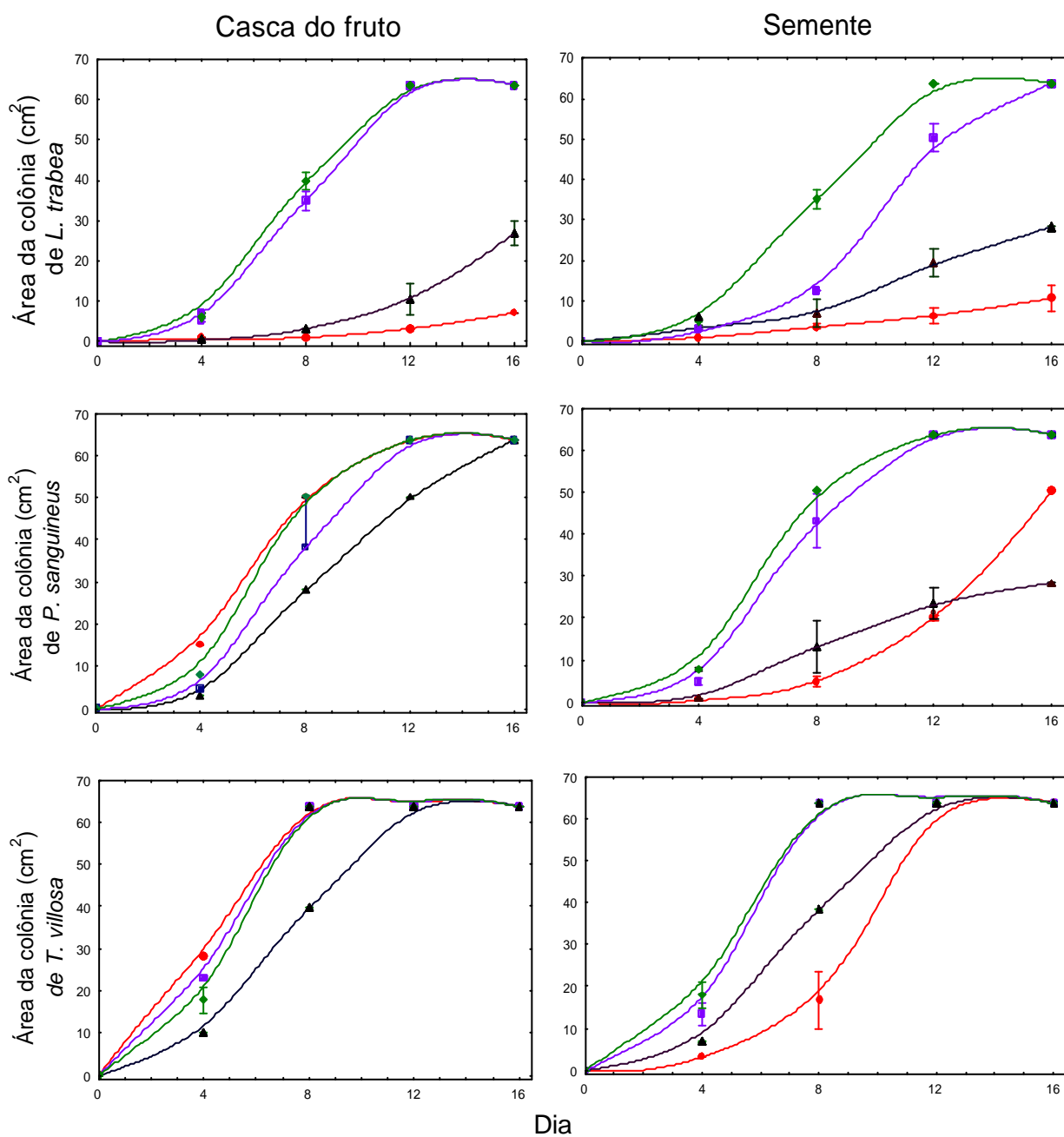
**Figura 3.** Aspectos da colônia de *Lenzites trabea* em contato com extrato etanólico de *Swartzia* spp: **A:** cultura de *L. trabea* sem extrato; **B:** com extrato da casca do caule de *S. levicarpa* na concentração de 0,001mg/mL; **C:** com extrato da casca do caule de *S. levicarpa* na concentração de 0,1mg/mL; **D:** com extrato da casca do caule de *S. polyphylla* na concentração de 0,1mg/mL; **E:** com extrato da casca do caule de *S. panacoco* na concentração de 0,1mg/mL; **F** e **G:** com extrato da casca do caule de *S. panacoco* nas concentrações de 0,01 e 0,01mg/mL, respectivamente.

Os fungos apresentaram variabilidade no crescimento micelial frente aos diferentes extratos etanólicos, sendo que a menor variabilidade entre os valores da área (cm<sup>2</sup>) da colônia dos fungos foi constatada para os extratos dos ritidomas de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* na concentração de 0,1 mg/mL (Figuras 4, 8 e 10) e da casca do caule de *S. panacoco* nas concentrações de 0,01 e 0,001 mg/mL para as três espécies de fungos (Figura 12). A maior variabilidade entre os valores das áreas (cm<sup>2</sup>) das colônias dos fungos ocorre para os extratos obtidos das cascas do caule e do fruto, e das sementes nas concentrações menores independentemente da espécie de *Swartzia*, como também nas colônias, principalmente de *L. trabea* nas culturas (controle), sem extrato (Figuras 4;5;6;7;8;9;10;11;12 e 13).

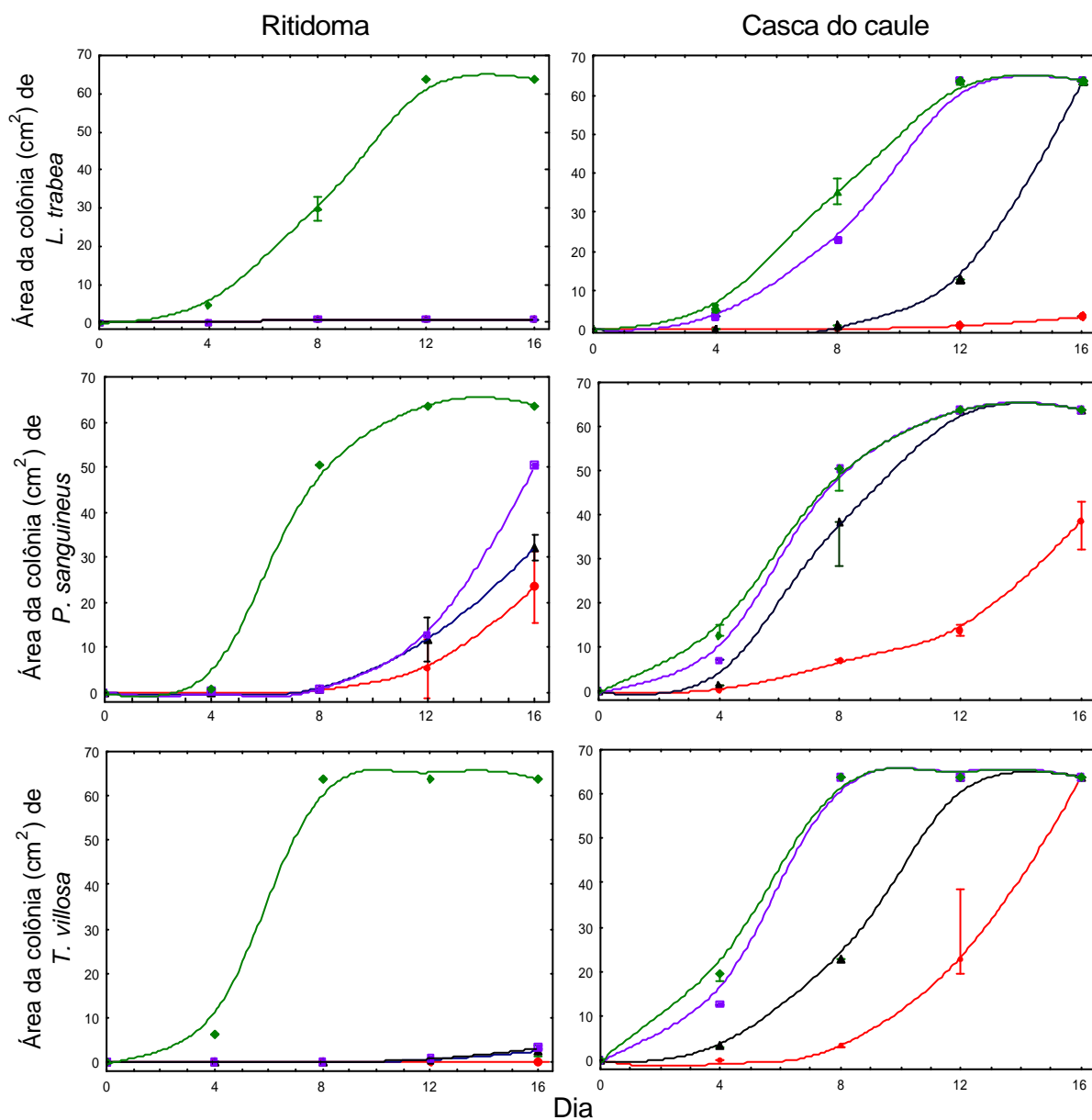
*L. trabea* foi o fungo mais sensível aos extratos testados, apresentando em geral, crescimento micelial diferenciado para cada concentração dos extratos etanólicos, particularmente nas concentrações maiores, desenvolvendo-se com micélio totalmente desordenado e denso, às vezes, com crescimento vertical, comparado com o do controle (Figura 3 A, B e C). *P. sanguineus* cresceu rapidamente, porém muito rarefeito, nas concentrações dos extratos entre 0,01 e 0,001 mg/mL. Neste caso, as curvas de crescimento dos fungos devem ser analisadas com cautela, tendo em vista que o crescimento micelial do fungo em questão poderia ser uma reação de resistência e não de sensibilidade ao extrato etanólico testado. Outro fator que estaria envolvido no crescimento rápido dos fungos seria a resposta à contaminação, discutido acima. Interessante, foi que *P. sanguineus* e *T. villosa*, cresceram após o oitavo dia de incubação em culturas com extrato etanólico do ritidoma de *S. argentea* na concentração de 0,01 mg/mL e de *S. laevicarpa* nas concentrações 0,01 e 0,001 mg/mL obtidos à temperatura entre 40-45°C (Figuras 4 e 6). O mesmo comportamento micelial de *P. sanguineus* foi observado nos extratos da casca do caule de *S. argentea* e de *S. polyphylla* na concentração de 0,1 mg/mL, obtidos à temperatura entre 70-80°C (Figura 13). Provavelmente, os constituintes bioativos destes extratos devem ter sido degradados pelos fungos, propiciando o crescimento dos mesmos, pois alguns basidiomicetos apresentam capacidade de degradar substâncias orgânicas (MATHEUS, 1998, p.32-35).



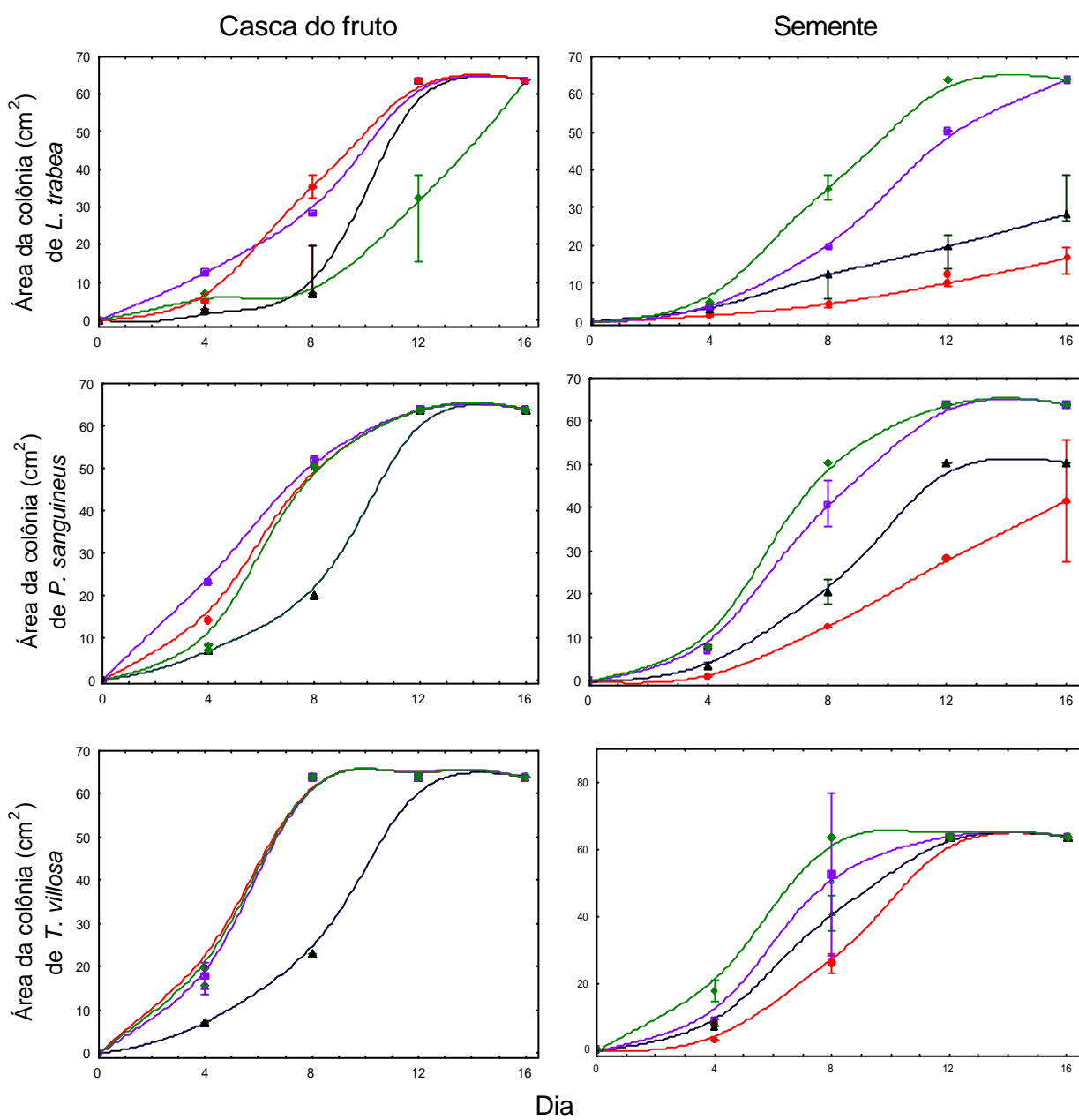
**Figura 4** Efeito das concentrações (●, 0,1; ?, 0,01; |, 0,001; ?, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico obtido da casca do caule de *S. argentea* sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio padrão em relação às médias das áreas das colônias ( $\text{cm}^2$ ) dos fungos, para cinco repetições.



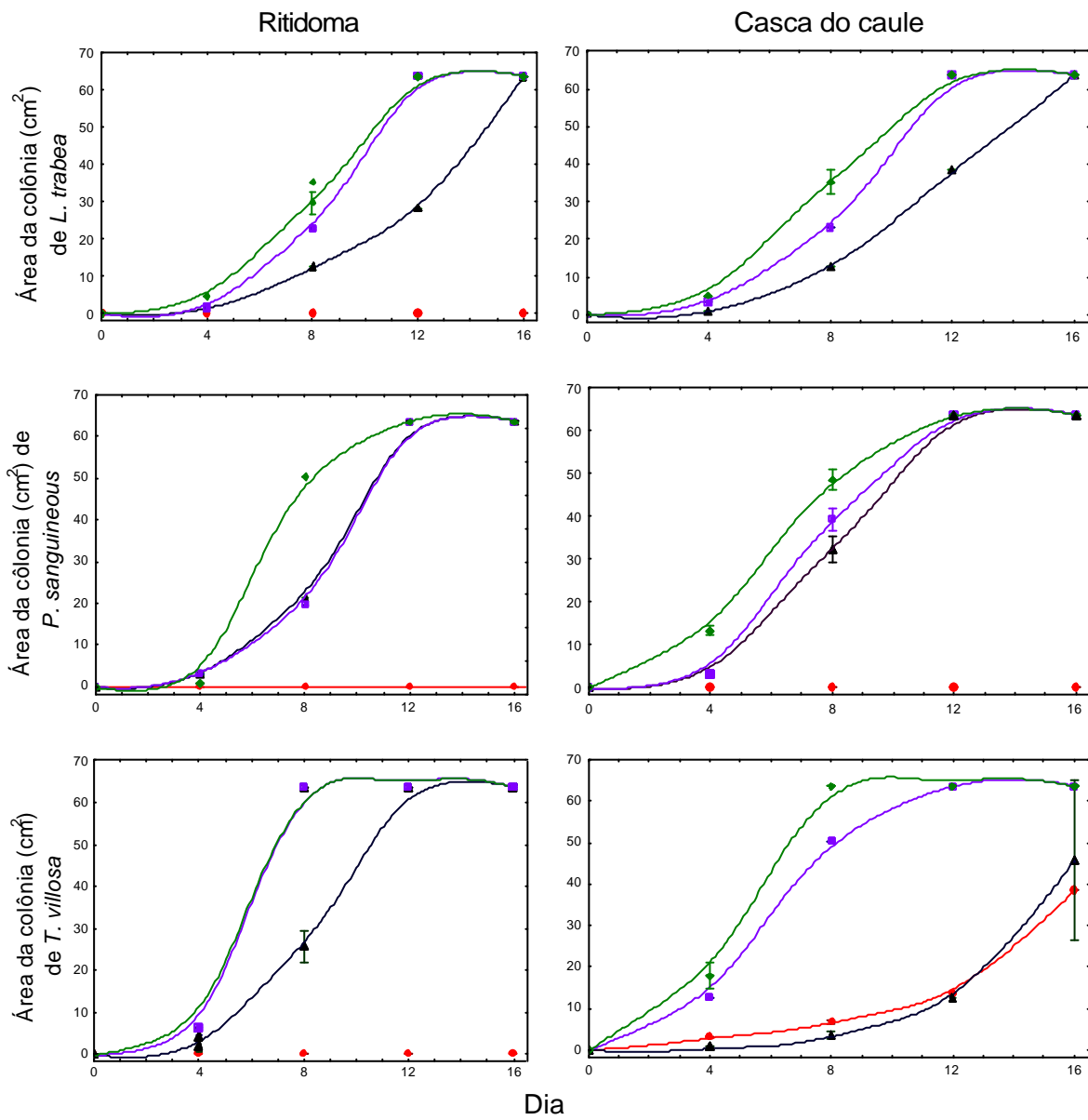
**Figura 5.** Efeito de três concentrações (●, 0,1; ▲, 0,01; ■, 0,001; ◆, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico obtido do fruto de *S. argentea* sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio padrão em relação às médias das área das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco repetições.



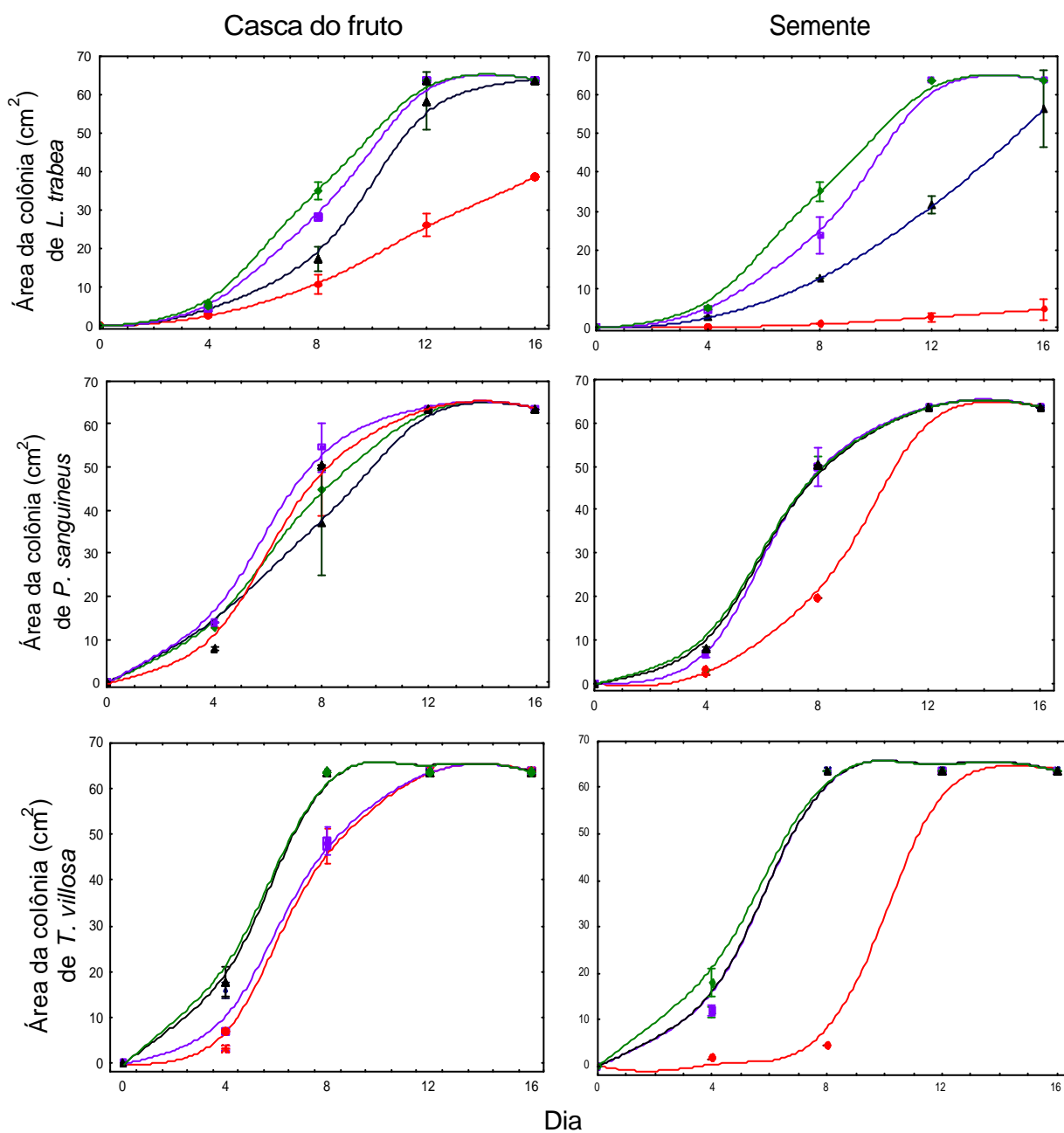
**Figura 6.** Efeito das concentrações (●, 0,1; ◻, 0,01; ▴, 0,001; ◆, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico obtido da casca do caule de *S. laevicarpa* sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio padrão relação às médias das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco repetições.



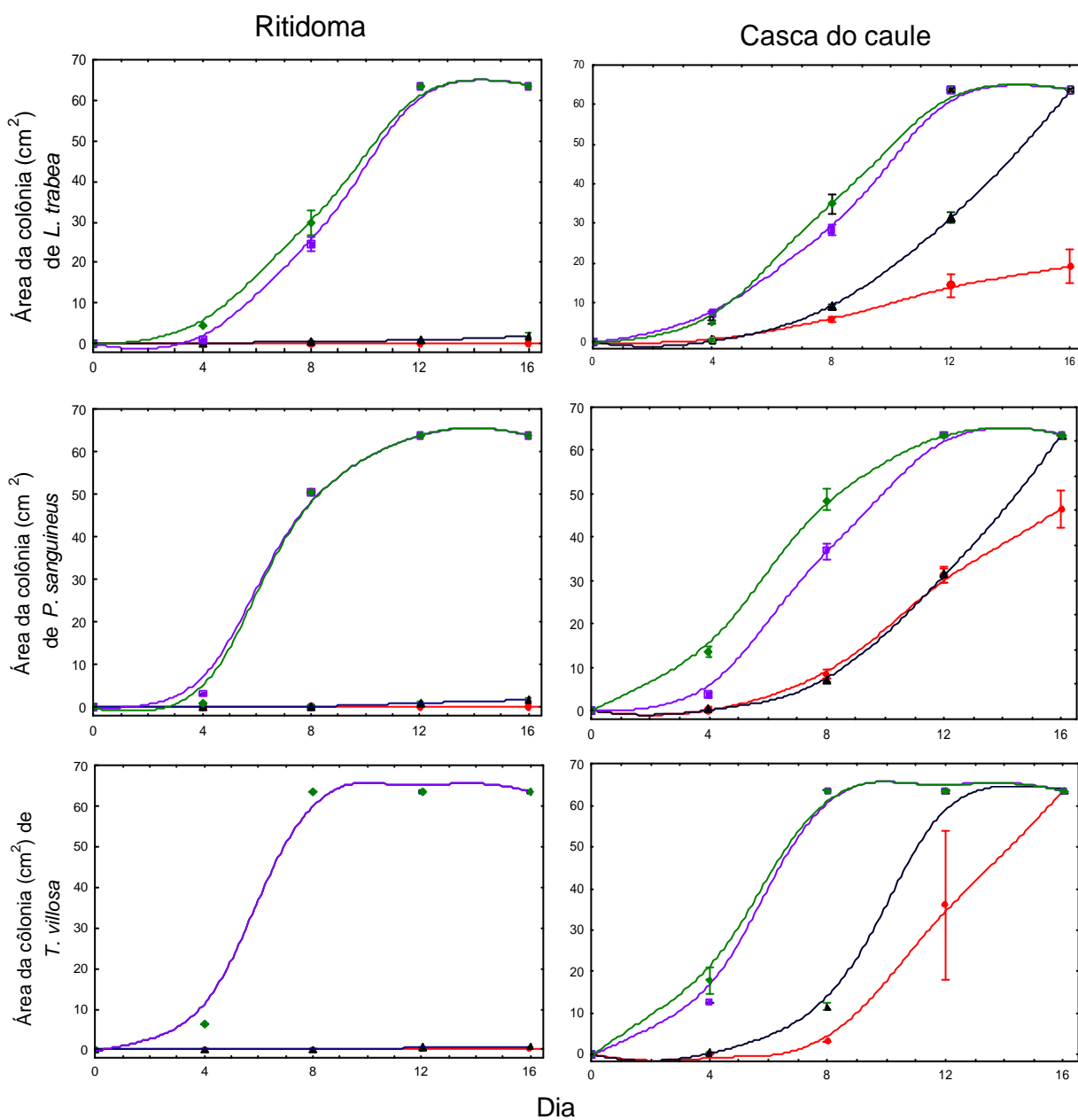
**Figura 7.** Efeito das concentrações (●, 0,1; ■, 0,01; ▲, 0,001; ◆, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico obtido do fruto de *S. laevicarpa* sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio padrão em relação às médias das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco repetições.



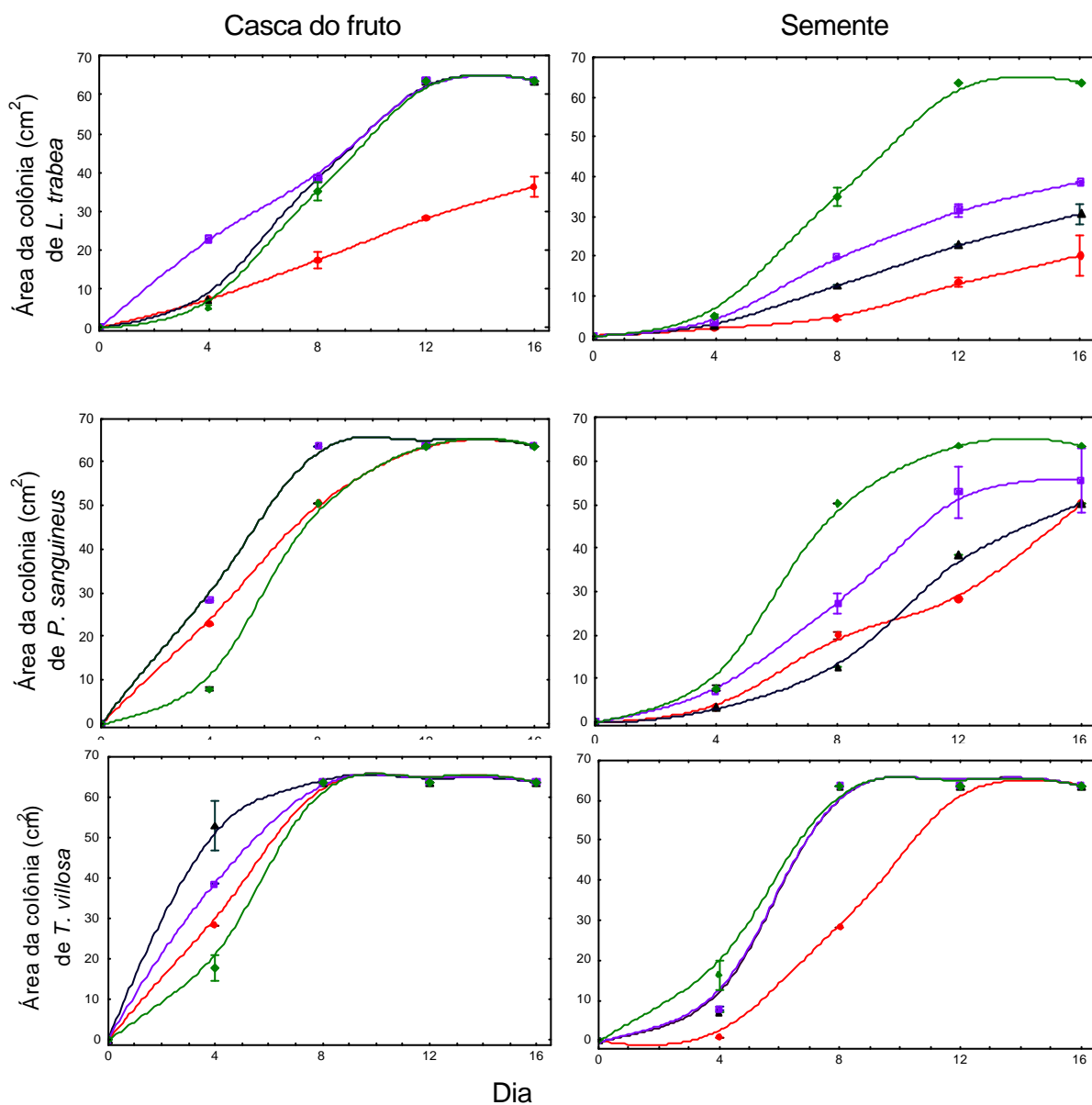
**Figura 8.** Efeito das concentrações (●, 0,1; ■, 0,01; ▲, 0,001; ◆, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico obtido da casca do caule de *S. polyphylla* sobre os basidiomicetos. As barras de desvio padrão em relação às médias das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco repetições.



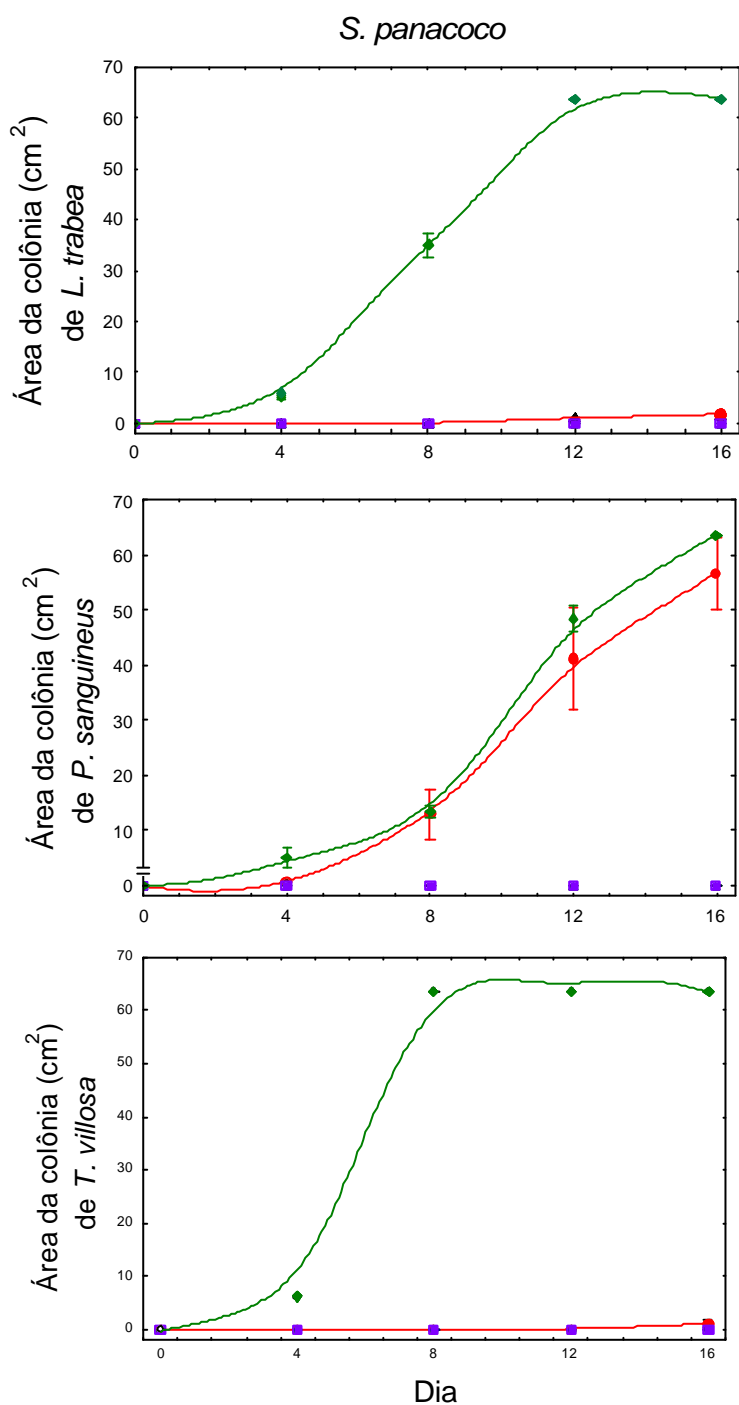
**Figura 9.** Efeito das concentrações (●, 0,1; △, 0,01; □, 0,001; ◇, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico obtido do fruto de *S. polyphylla* sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio padrão em relação às médias das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco repetições.



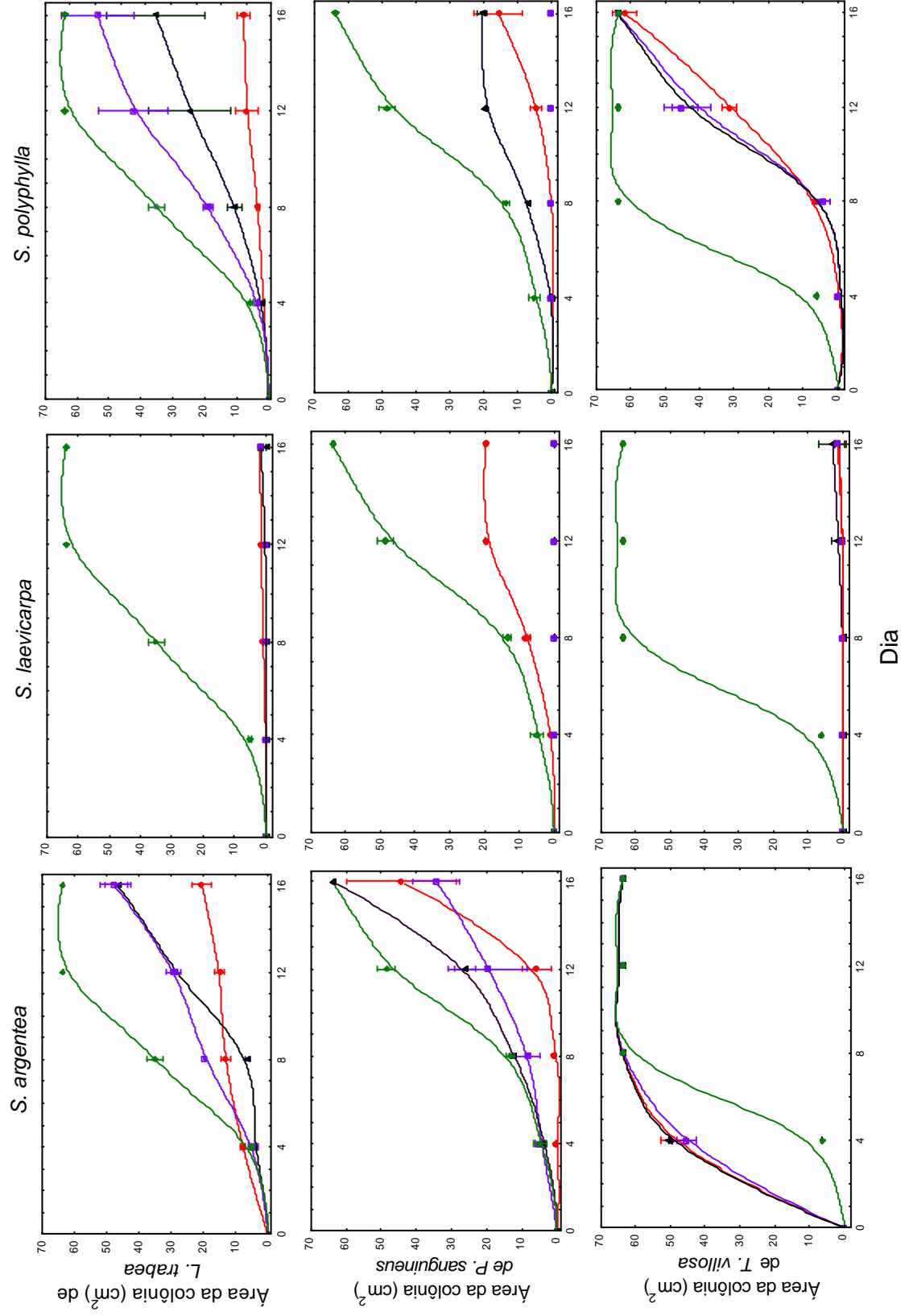
**Figura 10.** Efeito das concentrações (●, 0,1; ▲, 0,01; ■, 0,001; ◆, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico obtido da casca do caule de *S. sericea* sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio padrão em relação às médias das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco



**Figura 11.** Efeito das concentrações (●, 0,1; △, 0,01; □, 0,001; ◇, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico obtido do fruto de *S. sericea* sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio padrão em relação às médias das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco repetições.



**Figura 12.** Efeito das concentrações (●, 0,1; ◆, 0,01; ■, 0,001; □, 0,0 mg/mL) do extrato etanólico da casca do caule de *S. panacoco* obtido entre 40-45°C sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio do padrão em relação às médias das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco repetições.

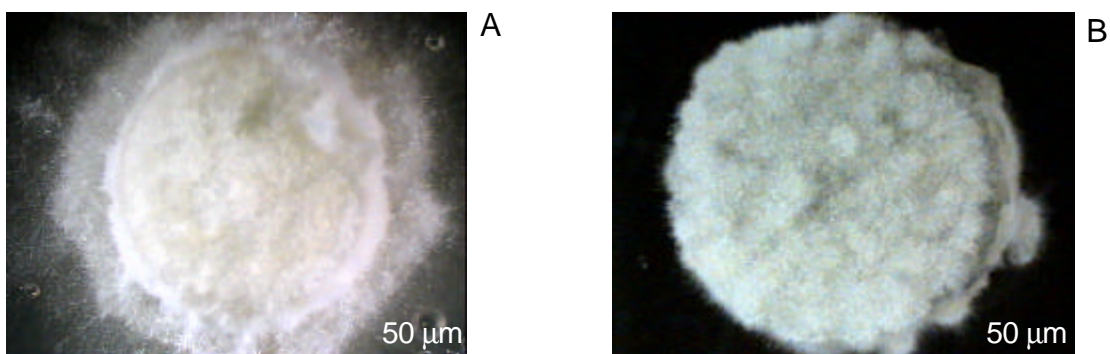


**Figura 13.** Efeito das concentrações (●, 0,1; □, 0,01; ◇, 0,001; ? , 0,001; ? , 0,0 mg/mL) do extrato etanólico da casca do caule de *Swartzia* spp obtido entre 70-80°C sobre os basidiomicetos. As barras representam o desvio padrão em relação às médias das colônias (cm<sup>2</sup>) dos fungos, para cinco repetições.

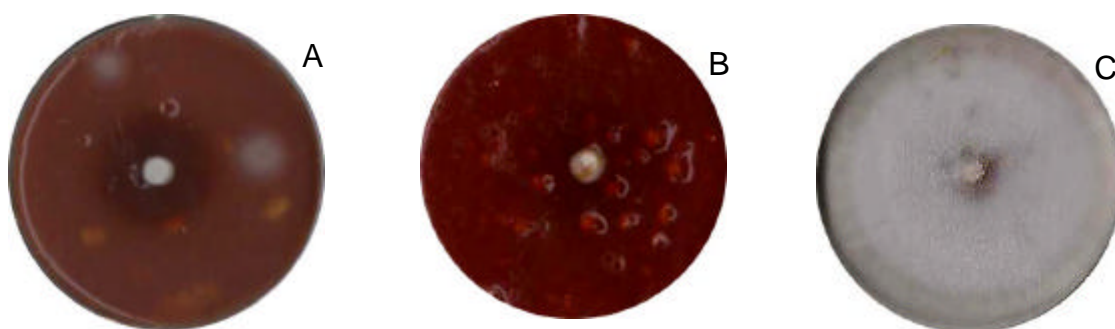
Os extratos obtidos do ritidoma de *S. argentea* e de *S. sericea* na concentração de 0,1 mg/mL aparentemente apresentam atividade fungistática (Figuras 4 e 10). No entanto, observou-se que as hifas das três espécies fúngicas em contato com os extratos do ritidoma, particularmente de *S. fungos* desintegraram totalmente (colapsadas) entre 48 e 72hs após a incubação (Figura 14 B). Também nas culturas com o extrato do ritidoma de *S. polyphylla* na concentração de 0,1 mg/mL, os inóculos dos fungos secaram lentamente no decorrer de oito dias de incubação (Figura 15 B). Os inóculos destes fungos observados visuais e sob lupa estereoscópica, sugerem que os extratos do ritidoma de *S. argentea*, *S. sericea* e de *S. polyphylla* apresentam potencial fungicida “*in vitro*” pois os fungos morreram em poucos dias.

O método ágar-placa tem sido amplamente utilizado na determinação do potencial fungicida de extratos etanólicos tanto de origem vegetal como animal por ser preciso, econômico e reprodutível e além disso, a atividade antifúngica pode ser determinada pela simples medição da área (cm<sup>2</sup>) da colônia, cujos valores podem ser representados em curva de crescimento do fungo. Também, a curva de crescimento é um parâmetro que possibilita verificar os diferentes comportamento miceliais dos fungos, sob o efeito de cada concentração do extrato e a sensibilidade dos fungos, o tempo de desenvolvimento de cada espécie de fungo frente a cada extrato, dentre outros fatores (ARCHER et al., 1995, p.88). Entretanto, na curva de crescimento estão representados os valores indicativos para o desenvolvimento micelial de cada espécies fúngica sob o efeito de cada concentração do extrato, como também para outros fatores como meio de cultura, características do extrato, solventes, dentre outros fatores que possivelmente tenham interferido na atividade antifúngica do extrato, de modo que estes fatores podem ser considerados na interpretação da curva de crescimento do fungo (MELETIADIS et al., 2001, p.478).

O crescimento das três espécies de fungos foi crescente para as concentrações menores dos extratos etanólicos de diferentes partes de *Swartzia* spp (Figuras 4;5;6;7;8;9;10;11;12 e 13), sendo que os fungos cresceram sem restrições, bem como expressam suas características fenotípicas. Provavelmente, as condições experimentais do ensaio com os extratos não tenham interferido



**Figura 14.** Aspecto do inóculo de *T. villosa* em meio de cultura sólido com extrato etanólico do ritidoma de *S. sericea* na concentração de 0,1mg/mL. A: hifas em início de degradação (colapsando-se); B: hifas totalmente degradadas.



**Figura 15.** Aspecto do inóculo de *T. villosa* em meio de cultura sólido com extrato etanólico do ritidoma de *S. polyphylla* na concentração de 0,1mg/mL. A: inóculo recém inoculado; B: inóculo seco após 48 hs; C: extrato etanólico do ritidoma de *S. polyphylla* na concentração de 0,001mg/mL, o fungo cresce normalmente.

significativamente no desenvolvimento micelial dos fungos. No entanto, alguns fatores como: a solubilidade diferente de cada extrato avaliado (os extratos do ritidoma e da casca do caule são menos solúveis em água, neste caso o etanol foi usado para minimizar a solubilidade dos mesmos); presença de espuma nas soluções dos extratos etanólicos, principalmente da casca do caule de *S. polyphylla* e da semente de *Swartzia* spp quando acrescentadas ao meio de cultura, o que dificultou o vertimento do meio de cultura, como também produziu cavidades no meio de cultura, após a solidificação do mesmo (Figura 15 A e B); o

sulfóxido de dimetila (DMSO) usado para evitar a coagulação do meio de cultura com o extrato, são fatores que poderiam estar relacionados com a diferença no IAF entre 97% e 100% dos extratos do ritidoma de *S. sericea* para as três espécies de fungos e do extrato de *S. laevicarpa* frente a *T. villosa* (Tabela 9) e nos extratos obtidos da casca do caule de *S. panacoco* e de *S. laevicarpa* frente a *L. trabea* (Tabela 10).

## 2.4. Conclusões

Os extratos etanólicos obtidos de *Swartzia argentea*, *S. laevicarpa*, *S. panacoco*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* à temperatura entre 40-45°C apresentaram rendimento menor e os extratos hexânicos das sementes apresentaram rendimento inferior a 1%. Os extratos etanólicos da casca do caule de *Swartzia* spp obtidos à temperatura entre 70-80°C apresentaram maior rendimento, o que pode ser resultante da extração de mais constituintes químicos ou de modificação nos mesmos. Portanto, a temperatura contribue para maior extração dos constituintes da planta.

Os extratos obtidos da casca do fruto de *S. laevicarpa* e *S. sericea* são solúveis em água e, ou, em etanol, particularmente, os extratos de *S. laevicarpa* que apresentam 100% de solubilidade em água, enquanto que o extrato da casca do caule e do ritidoma das demais espécies de *Swartzia* são menos solúveis, mesmo em etanol, especialmente, os evaporados à temperatura entre 70-80°C. A solubilidade dos extratos etanólicos difere tanto para cada parte da planta como para cada espécie de *Swartzia*, e também varia de acordo com a temperatura da extração. O pH entre 4,0 e 5,3 encontrado nos extratos obtidos do ritidoma, casca do caule, da casca do fruto e da semente de *Swartzia argentea*, *S. laevicarpa*, *S. panacoco*, *S. polyphylla* e de *S. sericea*, pode ser um indicativo da predominância de substâncias de caracter ácido

Os fungos *L. trabea*, *P. sanguineus* e *T. villosa* apresentam menor variabilidade micelial frente aos extratos dos ritidomas de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco*. A maior variabilidade no crescimento micelial é observada para os fungos em contato com as concentrações menores dos extratos, principalmente, os obtidos das cascas do caule e do fruto, e das sementes, independentemente da espécie de *Swartzia*. Esses dados indicam que provavelmente a variabilidade no crescimento micelial do fungo deve ser

minimizada pela potencialidade antifúngica do extrato, mesmo nas concentrações menores.

Cada espécie de fungo apresenta crescimento micelial diferente para cada concentração do extrato, independentemente da parte da planta e da espécie de *Swartzia*, sendo que *L. trabea* demonstrou ser mais sensível aos extratos testados, apresentando, em geral, crescimento diferenciado para cada concentração, principalmente nas concentrações maiores dos extratos etanólicos.

Os inóculos de *L. trabea*, *P. sanguineus* e de *T. villosa* tornaram-se inviáveis em culturas com os extratos obtidos dos ritidomas de *S. argentea* e de *S. sericea* na concentração de 0,1 mg/mL. O mesmo comportamento ocorreu com os inóculos incubados com o extrato do ritidoma de *S. polyphylla* na concentração de 0,1 mg/mL. Esses dados sugerem a presença de constituinte(s) fungicida(s) (letais) no ritidoma destas espécies de *Swartzia* aos fungos degradadores de madeira.

Estatisticamente, constata-se diferenças significativas no crescimento micelial dos fungos *L. trabea*, *P. sanguineus* e de *T. villosa*, para as três concentrações dos extratos obtidos do ritidoma, das cascas do caule e dos frutos e das sementes, durante o período de incubação. Pode-se inferir que os extratos etanólicos têm efeito significativo sobre às três espécies de fungos, particularmente os extratos obtidos dos ritidomas e da casca do caule de *S. panacoco* que têm efeito altamente significativo sobre os fungos degradadores de madeira.

O índice antifúngico de 100% foi constatado para os fungos *L. trabea*, *P. sanguineus* e de *T. villosa* nos extratos do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* na concentração de 0,1 mg/mL e para o extrato da casca do caule de *S. panacoco* nas concentrações de 0,01 e 0,001 mg/mL. O extrato da casca do caule de *S. laevicarpa* obtido à temperatura entre 70-80°C na concentração de 0,01 mg/mL apresentou também o índice antifúngico de 100% para *P. sanguineus* e para *L. trabea*. Estes índices demonstram que os extratos etanólicos do ritidoma

de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* têm efeitos significativos aos fungos degradadores de madeira, principalmente para *L. trabea*, causador de podridão parda. Esses dados recomendam estudos posteriores sobre química e durabilidade da madeira de *Swartzia panacoco* e de *S. sericea*.

## 2.5. Referências

ABDEL-KADER, M.S.; BAHLER, B.D.; MALONE, S.; WEKHOVEN, M.C.M.; WISSE, J.H.; NEDDERMANN, K.M.; BURSUKER, I.; KINGSTON, D.G.I. Bioactive saponins from *Swartzia schomburgkii* from the Suriname rainforest. **Journal of Natural Products**, Washington, v.63, n.11, p.1461-1464, 2000.

ARCHER, K., NICHOLAS, D.D., SCHULTZ, T.P. Screening of wood preservatives: comparison of the soil-block, agar-block, and agar-plate tests. **Forest Products Journal**, Madison, v.45, n.1, p.86-89, 1995.

BOREL, G.G.; HOSTETTMANN, K. Molluscicidal saponins from *Swartzia madagascariensis* **Helvetica Chemica Acta**, Weinheim, v.70, p.570-577, 1987.

BOREL, G.G.; GUPTA, M.P.; HOSTETTMANN, K. Molluscicidal saponins from *Swartzia simplex*. **Phytochemistry**, Oxford, v.26, n.10, p.2685-2689, 1987.

BRAZ FILHO, R.B.; MORAES, M.P.L.; GOTTLIEB, O.R. Pterocarpans from *Swartzia laevicarpa*. **Phytochemistry**, Oxford, v.19.n.9, p.2003-2006, 1980.

CAVALCANTI, M.A.Q. Basidiomicetos poliporóides destruidores de madeira em serrarias do Recife. **Revista Pemanbucana de Tecnologia**, Recife, v.3, n.3, p.83-87, 1983.

COUTO, C. L., FORTIN, Y.; KAMDEM, D.P.; COUTO, L. Potencial fungicida dos extrativos em água quente da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) no extrato bruto e combinados aos ions  $Fe^{+++}$  e  $Al^{+++}$ . Parte III. Bioensaios sobre a madeira verde. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.24, n.1, p.105-113, 2000.

CROMBIÉ, L.; HAM, P.J.; WHITING, D.A. Sapogenin of the termite-repellent fruit of *Swartzia madagascariensis*. **Chemistry and Industry**, London, v.6, p.176-177, 1971.

DUBOIS, J.L.; SNEDEN, A.T. Ferreirinol, a new 3- hydroxyisoflavonone from *Swartzia polyphylla*. **Journal of Natural Products**, Washington, v.59, p.902-903, 1996.

DUBOIS, J.L.; SNEDEN, A.T. Dihydrolicoisoflavone, a new isoflavonone from *Swartzia polyphylla*. **Journal of Natural Products**, Washington, v.58, p.629-632, 1995.

FERGUSON, I.K.; SKAVARLA, J.J. Pollen morphology of the tribe Swartziae (subfamily Papilionoideae; Leguminosae). 1. Introduction and all genera excluding *Aldina* and *Swartzia*. **American Journal of Botany**, Ithaca-N.Y, v.75, n.12, p.1884-1897, 1988.

HEGNAUER, R. **Chemotaxonomie der pflanzen. Leguminosae, Caesalpinioideae und Mimosoideae**. Berlin: Birkhäuser Verlag.1996. cap.11b1. 497 p.

HOSTETTMANN, K.; WOLFENDER, J.L. The search for biologically active secondary metabolites. **Pesticide Science**, Oxford, v.51, n.4, p.471-82, 1997.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA. INPA. Estudo de leguminosas florestais da Amazônia Central como fonte potencial de matéria-prima para uso tecnológico. Manaus:INPA, 1998. 11p. INPA/PPI2-3360

INPA. **Catálogo de madeiras da Amazônia**. Manaus:INPA/CNPq, 1991. 162p.

INSTITUTO BRASILEIRO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS RENOVÁVEIS. IBAMA. **Plano de manejo da estação ecológica de Anavilhanas**. Brasília, 1999. 200p.

JESUS, M.A.; WILLERDING, A.L.; SANTOS, M.; WOLTER, E.L. Atividade antifúngica de extratos obtidos de plantas medicinais amazônicas à fungos apodrecedores de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa-MG,v.24, n.2, p.223-228, 2000.

JESUS, M.A. Contribution to the knowledge of wood-rotting fungi in Brazil: 1. Occurrence and distribution of fungi on different substrates from the Manaus region. Amazonas States. **International Research Group on Wood Preservation**, Stockholm, 1991. 21p.

JESUS, M.A.; LIMA, R.P.; RIBEIRO, M.N.S.; MARQUES, M.F.S.; AREVALDO, A. G.A. Avaliação da toxicidade de extratos isolados de espécies de Burseraceae à fungos xilófagos. Part. I. **Boletim Técnico da Associação Brasileira de Preservação de Madeira**. ABPM, São Paulo, v.76, 7p., 1994.

JESUS, M.A.; MORAES, J.M.; SOUZA-BREU, L.; CARDIAS, F.C. Durabilidade natural de 46 espécies de madeiras amazônicas em contato com o solo em ambiente florestal. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v.54, p.79-89, 1998.

JIMÉNEZ, G.; HASEGAWA, M.; RODRIGUEZ, M.; ESTRADA, O.; MÉNDEZ, J.; CASTILLO, A.; GONZALES-MUJICA, F.; MOTTA, N.; VÁSQUEZ, J.; ROMERO-VECCHIONE, E. Biological screening of plants of the Venezuelan Amazons. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v.77, n.1, p.77-83, 2001.

LOPEZ, G.A.C.; MILANO, S. Avaliação da durabilidade natural da madeira e de produtos usados na sua proteção. In: LEPAGE, S. E. (Cord). **Manual de preservação de madeira**. São Paulo: IPT, 1986, v.2, cap.10, p.473-521.

LWAMBO, N.J.S.; MOYO, H.G. The molluscicidal activity of seed pods of *Swartzia madagascariensis* on *Marisia cornuarietis*. **East African Medical Journal**, Nairobi, v.68, n.10, p.827-830, 1991.

MAGALHÃES, A.F.; TOZZI, A.M.A.; SANTOS, C.C.; MAGALHÃES, E.G. Novos diterpenóides isocumarínicos identificados em *Swartzia langdorffii*. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 12, Poços de Caldas. **Anais..** São Paulo: SBQ, 2000. v.2, p.79.

MARSTON, M.A.; MAILLARD, M.; HOSTETTMANN; K. Search for antifungal, molluscicidal and larvavical compounds from African medicinal-plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford v.38, n.2-3, p.215-23, 1993.

MATHEUS, D.R. Bioremediação de solos contaminados com compostos organoclorados e biodegradação de hexclorobenzeno por basidiomicetos brasileiros. 1998.161f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

MELETIADIS, J.; MEIS, J.F.M.; MOUTON, J.W.; VERWEIJ, P.E. Analysis of growth characteristics of filamentous fungi in different nutrient media. **Journal Clinical Microbiological**, Washington, p.478-84, 2001.

NAGY, Z., NÓGRÁDI, M.; SRÁNYI, M.; SZABÓ, B. Synthesis of the pterocarpan constituents of *Swartzia laevicarpa*. **Liebigs Annalen der Chemie**, Deerfield Beach, p127-132, 1984.

NASCIMENTO, C.S. Efeito de extrativos obtidos de espécies florestais impregnados em madeira de *Simaruba amara* (marupá) e submetidos ao ataque de *Nasutitermes* sp. (Isoptera; Termitidae). In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTIFICA PIBIC/INPA/CNPq, 8; Manaus. **Anais..** Manaus: Imprensa Universitária da FUAM,1999, p.233.

NASCIMENTO, C.S. Avaliação de propriedades termicidas de extrativos de madeiras amazônicas quanto ao ataque de *Nasutitermes* sp. (Isoptera, Termitidae). 2001. 55f. Trabalho de Conclusão (Curso de Engenharia Florestal), Instituto de Tecnologia da Amazônia, UTAM, Manaus.

OSAWA, K.; YASUDA.H.; MARUYAMA,T.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H. Isoflavonones from the heartwood of *Swartzia polyphylla* and their antibacterial activity against cariogenic bacteria. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v.40, n.11, p.2970-2974, 1992.

RICHTER, H.G.; MAZZONI-VIVEIRO, S.C.; ALVES, E. S.; LUCHI, A. E.; COSTA C.C. Padronização de critérios para a descrição anatômica da casca: lista de características e glossário de termos. **Instituto Florestal**. Série. Registro, São Paulo,v.16, p.25, 1996.

RODRIGUES, E. Etnofarmacologia no Parque Nacional do Jaü, Am. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.1, n.1, p.1-4,1998.

RÖSECKE, J.; KÖNIG, A.W. Constituentes of various wood-rotting basidiomycetes. **Phytochemistry**, Oxford, v.54, p.603-610, 2000.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praquicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariuna: Embrapa. 1998, 46p.

SANCHEZ, C.S.; ROCHA, A.F.I.; PINHEIRO, M.L.B.; ANDRADE, C.H.S.; MONTE, F.J.Q. Brachyrachisina: isoflavona inédita de *Swartzia* (Leguminosae). **Acta Amazonica**, Manaus, v.29, n.3, p.419-422, 1999.

SCHALLER, F.; RAHALISON, L.; ISLAM, N.; POTTERAT, O.; HOSTETTMANN, K. A. new potent antifungal "quinone methide diterpene with a cassane skeleton from *Bobgunnia madagascariensis*. **Helvetica Chemica Acta**, Weinheim, v.83, p.407-413, 2000.

SCHULTERS, R.E. De plantis-toxicaris e mundo-novo-tropicale-commentationes, 20 medicinal and toxic uses of *Swartzia* in the Northwest amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v.1, n.1, p.79-87, 1979.

SECRETARIA ESPECIAL DO MEIO AMBIENTE. SEMA. **Programas das Estações Ecológicas**. Brasília, 1977. 42p.(Série, Meio Ambiente, n.2)

SIMÕES, J.C.; BERG, M.E.; SERRUYA, H. Estudo químico prévio de leguminosas da Amazônia brasileira. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v.69, n.4, p.87-94, 1988.

SOUZA, L.A.G.; SILVA, M.F. Bioeconomical potential of Leguminosae from the lower negro river, Amazon, Brazil. In: BUSSMANN, R.W.; LANGE, S. (Ed.) In: International Congress of Biodiversity. 2001. Cusco: Proceeding of Congress of Biodiversity en los Andes y la Amazonía. Cusco: Inka. v.1, CD-ROM.

TEIXEIRA, L.M.; JESUS, M.A. Avaliação da toxicidade de extrativos da pupunha (*Bactris Gasipaes*) Kunth à fungos xilófagos. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTIFICA PIBIC/INPA/CNPq, 6, Manaus. **Anais..** Manaus: Imprensa Universitária da FUAM, 1997. p.119-120.

## Apêndice B

**Tabela 1.** Área da colônia (cm<sup>2</sup>) dos fungos em contato com três concentrações do extrato etanólico obtido de diferentes partes de *Swartzia* spp a temperatura entre 40-45°C

Planta	Fungo	Concentração mg/mL	Parte da planta																			
			Ritidoma						Casca do caule						Casca do fruto						Semente	
			4	8	12	16	4	8	12	16	4	8	12	16	4	8	12	16	4	8	12	16
<i>S. argentea</i>	<i>Lenzites trabea</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	0,79	5,80	8,51	0,79	0,85	3,14	7,07	0,79	0,85	3,14	7,07	0,79	3,55	6,26	10,60
		0,01	0,79	2,41	3,83	18,05	0,79	4,52	22,90	37,32	0,50	3,14	10,45	26,85	3,54	6,86	19,45	28,27	3,54	6,86	19,45	28,27
		0,001	2,69	19,04	63,62	63,62	4,42	28,27	63,62	63,62	7,07	33,84	63,62	63,62	2,78	12,57	50,32	63,62	2,78	12,57	50,32	63,62
		0,0	4,52	29,67	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62
	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	12,57	50,27	63,62	15,21	50,27	63,62	63,62	0,79	4,90	19,96	50,27	0,79	4,90	19,96	50,27
		0,01	0,00	0,79	3,14	19,64	0,50	12,57	63,62	63,62	3,14	28,27	50,27	63,62	0,79	13,17	23,36	28,27	0,79	13,17	23,36	28,27
		0,001	0,79	45,36	63,62	63,62	12,57	50,27	63,62	63,62	5,12	46,30	63,62	63,62	4,85	43,20	63,62	63,62	4,85	43,20	63,62	63,62
		0,0	0,79	50,27	63,62	63,62	13,35	48,55	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62
	<i>Trametes villosa</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	3,14	48,85	63,62	28,27	63,62	63,62	63,62	3,14	16,81	63,62	63,62	3,14	16,81	63,62	63,62
		0,01	0,00	0,79	3,14	7,07	0,50	8,57	63,62	63,62	10,18	39,59	63,62	63,62	7,07	38,48	63,62	63,62	7,07	38,48	63,62	63,62
		0,001	6,16	63,62	63,62	63,62	12,57	63,62	63,62	63,62	22,90	63,62	63,62	63,62	13,45	63,62	63,62	63,62	13,45	63,62	63,62	63,62
		0,0	6,16	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62
<i>S. laeicarpa</i>	<i>Lenzites trabea</i>	0,1	0,00	0,79	0,79	0,79	0,00	0,00	0,79	3,14	7,07	10,68	27,91	63,62	1,46	4,31	10,22	16,42	1,46	4,31	10,22	16,42
		0,01	0,00	0,79	0,79	0,79	0,00	0,79	12,57	63,62	2,54	10,68	63,62	63,62	3,41	10,59	19,14	31,13	3,41	10,59	19,14	31,13
		0,001	0,00	0,79	0,79	0,79	3,14	22,90	63,62	63,62	12,57	26,55	63,62	63,62	3,54	18,22	50,27	63,62	3,54	18,22	50,27	63,62
		0,0	4,52	29,67	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62
	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	0,1	0,50	0,56	5,38	23,51	0,79	7,26	13,61	45,36	13,85	50,27	63,62	63,62	0,79	12,57	28,27	41,50	0,79	12,57	28,27	41,50
		0,01	0,20	0,49	11,71	32,22	1,54	35,18	63,62	63,62	7,07	19,64	63,62	63,62	3,42	20,67	50,27	50,27	3,42	20,67	50,27	50,27
		0,001	0,31	0,79	12,57	50,27	7,07	50,27	63,62	63,62	22,90	51,54	63,62	63,62	7,07	40,48	63,62	63,62	7,07	40,48	63,62	63,62
		0,0	0,79	50,27	63,62	63,62	13,35	48,55	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62
	<i>Trametes villosa</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,27	33,51	63,62	19,64	63,62	63,62	63,62	3,14	26,13	63,62	63,62	3,14	26,13	63,62	63,62
		0,01	0,00	0,00	0,79	0,79	3,14	22,90	63,62	63,62	7,07	22,90	63,62	63,62	7,07	33,48	63,62	63,62	7,07	33,48	63,62	63,62
		0,001	0,00	0,0	0,79	3,14	12,57	63,62	63,62	63,62	13,85	63,62	63,62	63,62	9,08	63,62	63,62	63,62	9,08	63,62	63,62	63,62
		0,0	6,16	63,62	63,62	63,62	6,16	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62

0,00 = meio de cultura sem extrato (controle)

Cont. Tab. 1. Área da colônia (cm<sup>2</sup>) dos fungos em contato com três concentrações do extrato etanólico obtido de diferentes partes de *Swartzia* spp na temperatura entre 40-45°C.

Planta	Fungo	concentração mg/mL	Parte da planta																				
			Ritidoma						Casca do caule						Casca do fruto						Semente		
			4	8	12	16	4	8	12	16	4	8	12	16	4	8	12	16	4	8			
<i>S. polyphylla</i>	<i>Lenzites trabea</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,79	12,57	38,48	-	2,54	10,76	26,13	38,48	0,00	0,79	2,67	4,61	0,00	0,79	2,67	4,61
		0,01	1,26	12,57	28,27	63,62	0,79	12,57	38,48	63,62	4,52	17,48	58,28	63,62	2,54	12,57	31,40	56,32	2,54	12,57	31,40	56,32	
		0,001	1,54	22,90	63,62	63,62	3,14	22,90	63,62	63,62	4,52	28,27	63,62	63,62	4,52	22,65	63,62	63,62	4,52	22,65	63,62	63,62	
		0,0	4,52	29,67	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	
	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,57	45,55	63,62	63,62	2,01	19,64	63,62	63,62	2,01	19,64	63,62	63,62	
		0,01	2,92	21,24	63,62	63,62	3,14	32,23	63,62	63,62	13,85	37,07	63,62	63,62	3,14	50,89	63,62	63,62	3,14	50,89	63,62	63,62	
		0,001	3,14	19,64	63,62	63,62	2,51	39,40	63,62	63,62	13,85	54,48	63,62	63,62	6,72	49,84	63,62	63,62	6,72	49,84	63,62	63,62	
		0,0	0,79	50,27	63,62	63,62	13,35	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	
	<i>Trametes villosa</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	3,14	6,80	13,85	38,48	3,14	47,36	63,62	63,62	1,54	6,13	63,62	63,62	1,54	6,13	63,62	63,62	
		0,01	1,87	25,82	63,62	63,62	0,79	3,50	12,57	45,74	7,07	48,81	63,62	63,62	11,60	63,62	63,62	63,62	11,60	63,62	63,62	63,62	
		0,001	4,09	63,62	63,62	63,62	12,57	50,27	63,62	63,62	15,53	63,62	63,62	63,62	11,84	63,62	63,62	63,62	11,84	63,62	63,62	63,62	
		0,0	6,16	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	
<i>S. sericea</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	5,83	14,24	19,04	7,07	17,26	28,27	36,35	2,01	4,54	13,35	20,17	2,01	4,54	13,35	20,17		
	0,01	0,00	0,64	0,79	1,86	0,50	8,98	31,58	63,62	7,07	38,48	63,62	63,62	2,56	12,57	22,90	30,62	2,56	12,57	22,90	30,62		
	0,001	0,79	24,66	63,62	63,62	7,08	28,27	63,62	63,62	22,90	38,48	63,62	63,62	3,14	19,64	31,39	38,48	3,14	19,64	31,39	38,48		
	0,0	4,52	29,67	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62		
<i>S. sericea</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,36	31,00	46,41	22,90	50,27	63,62	63,62	3,14	19,96	28,27	50,27	3,14	19,96	28,27	50,27		
	0,01	0,00	0,00	0,79	1,74	0,56	6,89	31,39	63,62	28,27	63,62	63,62	63,62	3,14	12,57	38,48	50,27	3,14	12,57	38,48	50,27		
	0,001	3,14	50,27	63,62	63,62	3,55	36,37	63,62	63,62	28,27	63,62	63,62	63,62	7,07	27,20	52,94	55,61	7,07	27,20	52,94	55,61		
	0,0	0,79	50,27	63,62	63,62	13,35	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62	7,02	50,27	63,62	63,62		
<i>S. sericea</i>	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,14	35,97	63,62	28,27	63,62	63,62	63,62	0,79	22,90	63,62	63,62	0,79	22,90	63,62	63,62		
	0,01	0,00	0,00	0,50	0,79	0,50	11,34	63,62	63,62	52,94	63,62	63,62	63,62	7,07	63,62	63,62	63,62	7,07	63,62	63,62	63,62		
	0,001	6,16	63,62	63,62	63,62	12,57	63,62	63,62	63,62	38,48	63,62	63,62	63,62	7,85	63,62	63,62	63,62	7,85	63,62	63,62	63,62		
	0,0	6,16	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62		

0,00 = meio de cultura sem extrato (controle)



**Tabela 2.** Área da colônia (cm<sup>2</sup>) dos fungos em contato com os extratos etanólicos da casca do caule de *Swartzia* spp obtidos nas temperaturas entre 40-45 °C e entre 70-80°C.

Parte da planta	Fungo	Concent. mg/mL	Espécie															
			<i>S. argentea</i> **				<i>S. laevicarpa</i> **				<i>S. panacoco</i> *				<i>S. polyphylla</i> **			
			4	8	12	16	4	8	12	16	4	8	12	16	4	8	12	16
	<i>Lenzites trabea</i>	0,1	7,80	13,23	14,96	21,22	0,00	0,79	1,48	1,85	0,00	0,00	1,05	1,77	1,55	3,31	6,69	7,75
		0,01	4,61	6,39	29,26	46,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,31	10,55	24,67	35,22
		0,001	4,72	19,64	29,00	47,74	0,00	0,00	0,00	1,62	0,00	0,00	0,00	0,00	3,14	18,89	42,43	53,46
Casca do caule	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	0,0	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62	5,11	34,98	63,62	63,62
		0,1	0,50	0,79	5,81	44,14	0,79	7,26	19,64	19,64	0,75	10,37	41,15	56,64	0,00	0,00	4,35	15,71
		0,01	0,79	8,31	17,88	34,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,07	19,64
	<i>Trametes villosa</i>	0,001	3,89	12,57	26,11	63,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		0,0	3,14	38,48	63,62	63,62	3,14	38,48	63,62	63,62	3,14	38,48	63,62	63,62	3,14	38,48	63,62	63,62
		0,1	49,22	63,62	63,62	63,62	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	1,02	0,00	6,80	31,48	61,70
		0,01	45,40	63,62	63,62	63,62	0,00	0,00	1,26	2,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,06	42,32	63,62
		0,001	50,27	63,62	63,62	63,62	0,00	0,00	0,00	1,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,93	45,47	63,62
		0,0	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62	17,82	63,62	63,62	63,62

0,00 = meio de cultura sem extrato (controle); \* Extração entre 40-45°C; \*\* Extração entre 70-80°C

**CAPÍTULO 2**

---

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE  
FRAÇÕES OBTIDAS DE *Swartzia argentea* Spruce ex  
BENTH., *S. laevicarpa* AMSHOFF, *S. panacoco* (AUBLET)  
COWAN, *S. polyphylla* DC. E DE *S. sericea* À FUNGOS  
DEGRADADORES DE MADEIRA SOBRE CCD  
(BIOAUTOGRAFIA)**

### **3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE FRAÇÕES OBTIDAS DE *Swartzia argentea* Spruce ex BENTH., *S. laevicarpa* AMSHOFF, *S. panacoco* (AUBLET) COWAN, *S. polyphylla* DC. E DE S. A FUNGOS DEGRADADORES DE MADEIRA SOBRE CCD (BIOAUTOGRAFIA)**

#### **3.1. Introdução**

A madeira em razão de sua importância econômica tem sido alvo das mais diversas tentativas de controle da degradação causada por fungos e por térmitas. Dentre os fungos, destacam-se os causadores da podridão branca e da parda. Os causadores da podridão parda são capazes de degradar, principalmente a celulose e a hemicelulose, resultando na perda da resistência e a madeira tende a colapsar parcialmente, como também ocorre formação de trincas paralelas e perpendiculares. Enquanto os fungos de podridão branca possuem um sistema enzimático que os tornam capazes de degradar, particularmente a lignina e ou celulose e hemicelulose, sendo que a madeira torna-se esponjosa, fibrosa ou laminada e com coloração esbranquiçada (OLIVEIRA et al.,1986, p.121-22).

Tratamentos preservantes de madeira podem ser uma excelente barreira contra os fungos xilófagos, no entanto, a efetividade das formulações químicas dos fungicidas tem sido modificada, com o propósito de conciliar os fatores: eficiência, permanência ou resistência à lixiviação, economia e segurança, principalmente as mudanças na resistência dos fungos. Todos estes fatores, ou pelo menos parte destes, aliados à poluição ambiental, contribuíram para o desenvolvimento de medidas preventivas e de produtos preservantes alternativos e ecológicos.

Dentre alguns produtos alternativos no controle da biodegradação da madeira, os constituintes bioativos, isolados de madeira altamente resistentes, produtos não madeireiros e de fungos com atividade antifúngica e, ou antitérmitas não tóxicos ao meio ambiente, vêm sendo explorados e propostos como preservantes ou no tratamento preventivo e efetivos aos fungos degradadores de madeira (REYES-CHILPA et al.,1997, p.110; ARORA; OHLAN, 1997, p.159; ONUORAH, 2000, p.171; COUTO et al., 2000, p.106; JESUS et al., 2000, p.224; VITAL et al., 2001; OJECHI, 2001, p. 561) dentre outros.

Nesta linha de pesquisa, os produtos naturais apresentam a grande vantagem da diversidade estrutural e muitos constituintes são formados por moléculas relativamente pequenas e que apresentam múltiplas propriedades farmacológicas e biotecnológicas. Além disso, os constituintes bioativos, muitas vezes, ocorrem em espécies próximas, o que permite o isolamento de um grande número de homólogos e obtenção de informações sobre estrutura e atividade. Aplicações de técnicas de análise combinatória vem sendo utilizadas para a identificação das substâncias bioativas (McCHESNEY, 1993, p.72-74).

Na busca por substâncias com atividade antifúngica e, ou, antitérmitas à organismos xilófagos, em Leguminosae da Amazônia Central (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA. INPA, 1998, p.6), a potencialidade antifúngica de *Swartzia*, principalmente do extrato etanólico do ritidoma de *S. argentea* Benth, *S. polyphylla* Ducke e de *S. sericea* Vog. e a da casca do caule de *S. panacoco* (Aublet) Cowan aos fungos xilófagos; *Pycnoporus sanguineus* (L.: Fr.) Murr., *Trametes villosa* (Fr.) Ryv. e *Lenzites trabea* Pers.:Fr., constatada por Jesus (2002, p.522), estaria dentro deste contexto. Os resultados justificam o investimento em bioensaios que permitem obter informações sobre o mecanismo de ação, avaliar a especificidade e seletividade da atividade antifúngica dos extratos em questão. Na maioria das vezes, os efeitos de antagonismo e sinergismo entre os constituintes químicos do extrato etanólico podem afetar a potencialidade bioativa dos mesmos. No fracionamento, pode ocorrer a diminuição da complexidade da mistura nas frações, ocasionando o aumento ou o decréscimo da bioatividade nas frações em relação a do extrato de origem. Também a potencialização da atividade biológica possa ser resultante de uma substância ou da combinação delas na fração ou nas frações.

Uma vez que todas estas informações estão disponíveis, pode-se identificar a(s) substância(s) bioativa(s), e compará-la(s) com os dados da biblioteca de constituintes químicos, visando a avaliação da atividade antifúngica “*in vivo*” conforme McChesney (1993, p.74).

Dentre os métodos de avaliação da atividade antimicrobiana de diversos antibióticos ou de constituintes químicos naturais, o ensaio de bioautografia, em fase preliminar, pode indicar a ação das substância(s) bioativa(s) sobre o

microrganismo em questão, a qual pode ser detectada pelo halo de inibição sobre o perfil cromatográfico químico de extrato ou de frações (BETINA,1973, p.41-51; SAXENA et al.,1995, p.125-29). Para os fungos degradadores de madeira (basidiomicetos) que apresentam características distintas dos fungos mitospóricos, não há ainda nenhuma metodologia normalizada para a bioautografia. Algumas adaptações foram necessárias à otimização do ensaio com basidiomicetos xilófagos, particularmente para os possíveis fatores experimentais que podem interferir na bioatividade do extrato. O presente trabalho teve como objetivos:

- Particionar os extratos etanólicos do ritidoma de *Swartzia argentea*, *S. polyhylla* e de *S. sericea* e o da casca do caule de *S. panacoco*;
- Caracterizar o perfil cromatográfico de cada fração obtida no particionamento dos extratos etanólicos de *Swartzia* spp;
- Otimizar o ensaio de bioautografia já utilizado para outros fungos, para os basidiomicetos degradadores de madeira, *P. sanguineus*, *T villosa* e *L. trabea*;
- Avaliar a atividade antifúngica de cada fração obtida de *Swartzia* spp frente aos fungos degradadores de madeira.

## **3.2. Material e Métodos**

### **3.2.1. Particionamento dos extratos etanólicos de *Swartzia* spp**

Em vista dos efeitos de antagonismos e sinergismo que podem ocorrer entre as substâncias do extrato etanólico, foram selecionados os extratos do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* que apresentaram o índice antifúngico maior ou igual a 70% para os fungos, *P. sanguineus*, *T villosa* e *L. trabea*, visando a fração com atividade antifúngica. Como houve dificuldade de se obter quantidade de material para extrato para o bioensaio, foram feitas várias extrações exaustivas. Para isso, o ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* foram colocados em etanol e submetidos à maceração com agitação. O extrato da casca do caule de *S. panacoco* foi obtido de outra casca, pois a usada anteriormente, estava contaminada pelo fungo *Paecilomyces* sp. A solução resultante da maceração de cada parte da planta foi então evaporada em rotavapor rotatório e o extrato obtido, foi previamente liofilizado.

No particionamento dos extratos etanólicos foi usada a extração com solventes de polaridade crescente conforme o método de partição líquido-líquido descrito por AMARAL (1996, p.231). Cada extrato etanólico foi suspenso na mistura de água:metanol (9:1) e a solução obtida foi extraída consecutivamente com hexano, diclorometano e por último com acetato de etila. Esse procedimento resultou em quatro frações; hexânica, diclorometano, acetato de etila e aquosa. Cada fase orgânica foi evaporada em rotavapor giratório à temperatura entre 40-45°C, em seguida a fração aquosa foi liofilizada.

### **3.2.2. Cromatografia de camada delgada (CCD) das frações de *Swartzia* spp**

Esta técnica favorece a separação de mistura de substâncias utilizando-se diferentes sistemas de eluentes e a revelação dos constituintes químicos ou das classe das substâncias presentes no cromatograma é efetuada sob lâmpada ultravioleta e por reveladores químicos. A análise preliminar da CCD de

substâncias provenientes de produtos naturais é um dos métodos mais utilizados para caracterizar as principais classes químicas presentes em extrato (WAGNER et. al.,1984, p.1).

As soluções das frações diclorometano obtidas da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea*, nas respectivas concentrações de 10,0; 5,5; 5,5 e 8,0 mg/μL foram aplicados na cromatofolha de gel de sílica GF<sub>254</sub> (Merck) com auxílio de uma micropipeta graduada de 0.5 μL. As substâncias foram separadas com o sistema de solventes diclorometano:acetato de etila (7:3) resultando bons perfis cromatográficos. A fase móvel butanol:etanol:água (4,0;1,1;1,9) foi usada na eluição da cromatofolha com as frações aquosas obtidas da casca do caule de *S. panacoco* e dos ritidomas de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* na concentração de 15,0 mg/μL. A fase móvel diclorometano:acetato de etila:metanol (5:3:2), acrescida de 0,01 mL de ácido acético, foi usada para separar as substâncias polares das frações acetato de etila da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* nas respectivas concentrações de 7,5; 15,0; 15,0, 7,5 mg/μL. As frações hexânicas apresentaram rendimentos insuficientes para o bioensaio.

O exame preliminar das classes químicas de cada fração foi efetuado nos cromatogramas borrifados com reveladores químicos vanilina/ácido sulfúrico em seguida aquecido lentamente à 110<sup>0</sup>C e difenilboriloxietilamina/polietileno glicol (NP/PEG) e visualizados sob lâmpada de UV a 365 nm, indicados para detectar as cores das classes químicas de extrato (WAGNER et. al.,1984). O revelador vanilina/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> foi utilizado para verificar a presença de terpenóides e esteróides (coloração rosa e roxa) e o NP/PEG para constatar a presença de flavonóides (coloração amarela ou coral fluorescente em UV a 365 nm). O revelador vanilina/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> identifica também a presença de taninos por uma coloração avermelhada. A presença de fluorescência azul intensa (lâmpada de UV a 365 nm) após revelação com NP/PEG indica substâncias fenólicas.

### 3.2.3. Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos e das frações de *Swartzia* spp

Primeiramente, a concentração mínima inibitória (MIC), ou seja a concentração mais baixa contida no extrato, na qual o fungo não cresce, foi determinada para os fungos degradadores da madeira, para estabelecer a menor concentração a ser aplicada no ensaio de bioautografia.

Os fungos *P. sanguineus* (LPM408) e *T. villosa* (LPM406), causadores severos de podridão branca e *L. trabea* (LPM368), da podridão parda foram usados no bioensaio. Todas as espécies ocorrem no Brasil, sendo que *T. villosa* com ocorrência maior nas madeiras no país. (CALVACANTI, 1983, p.86; JESUS, 1991, p.8, 1998, p.89) e a seleção das espécies dos fungos foi baseada na importância econômica e na linhagem de resistência e sensibilidade em ensaios de deterioração biológica acelerada de madeira em condições laboratoriais (LOPEZ; MILANO, 1986, p.485). As culturas dos fungos foram fornecidas pelo Laboratório de Patologia da Madeira/INPA e pela coleção de fungos do Instituto de Botânica/IBT/SP.

Primeiramente, o extrato etanólico da casca do caule de *S. panacocco* e do ritidoma de *S. polyphylla* nas concentrações de 25,0; 20,0; 17,5 e 15,0 mg/μL foram aplicados na cromatofolha de gel de sílica GF<sub>254</sub>, com as medidas de 5,0 x 1,5 cm, previamente autoclavada à temperatura de 120°C durante 15 minutos. A concentração mínima inibitória (MIC) foi avaliada em dois bioensaios. No primeiro, o meio de cultura foi vertido na placa de Petri, a cromatofolha com os extratos foi colocada sobre o meio sólido e inóculo de 4,0 mm de diâmetro foi colocado próximo da cromatofolha. No segundo bioensaio, o meio de cultura foi transferido suavemente, com auxílio de uma micropipeta na metade da placa de Petri de 10 cm de diâmetro. A cromatofolha com o extrato foi inserida bem próxima do meio solidificado, e o fungo foi inoculado sobre o meio de cultura.

As soluções das frações diclorometano, acetato de etila e aquosa da casca do caule de *S. panacocco* na concentração de 10,5 mg/μl, foram aplicadas na cromatofolha com as medidas 1,5 x 5,0 cm, previamente esterilizada. Após a solidificação do meio, a cromatofolha foi colocada sobre o meio, no centro da placa

de Petri, o fungo foi inoculado bem próximo da mesma. As culturas com as cromatofolhas com os extratos e as com as frações foram mantidas à temperatura de 25°C, com umidade relativa de 70%, sendo que o crescimento micelial dos fungos, foram observados nos dias 4; 8; 12 e 15 de incubação.

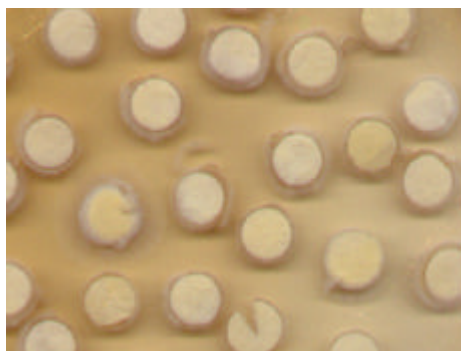
Os extratos etanólicos e das frações da casca do caule de *S. panacocco* e do ritidoma de *S. polyphylla* para concentração mínima inibitória baseou-se na quantidade disponível dos extratos.

#### **3.2.4. Avaliação da atividade antifúngica por bioautografia em CCD das frações obtidas de *Swartzia ssp***

Com o intuito de otimizar o ensaio de bioautografia, vários procedimentos foram adaptados e padronizados para os fungos degradadores de madeira (basidiomicetos) particularmente, tamanho da placa de Petri, tipo de inóculo, forma de inocular, aplicação da amostra e avaliação do halo de inibição dos fungos, visando obter a melhor condição experimental.

A padronização do inóculo dos fungos é de fundamental importância para a confiabilidade dos dados da sensibilidade ou de tolerância, partindo-se do princípio de que o bioensaio teve a finalidade de avaliar a ação antifúngica dos constituintes naturais presentes nas frações de *Swartzia spp*. Para isso, transferiu-se inóculos de 4,0 mm de diâmetro de *P. sanguineus*, *T. villosa* e de *L. trabea* de diferentes placas de Petri para meio de cultura agar-malte. As culturas foram mantidas a 25°C, com umidade relativa de 70%, até o início do crescimento micelial, como os de *L. trabea* ilustrados na Figura 1. Os inóculos com as características morfológicas fenotípicas da espécie e potencialmente viáveis foram selecionados para o bioensaio. Com isso, pretendeu-se eliminar interferências nas condições do inóculo, como também aumentar a possibilidade de obter representantes resistentes.

Para o ensaio de bioautografia, as cromatofolhas de gel de sílica GF<sub>254</sub> com medidas de 3 x10 cm foram esterilizadas em autoclave a 120°C durante 15 minutos. As cromatofolhas foram colocadas em placas de Petri de 15 cm esterilizadas e deixadas por 24 horas em câmara de fluxo laminar para remoção



**Figura 1.** Inóculo padronizado de *Lenzites trabea*

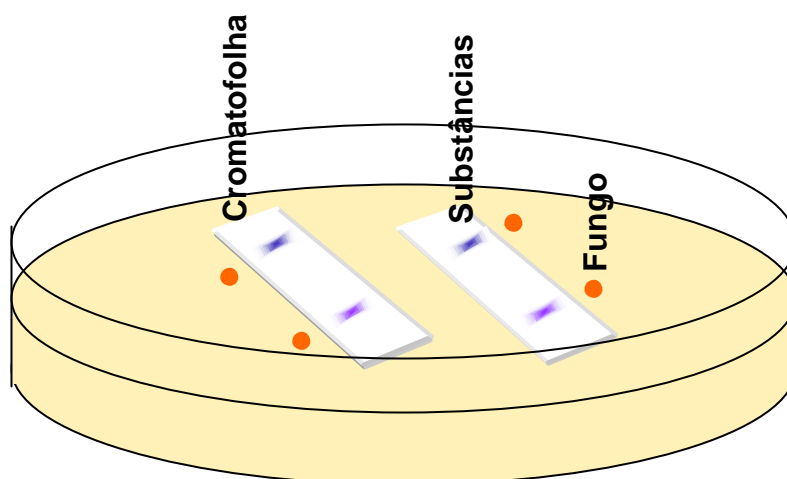
da água residual. As soluções das frações aquosas da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* na concentração de 15 mg/ $\mu$ L, foram aplicadas nas cromatofolhas totalmente secas com auxílio de uma micropipeta graduada de 0,5  $\mu$ L. As cromatofolhas foram então eluídas com o sistema de solventes butanol:etanol:água (4,0;1,1;1,9). As cromatofolhas com as frações acetato de etila da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* nas respectivas concentrações de 7,5; 15,0; 15,0 e 7,5 mg/ $\mu$ L foram eluídas com a fase móvel diclorometano:acetato de etila:metanol (5:3:2) acrescida de 0,01 mL de ácido acético. Enquanto que as cromatofolhas com as frações diclorometano da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* nas seguintes concentrações de 5,5, 10,0, 5,5 e 8,0 mg/ $\mu$ L, respectivamente, foram eluídas com a mistura dos solventes diclorometano:acetato de etila (7:3). Como houve dificuldade em se eluir a cromatofolha com concentração maior, usou-se a concentração e o volume de 10  $\mu$ L da solução que possibilitou melhor resolução do perfil cromatográfico dos constituintes de cada fração.

O perfil cromatográfico de cada fração, foi obtido em cromatofolha eluída com a mesma fase móvel da fração e, posteriormente, observada sob luz ultravioleta UV (365nm e 254nm). Após a análise em luz de ultravioleta, um cromatograma foi revelado com difenilboriloxietilamina/polietileno glicol (NP/PEG) e o outro com vanilina sulfúrica. Ambos cromatogramas foram fotografados, pois no

caso de ocorrer a formação de halo de inibição do fungo no cromatograma submetido à bioautografia, a comparação entre eles pode indicar a área na qual podem estar a(s) substância(s) bioativa(s).

As cromatofolhas com as frações a serem submetidas a bioautografia, foram eluídas em cuba cromatográfica esterilizada. Em seguida foram colocadas em placas de Petri de 15 cm esterilizadas. A comparação do perfil químico do cromatograma obtido para cada fração a ser testada, foi feita com o perfil químico (controle) sob luz ultravioleta UV (365nm e 254nm), Os cromatogramas foram deixados por 12 horas em câmara de fluxo laminar para remoção dos solventes.

O meio de agar-malte foi vertido na placa de Petri de 15 cm de diâmetro esterilizada, na quantidade suficiente para formar uma camada sólida de aproximadamente 6 mm de espessura. Duas cromatofolhas eluídas com a mesma fase móvel, após a evaporação dos solventes, foram suavemente colocadas sobre o meio à distância de pelo menos 2,5 cm uma da outra e distantes pelo menos 3,0 cm da borda da placa de Petri. Dois inóculos foram então colocados próximos a parte do cromatograma com melhor distribuição dos constituintes, com distância de pelo menos 5,0 cm um do outro (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema representando o ensaio de bioautografia em CCD de gel de sílica GF<sub>254</sub> adaptado para basidiomicetos xilófagos

Uma cromatofolha nas medidas 5,0 cm x 3,0 cm, eluída com a fase móvel que forneceu melhor perfil dos constituintes de cada fração foi usada como perfil químico (controle). As culturas com os cromatogramas e aquelas com cromatofolhas (controle), foram colocadas em estufa com temperatura de 25°C e umidade relativa de 70%, até o crescimento do micélio. As diferenças nas características miceliais dos fungos, principalmente o tempo de desenvolvimento do fungo sobre o cromatograma foram consideradas na avaliação; a presença ou a ausência do halo de inibição micelial, a qual foi feita no quarto dia para *P. sanguineus* e *T. villosa* e no sexto dia para *L. trabea*. Em situações específicas, a avaliação da inibição micelial estendeu-se até o décimo quinto dia de incubação.

Os solventes usados nas extrações e no particionamento das diferentes partes de *Swartzia* spp e nas cromatografias de camada delgada CCD foram de grau PA e destilados quando necessário.

### **3.3. Resultados e discussão**

As partições líquido-líquido dos extratos etanólicos do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* com solventes de polaridades crescentes forneceram as frações hexânica, diclorometano, acetato de etila e aquosa. A fração aquosa apresentou maior rendimento, enquanto, a hexânica o menor (Tabela1).

#### **3.3.1. Análise da cromatografia em camada delgada (CCD) das frações de *Swartzia* spp**

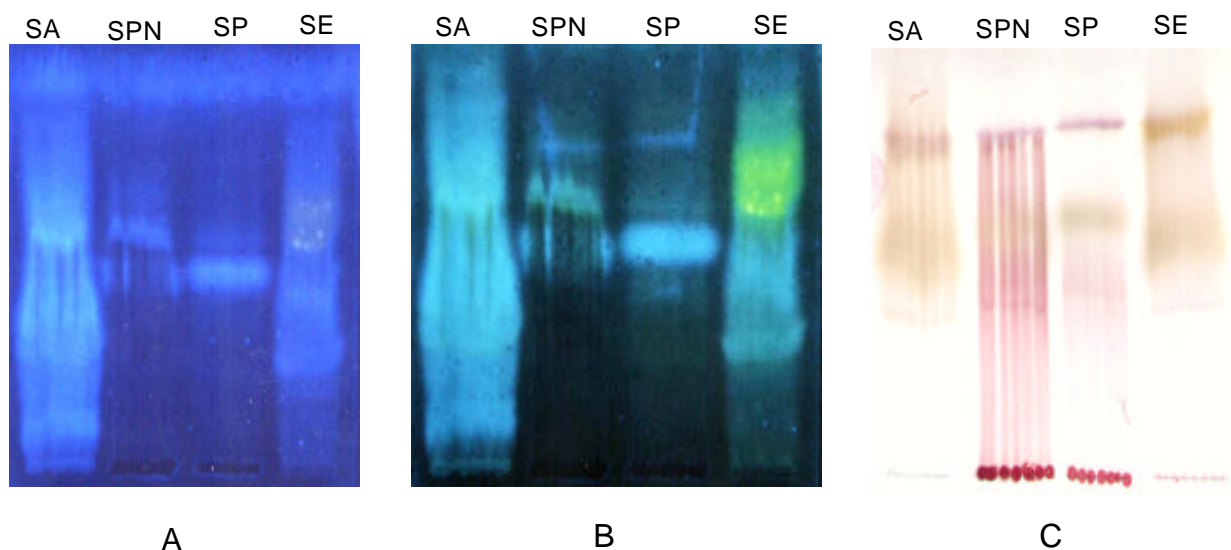
Comparando os perfis químicos das frações, observou-se que a fase móvel butanol:etanol:água (4,0;1,1;1,9) separou as substâncias da fração aquosa, entretanto, houve sobreposição e retenção de substâncias após a eluição, principalmente das frações obtidas da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. polyphylla*. A melhor separação dos constituintes foi obtida quando 10 µl da fração foi aplicado na base de 15 mm (Figura 3). O sistema de solventes diclorometano: acetato de etila:metanol (5:3:2), acrescido de 0,01 mL de ácido

**Tabela 1.** Quantidade das frações obtidas no particionamento dos extratos etanólicos obtidos de diferentes partes de *Swartzia* spp

<b>Espécie de Swartzia</b>	<b>Parte da Planta</b>	<b>Quantidade g</b>	<b>Fração</b>	<b>Quantidade g</b>
<b><i>S. argentea</i></b>	Ritidoma	2,7	Aquosa	0.713
			Acetato de etila	0.224
			Diclorometano	0.360
			Hexano	0.002
<b><i>S. panacoco</i></b>	Casca do Caule	3,0	Aquosa	1.434
			Acetato de etila	1.420
			Diclorometano	0.936
			Hexano	0.00
<b><i>S. polyphylla</i></b>	Ritidoma	3,5	Aquosa	0.301
			Acetato de etila	1.074
			Diclorometano	0.121
			Hexano	0.004
<b><i>S. sericea</i></b>	Ritidoma	2,5	Aquosa	1.054
			Acetato de etila	0.192
			Diclorometano	0.284
			Hexano	0.003

acético, permitiu a separação das substâncias da fração acetato de etila, sendo que as da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. sericea* apresentaram melhor perfil cromatográfico (Figura 4). A fase móvel diclorometano:acetato etila (7:3) forneceu boa resolução do cromatograma das frações diclorometano, com maior distribuição das substâncias, principalmente nas frações da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. argentea* (Figura 5).

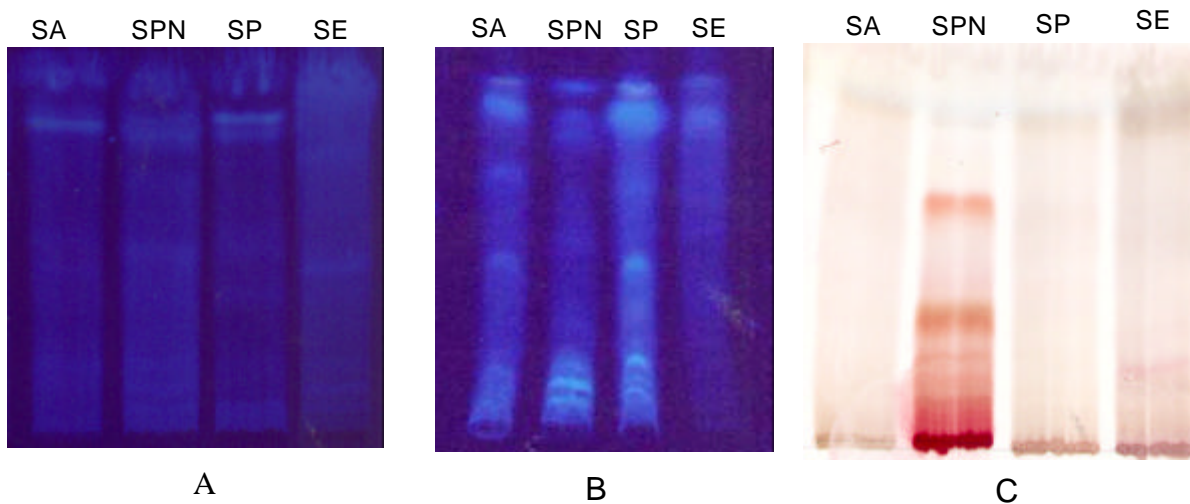
Os cromatogramas das frações diclorometano, obtidos após revelação com vanilina sulfúrica (aquecidos levemente à 110°C), sugerem a presença de terpenóides e esteróides (manchas de coloração rosa e roxa) em todas as espécies de *Swartzia*. A presença de flavonóides nessas frações foi caracterizada pelas manchas amarelo após a revelação com a vanilina sulfúrica e observação do perfil



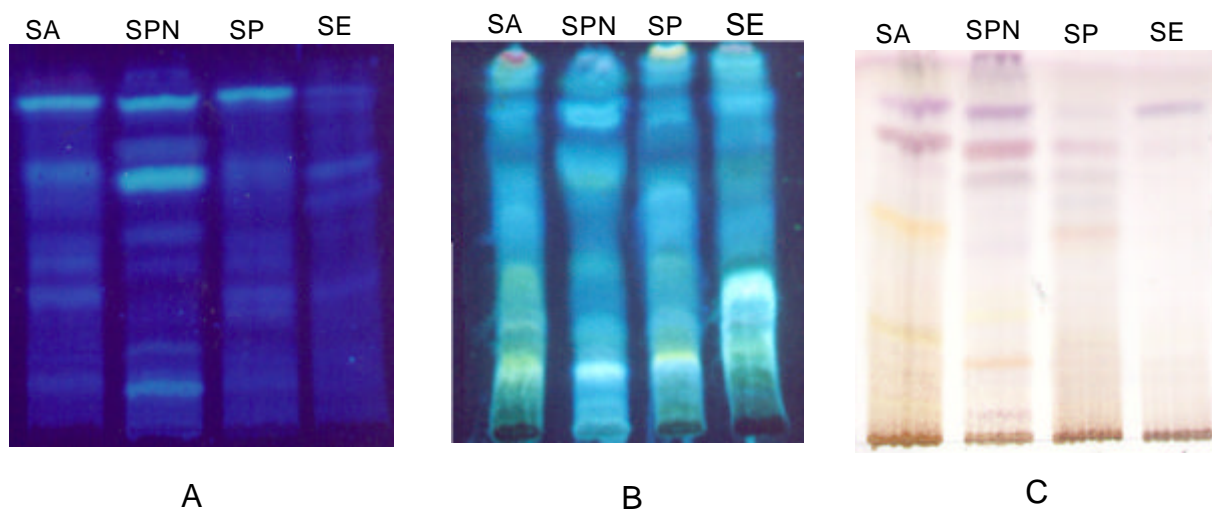
**Figura 3.** Perfil cromatográfico em CCD em cromatofolha de gel de sílica GF<sub>254</sub> da fração aquosa do ritidoma de *S. argentea* (SA), *S. polyphylla* (SP) e de *S. sericea* (SE) e da casca do caule de *S. panacoco* (SPN), A: cromatograma observado sob luz UV 365nm, B: cromatograma revelado com difenilboriloxietilamina/polietileno glicol (NP/PEG); C: cromatograma revelado com vanilina sulfúrica.

cromatografico em lâmpada UV (Figura 5). As frações acetato de etila da casca caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. sericea* apresentaram coloração avermelhada na base após a revelação com vanilina sulfúrica, sendo que na fração da casca do caule de *S. panacoco*, também apareceram manchas vermelhas intensas ao longo do cromatograma (Figura 4). Essa coloração é característica de taninos condensados (Wagner, 1984, p.183-4). As manchas de cor azul fluorescente após a revelação com (NP/PEG) indicam a presença de outras substâncias fenólicas (Figura 4). As manchas de cor azul fluorescente após a revelação com (NP/PEG) indicam a presença de outras substâncias fenólicas (Figura 4).

As frações aquosas de *S. argentea* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* também apresentaram manchas vermelhas após a revelação com vanilina sulfúrica e manchas amareladas (flavonóides) nas frações de *S. argentea* e de *S. sericea*. O cromatograma dessas frações aquosas revelado com NP/PEG e



**Figura 4.** Perfil cromatográfico em CCD em cromatofolha de gel de sílica GF<sub>254</sub> da fração acetato de etila do ritidoma de *S. argentea* (SA), *S. polyphylla* (SP) e de *S. sericea* (SE) e da casca do caule de *S. panacoco* (SPN), A: cromatograma observado sob luz UV 365nm; B: cromatograma revelado com difenilboriloxietilamina/polietileno glicol/NP/PEG; C: cromatograma revelado com vanilina sulfúrica.



**Figura 5.** Perfil cromatográfico em CCD em cromatofolha de gel de sílica GF<sub>254</sub> da fração diclorometano obtida do ritidoma de *S. argentea* (SA), *S. polyphylla* (SP) e de *S. sericea* (SE) e da casca do caule de *S. panacoco* (SPN), A: cromatograma observado sob luz UV 365nm; B: cromatograma revelado com difenilboriloxietilamina/polietileno glicol/NP/PEG; C: cromatograma revelado com vanilina sulfúrica.

visualizadas em UV a 365 nm apresentou coloração amarelo fluorescente para as frações do ritidoma de *S. argentea* e de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* confirmando a presença de flavonóides. Nessas frações aquosas foi observado maior interação das substâncias com a fase normal (gel de sílica) o que dificultou a separação e conseqüentemente a visualização dos constituintes (Figura 3).

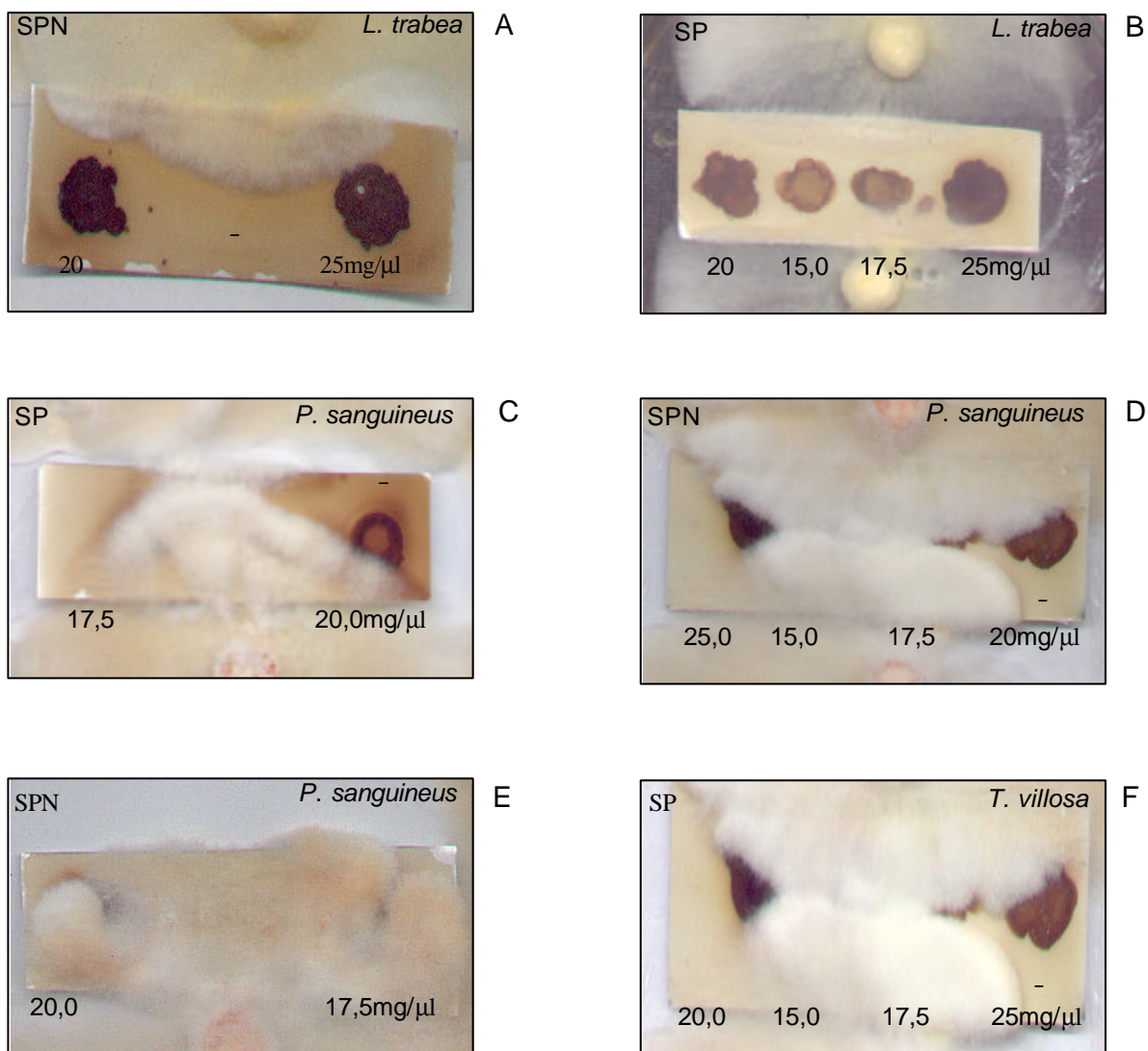
Também houve retenção de substâncias na base das frações diclorometano, acetato de etila e aquosa (Figuras 3; 4 e 5). A sobreposição das substâncias e a retenção das mesmas na base estão entre as desvantagens da bioautografia discutidas por Homans; Fuchs (1970, p.327).

### **3.3.2. Atividade antifúngica dos extratos e das frações de *Swartzia* spp**

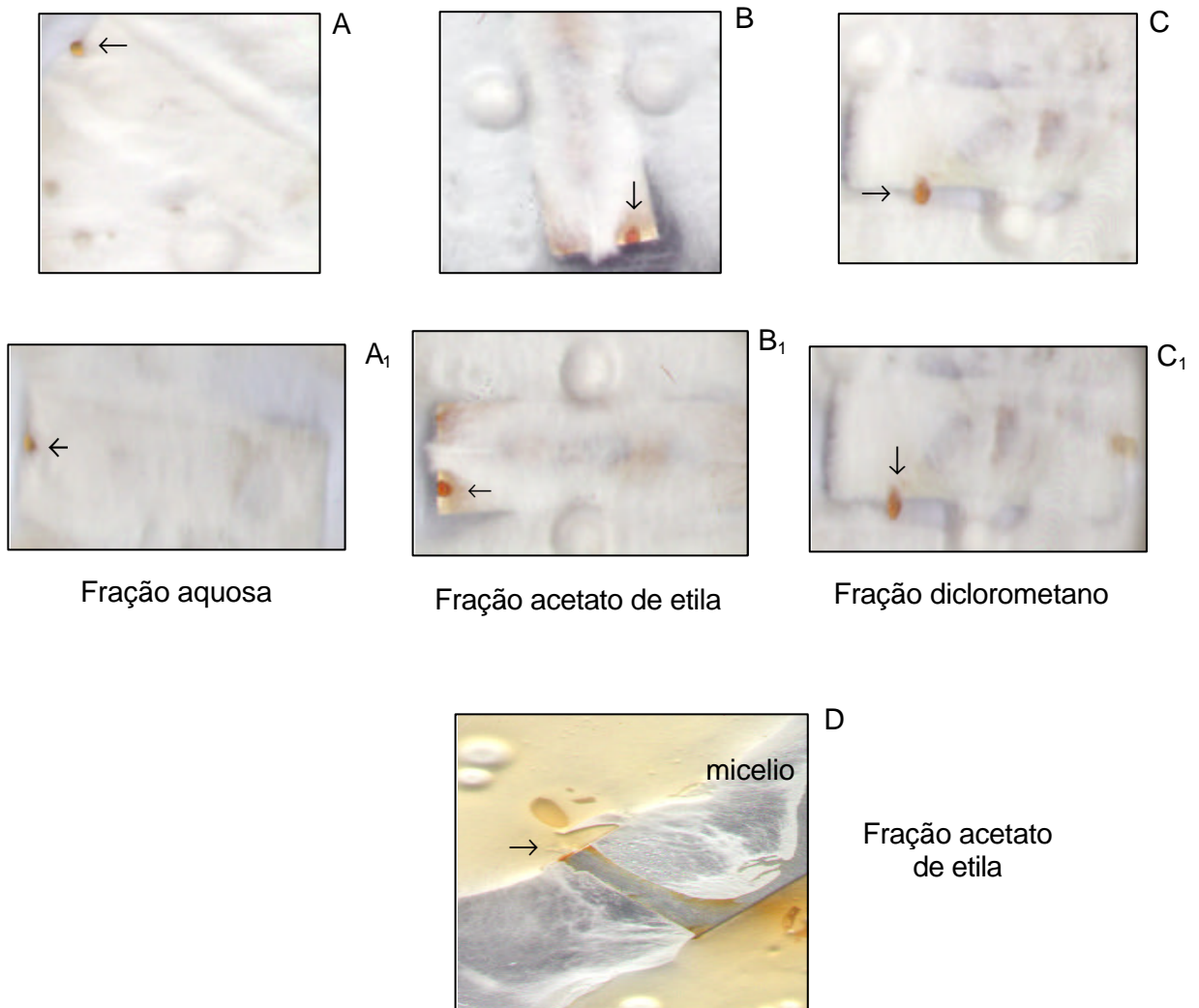
#### **Concentração mínima inibitória (MIC) da atividade antifúngica dos extratos etanólicos e das frações**

Os extratos etanólicos da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. polyphylla* nas concentrações de 20,0 mg/ $\mu$ L e 25,0 mg/ $\mu$ L foram efetivos somente para *L. trabea* (Figura 6 A e B). Enquanto que as mesmas concentrações destes extratos promoveram moderada inibição em *P. sanguineus* e em *T. villosa* (Figura 6 D, E, F).

As frações diclorometano, acetato de etila e aquosa, obtidas da casca do caule de *S. panacoco* nas concentrações de 5,5 mg/ $\mu$ L não foram efetivas à *T. villosa* (Figura 7). Por outro lado, verificou-se que o micélio desenvolveu tanto sobre, como sob a cromatofolha com as frações. Pelo fato de *T. villosa* crescer sob cromatofolha, optou-se por colocá-la sobre o meio de cultura solidificado, inoculando o fungo bem próximo da mesma. O cromatograma, colocado sobre o meio de cultura, limita a difusão dos constituintes do extrato da planta nesse meio. Outra observação à ser considerada é a presença de exsudado nas culturas com frações e com os extratos etanólicos, geralmente, na borda da cromatofolha ou mesmo sobre o micélio (Figura 7 B). Provavelmente, os exudados devem ser subprodutos da degradação dos constituintes químicos da fração, promovida pelo



**Figura 6.** Concentração mínima inibitória (MIC) do extrato etanólico obtido da casca do caule de *Swartzia panacoco* (SPN) e do ritidoma de *S. polyphylla* (SP) em cromatofolhas de gel de sílica GF<sub>254</sub>, frente aos fungos, *P. sanguineus*, *T. villosa* e *L. trabea*, ↑ inibição micelial



**Figura 7.** Concentração mínima inibitória (MIC) da atividade antifúngica em cromatofolhas de gel de sílica GF<sub>254</sub> das frações: diclorometano, acetato de etila e aquosa obtidas de *S. panacoco* na concentração de 10,5 mg/μL, frente a *T. villosa*, - presença de exudado.

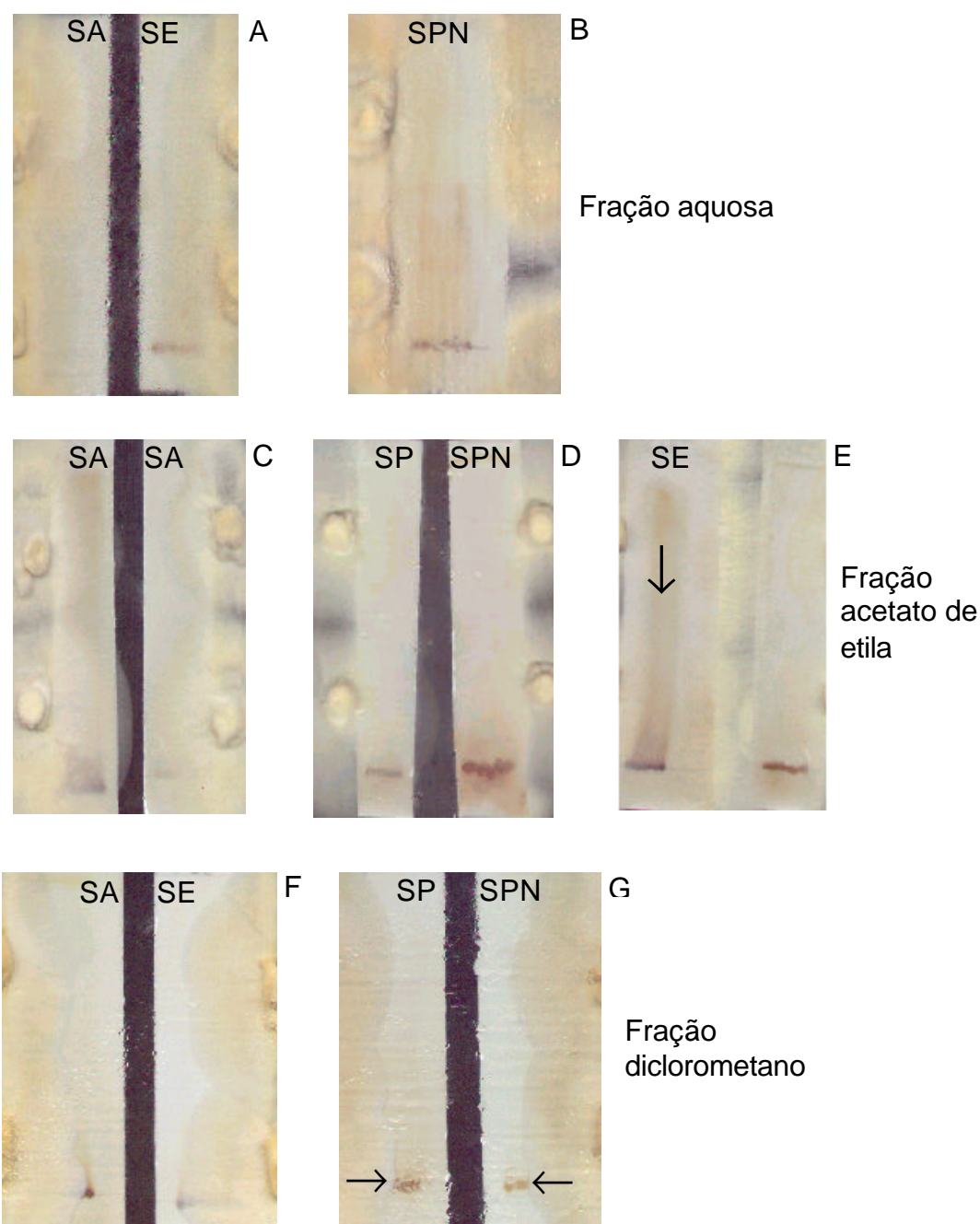
*T. villosa*. No entanto, não há ainda relato de exudados provenientes da degradação de substâncias naturais por basidiomicetos.

### **Atividade antifúngica das frações de *Swartzia* ssp sobre CCD (bioautografia)**

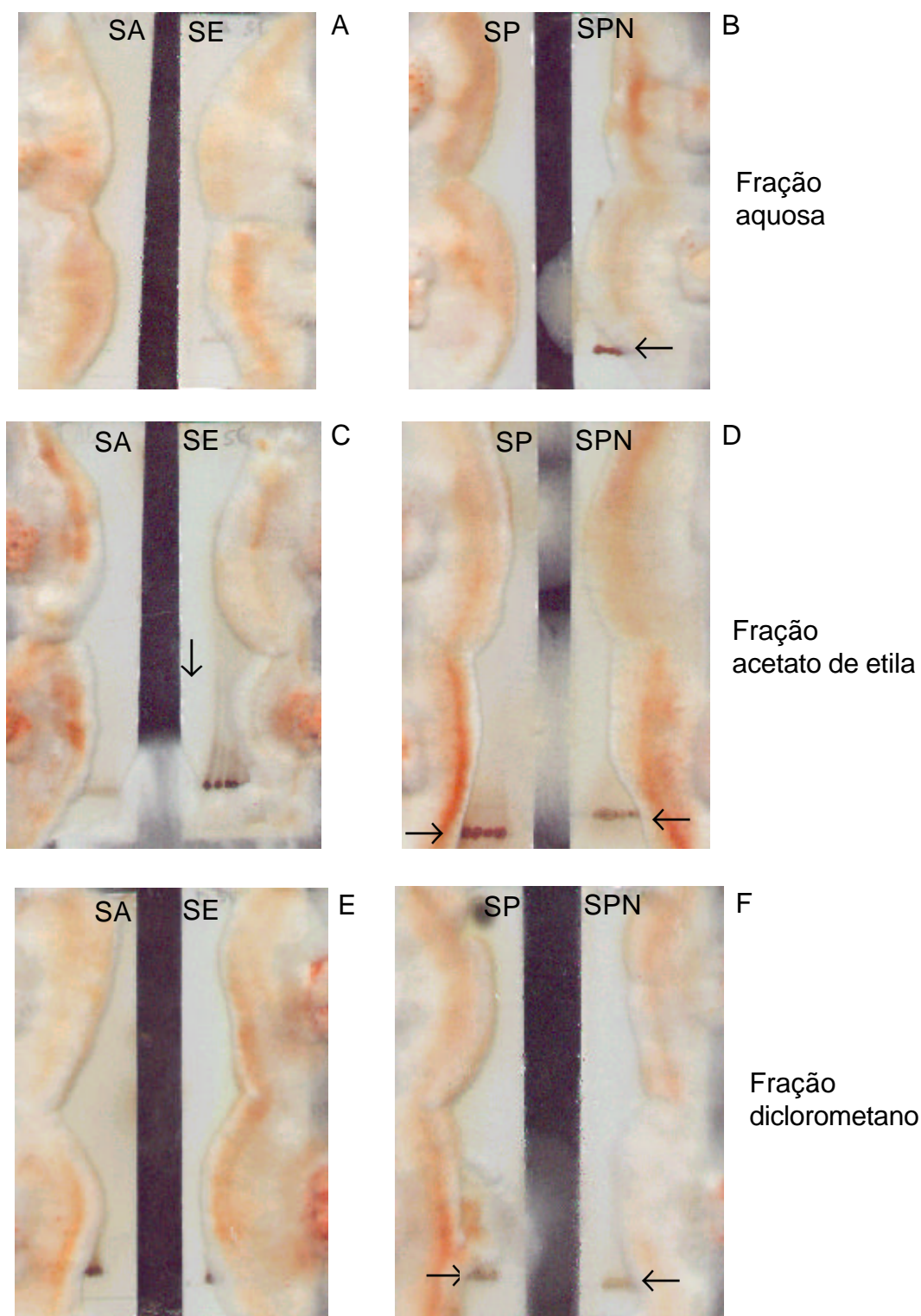
Ao analisar a bioatividade das frações ensaiadas, que foi detectada visualmente pela inibição micelial sobre a(s) substância(s) potencialmente antifúngica(s), observou-se a inibição discreta de *L. trabea* na fração aquosa do ritidoma de *S. argentea* e de *S. sericea* (Figura 8 A) e da casca do caule de *S. panacoco* (Figura 8 B). A inibição de *L. trabea*, aparentemente ocorreu sobre as substâncias da fração acetato de etila do ritidoma de *S. argentea* (Figura 8 C), as do ritidoma de *S. polyphylla* e as da casca do caule de *S. panacoco* (Figura 8 D) e em todo o perfil cromatográfico com as substâncias da mesma fração de *S. sericea* (Figura 8 E). A discreta inibição de *L. trabea* foi observada nas frações diclorometano do ritidoma de *S. polyphylla* e da casca do caule de *S. panacoco* (Figura 8 G).

A inibição de *P. sanguineus* pode ser observada na base das frações aquosas do ritidoma de *S. sericea* e da casca do caule de *S. panacoco* (Figuras 9 A e B). Na base da fração acetato de etila do ritidoma de *S. argentea* e de *S. polyphylla* e da casca do caule de *S. panacoco* notou-se a inibição de *P. sanguineus*, sendo que na fração do ritidoma de *S. sericea*, a inibição foi maior (Figuras 9 C e D). Observou-se que a inibição de *P. sanguineus* ocorreu em áreas opostas dos cromatogramas com as frações diclorometano do ritidoma de *S. polyphylla* e da casca do caule de *S. panacoco* (Figuras 9 D e F). Enquanto que *T. villosa* apresentou halo de inibição sobre as substâncias retidas na base das frações diclorometano, acetato de etila e aquosa (Figura 10), sendo que a inibição ainda foi visível, mesmo decorridos 15 dias, sobre a fração acetato de etila da casca do caule de *S. panacoco* (Figura 10 F).

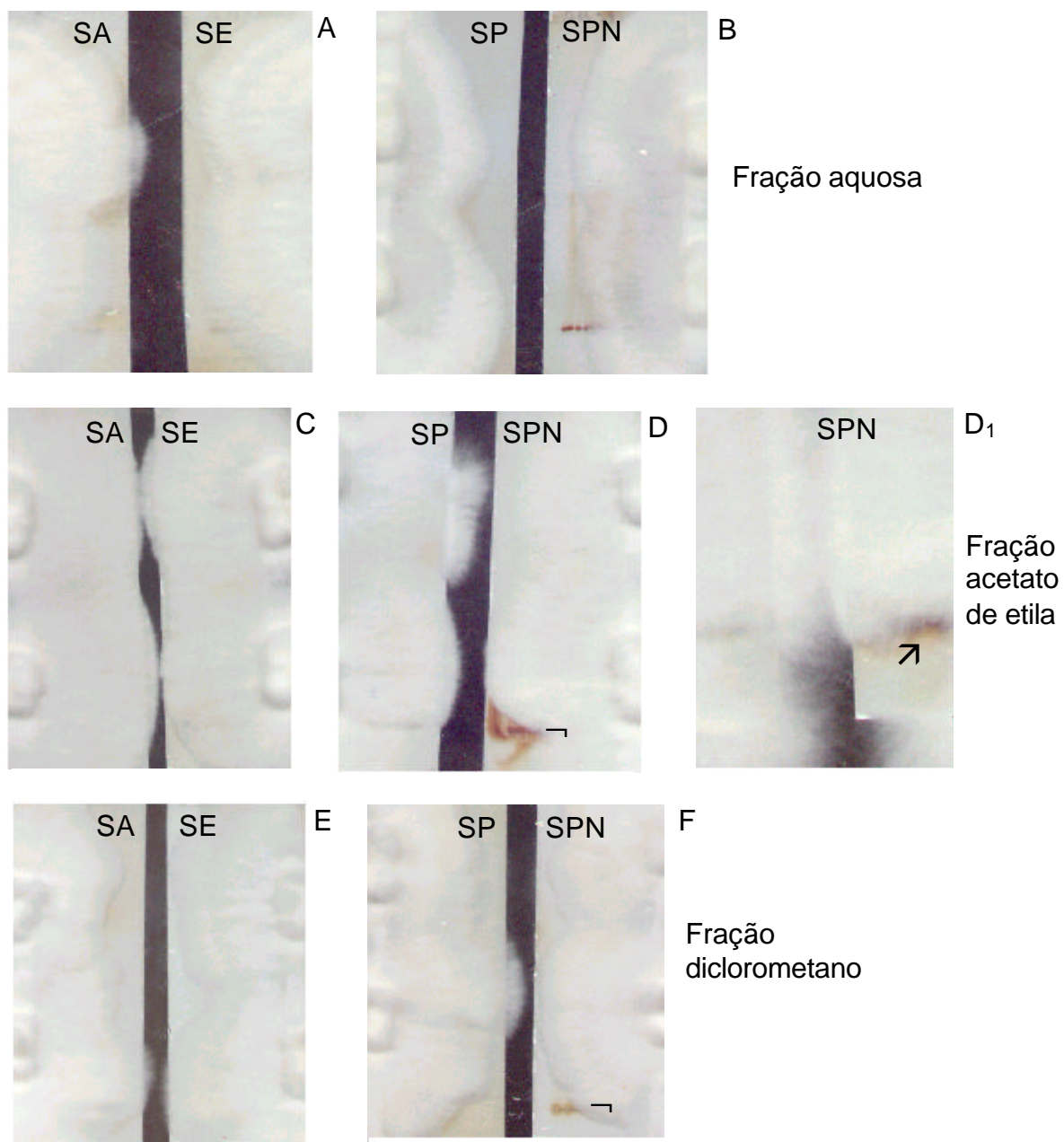
As três espécies de fungos apresentaram sensibilidade diferenciadas para cada fração ensaiada na bioautografia, comparada com a do controle (Figura 11).



**Figura 8.** Bioautografia em CCD de gel de sílica GF<sub>254</sub> das frações; diclorometano, acetato de etila e aquosa, obtidas do ritidoma de *S. argentea* (SA), *S. polyphylla* (SP) e de *S. sericea* (SE) e da casca do caule de *S. panacoco* (SPN) frente a *L. trabea*, ↯ = área de inibição.



**Figura 9.** Bioautografia em CCD de gel de sílica GF<sub>254</sub> das frações; diclorometano, acetato de etila e aquosa, obtidas do ritidoma de *S. argentea* (SA), *S. polyphylla* (SP) e de *S. sericea* (SE) e da casca do caule de *S. panacoco* (SPN) frente a *P. sanguineus*,  $\rightarrow$  = área de inibição.

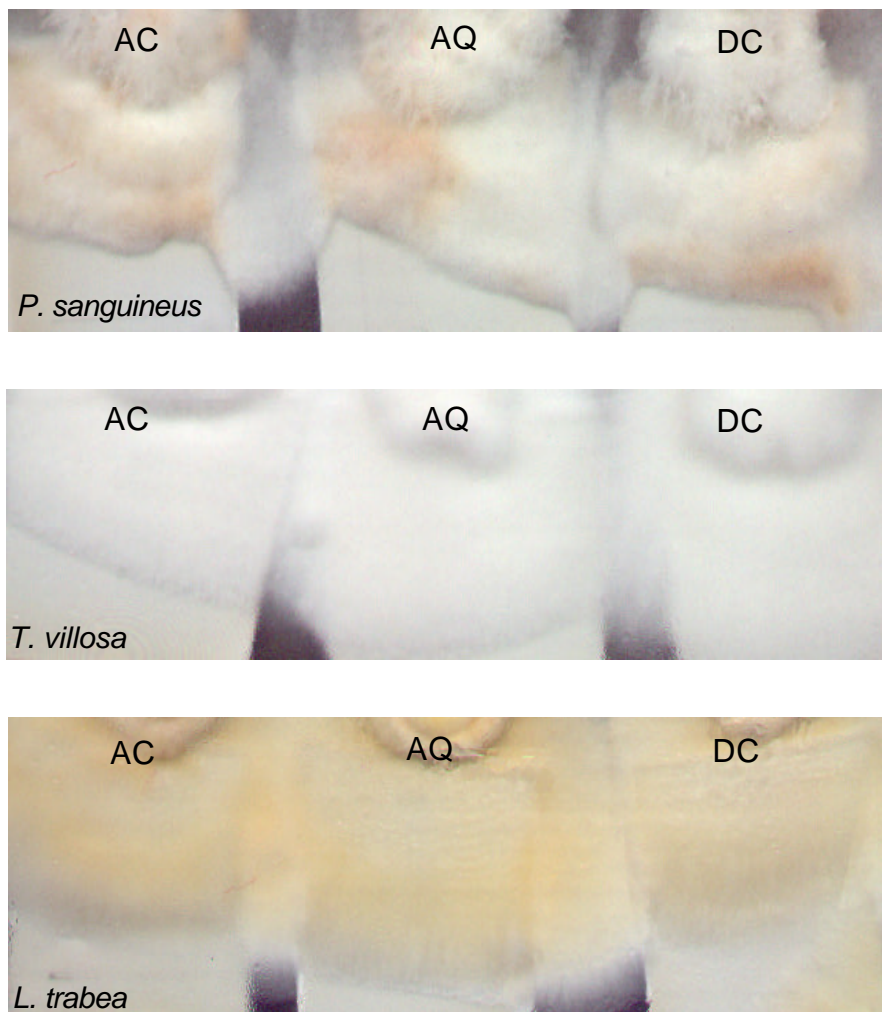


**Figura 10.** Bioautografia em CCD de gel de sílica GF<sub>254</sub> das frações; diclorometano, acetato de etila e aquosa, obtidas do ritidoma de *S. argentea* (SA), *S. polyphylla* (SP) e de *S. sericea* (SE) e da casca do caule de *S. panacoco* (SPN) frente a *T. villosa*, └ = área de inibição.

Geralmente, o micélio dos fungos não ultrapassou o cromatograma com a fração. Com exceção de *L. trabea* que cresceu rapidamente com hifas bem finas e claras sobre todas as substâncias da fração acetato de etila do ritidoma de *S. sericea*. Curiosamente o micélio se desenvolveu normalmente ao atingir o meio de cultura (Figura 8 F). Interessante, também foi que de *P. sanguineus* cresce atipicamente, denso e com coloração alaranjado mais forte nas extremidades sobre os cromatogramas com as frações (Figura 9), ao contrário do crescimento no controle. Também *P. sanguineus*, aparentemente apresentou um outro crescimento micelial, pelo qual o micélio ultrapassou os cromatogramas e se desenvolveu no meio de cultura entre os cromatogramas das frações acetato de etila do ritidoma de *S. polyphylla* e da casca do caule de *S. panacoco*. Além disso, o fungo cresce rarefeito bem próximo das substâncias, formando um halo com coloração mais clara sobre as substâncias (Figura 9 C e D) o que sugere a potencialidade degradativa do fungo às substâncias. Provavelmente, o desenvolvimento micelial atípico destes fungos pode ser uma maneira de encontrar a fonte alimentar, o meio de cultura, ou também de contornar ou degradar as substâncias bioativas. *T. villosa* cresceu no meio de cultura chegando a transbordar as placas de Petri. Este fungo demonstrou ser tolerante às frações, sendo menos tolerante às substâncias retidas na base da fração acetato de etila da casca do caule de *S. panacoco* (Figura 10 F).

De acordo com a literatura, concentrações a partir de 30 µg até 300 µg de antifúngicos comerciais ou de origem natural têm sido usadas de maneira substancial contra os fungos patogênicos ao homem e fitopatogênicos (ROCHA et al., 1978, p.53; RAHALISON et al., 1994, p.43). Essa ampla escala de concentrações de antifúngicos sugeriu que a baixa concentração das frações testadas pode ter limitado a atividade antifúngica das frações diclorometano, acetato de etila e aquosa, considerando ainda que o composto bioativo pode ser detectado se está em uma concentração letal ou capaz de inibir o microrganismo na bioautografia (MATTHIAIS; CORDEL, 1987 p.20).

Outro fator a ser considerado é a oxidação das frações, observada nas obtidas da casca do caule de *S. panacoco* e do ritidoma de *S. polyphylla* e de *S. sericea* que ficaram escuras. A aplicação da fração na cromatofolha, em seguida da preparação da solução, poderia minimizar a oxidação, tendo em vista que houve



**Figura 11.** Crescimento dos fungos em CCD de gel de sílica GF<sub>25</sub> eluída com a fase móvel diclorometano:acetato de etila:metano (5:3:2), acrescida de 0,01ml de ácido acético (AC) butanol:etanol:água (4,0;1,1;1,9) (AQ) e com os solventes diclorometano: acetato de etila (7:3), (DC), usadas como controle na bioautografia das frações de *Swartzia* spp.

dificuldade tanto na diluição como na aplicação da solução, principalmente da fração da casca do caule de *S. panacoco*. Também a solubilidade das frações dificultou a diluição, a aplicação e a eluição das frações na cromatofolha, principalmente da casca do caule de *S. panacoco*. A oxidação, concentração e solubilidade de extrato de produtos naturais, dentre outros fatores, estão entre as desvantagens, quando se pretende avaliar a atividade antifúngica em ensaio de bioautografia (HOMANS; FUCHS, 1970, p.327, MATHIAS, 1991, p.19-21).

Comparando o MIC dos extratos etanólicos e das frações com a obtida para o ensaio de bioautografia verificou-se que não foi possível estabelecer uma correlação entre a concentração mínima inibitória dos extratos etanólicos e das frações com a obtida na bioautografia. Esta dificuldade foi também encontrada em ensaios de atividade antifúngica de extratos de outras plantas (RAHALISON et al. 1994, p.43) e em ensaios com biocidas fungicidas comerciais e de origem vegetal frente à diferentes isolados de *Wolfiporia cocos*, fungo degradador de madeira (WOODWARD; GROOT, 1999, p.87). No ensaio com as frações de *Swartzia* spp notou-se que a diferença entre as concentrações (MIC) e as usadas na bioautografia, provavelmente ocorre devido à separação dos constituintes no cromatograma. Além disso, a concentração do constituinte é desconhecida, como também um ou mais constituintes podem apresentar atividade antifúngica. Uma vez isolado o(s) constituinte(s), a concentração mínima inibitória pode ser estimada (JENKINS et al. 1998, p.11).

Os vários procedimentos otimizados para o ensaio de bioautografia com basidiomicetos, com o propósito de avaliar a atividade antifúngica das frações obtidas de *Swartzia* spp mostraram que o bioensaio pode ser reprodutível com resultados significativos. Dentre as desvantagens, destacou-se a delimitação do halo de inibição que foi feita visualmente, principalmente pela diferença de cor do micélio dos fungos, que pode ser detectada quando ocorre a inibição do micélio. O inóculo redondo do micélio, favorece o crescimento do fungo de forma circular. O inóculo retangular pode ser uma alternativa, pois o crescimento micelial, aparentemente uniforme, poderia oferecer melhor visualização do halo de inibição. A inoculação do fungo no meio do comprimento da cromatofolha, favorece o crescimento micelial sobre a mesma, enquanto que, se ocorrer a partir da

extremidade, pode promover interface entre os micélios no centro da cromatofolha. No caso de incompatibilidade, a visualização do halo de inibição pode ser comprometida pela interface micelial.

Por outro lado, como vantagens, a difusão dos constituintes da fração com os do meio de cultura foi limitada e a inoculação do fungo sobre o meio de cultura, favoreceu o crescimento do micélio tanto no meio como no cromatograma, o que permitiu verificar o efeito das frações sobre as características miceliais do fungo.

Sem dúvida a padronização do inóculo e a maneira de inocular é importante na determinação de atividade antifúngica. Entretanto, as observações experimentais, sugerem que o inóculo padronizado pode se manifestar diferentemente frente à cada concentração do extrato, independente da espécie de planta, de modo que a segurança dos resultados pode estar relacionada com a uniformidade dos dados de sensibilidade da espécie do fungo para cada parâmetro analisado.

O ensaio de bioautografia possibilitou detectar a sensibilidade de cada espécie de fungo, para as frações obtidas de cada espécie de *Swartzia* (Tabela 3), como também revelou que as frações diclorometano, acetato de etila e aquosa obtidas do ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e principalmente da casca do caule de *S. panacoco* contêm substância(s) com atividade antifúngica aos fungos degradadores de madeira.

Os dados da bioatividade obtidos para as frações diclorometano, acetato de etila e aquosa são bastante promissores, pois as quatro espécies de *Swartzia* estudadas, apresentaram potencial antifúngico frente aos basidiomicetos lignocelulolíticos. Em bioensaio de atividade antimicrobiana de produtos naturais, em geral, são utilizados extratos de muitas plantas, para se obter pelo menos uma com bioatividade. Raramente extrato de uma planta é positiva para duas espécies de fungos, ou para fungo e bactéria, ou para duas bactérias (RAHALISON et al., 1994 p.43, JIMÉNEZ et al., 2001, p. 77).

O ensaio de bioautografia permitiu estabelecer o espectro da atividade antifúngica das frações, a qual pode ser observada na sensibilidade diferenciada das espécies de fungos para cada fração, o que sugere ser a potencialização dessa

**Tabela 3.** Possibilidade de detectar a atividade antifúngica das frações obtidas de *Swartzia* spp sobre CCD de gel de sílica GF<sub>254</sub>, frente aos basidiomicetos em bioautografia

Espécie de <i>Swartzia</i>	Fração/mg/ml	Desenvolvimento do fungo			
		<i>L. trabea</i>	<i>P. sanguineus</i>	<i>T. villosa</i>	
<i>S. argentea</i>	Diclorometano	5,5	+	++	++
	Acetato de etila	7,5	+	+	++
	Aquosa	15,0	+	++	++
<i>S. panacoco</i>	Diclorometano	10,0	+	+	+
	Acetato de etila	15,0	+	+	+
	Aquosa	15,0	++	+	+
<i>S. polyphylla</i>	Diclorometano	5,5	+	+	++
	Acetato de etila	15,0	-	+	++
	Aquosa	15,0	+	++	++
<i>S. sericea</i>	Diclorometano	8,0	+	++	++
	Acetato de etila	7,5	-	+	++
	Aquosa	15,0	+	+	++

- = micélio inibido

+ = inibição moderada do micélio

++ = ausência de inibição

atividade resultante da associação das frações diclorometano e acetato de etila ou do(s) constituinte(s) bioativo(s) da(s) fração (ções).

Os dados da atividade antifúngica obtidos para as frações diclorometano e acetato de etila e aquosa de cada espécie de *Swartzia* aos fungos degradadores de madeira foram comparados com os constituintes químicos presentes em cada fração e verificou-se que a fração acetato de etila apresentou bioatividade mais efetivo aos fungos. Isso pode estar relacionado com a presença dos taninos condensados tendo em vista que os mesmos apresentam propriedades antifúngicas aos fungos xilófagos, e que podem ser os responsáveis pela durabilidade natural de

algumas madeiras (VITAL, et al., 2001, p.246). Recentemente, a propriedade antifúngica está associada com a durabilidade natural de algumas madeiras (VITAL, et al., 2001, p.246) e esta propriedade juntamente com a capacidade de vários taninos condensados de se complexarem aos íons metálicos, tem sido explorada com o intuito de utilizar os taninos condensados combinados aos íons de cobre, alumínio e ferro como produto preservante de madeira de baixa durabilidade (LAKS; McKAIG, 1988, p.300; COUTO et al., 2000; p.334; SANTOS; MELLO,1999, p.531).

A atividade antifúngica observada nas frações aquosa e diclorometano frente aos fungos degradadores de madeiras pode também ser atribuída à presença dos flavonóides, considerando-se que dentre os flavonóides bioativos, os isoflavonóides ocorrem em várias espécies de *Swartzia*, sendo mais comuns, os pterocarpanos, as isoflavonas, as isoflavononas e os di-hidroflavonóides. Entre as propriedades biológicas mais importantes dos isoflavonóides destaca-se a atividade antifúngica (ZUANAZZI,1999, p.492). Estas observações sugerem que possivelmente, a atividade antifúngica observada nas frações obtidas de *Swartzia* spp pode estar relacionada com a presença de taninos condensados e de flavonóides e que a potencialização da atividade antifúngica pode ser resultante da associação das frações diclorometano e acetato de etila ou de um constituinte(s) de uma das frações. Porém para verificar tal hipótese seria necessário o isolamento do(s) constituinte(s) bioativo da(s) fração (ções) e a comprovação da atividade antifúngica do(s) mesmo (s) em proporções iguais ou diferentes frente aos fungos apodrecedores de madeira.

### 3.4. Conclusões

Os fungos apresentam sensibilidade diferenciada para fração diclorometano, acetato de etila e aquosa de *Swartzia* spp. Em geral, o micélio dos fungos não ultrapassou o cromatograma com as frações, com exceção de *L. trabea* que cresce rapidamente, com as hifas longas, finas e hialinas sobre as substâncias da fração acetato de etila do ritidoma de *S. sericea* desenvolvendo-se normalmente ao atingir o meio de cultura. Ao mesmo tempo que o micélio de *P. sanguineus* cresce atipicamente, denso e com coloração alaranjado mais forte nas extremidades sobre os cromatogramas das frações, diferente do crescimento no controle. *P. sanguineus* que cresceu entre os cromatogramas das frações acetato de etila do ritidoma de *S. polyphylla* e da casca do caule de *S. panacoco*, e na mesma fração do ritidoma de *S. argentea* e de *S. sericea* o fungo desenvolve-se rarefeito e formando um halo com coloração mais clara sobre as substâncias. Provavelmente este fungo apresenta capacidade de degradar as substâncias da fração e o crescimento diferenciado destes fungos, possivelmente deve ser uma reação de resistência e não de sensibilidade às frações. *T. villosa* demonstra ser tolerante às frações, com menor tolerância às substâncias retidas na base, principalmente as da fração de acetato de etila obtida da casca do caule de *S. panacoco*.

O ensaio de bioautografia pode ser reproduzível com resultados significativos, permitindo avaliar a atividade antifúngica de cada fração obtida de quatro espécies de *Swartzia* para cada três espécies de fungo degradador de madeira. A dificuldade de visualização do halo de inibição, a qual foi estabelecida pela diferença de cor do micélio dos fungos sobre as substâncias bioativas é uma das desvantagens do método. A difusão limitada dos constituintes da fração com os do meio de cultura e também a ação favorável ou desfavorável do seu pH sobre os constituintes da fração estão entre as vantagens. Além disso, a inoculação do fungo sobre o meio de cultura, favorece o crescimento do micélio tanto no meio como no cromatograma, o que permite verificar o efeito das frações nas características miceliais do fungo.

O ensaio de bioautografia realizado com as frações diclorometano, acetato de etila e aquosa sugere a presença de uma ou mais substâncias antifúngicas no ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e na casca do caule de *S. panacoco* aos fungos degradadores de madeira, *T. villosa*, *L. trabea* e *P. sanguineus*. Provavelmente a atividade antifúngica encontrada nestas frações está associada com os taninos condensados nas frações acetato de etila e com os flavonóides nas frações diclorometano e aquosa.

## 2.5. Referências

AMARAL, A.C. Contribuição à química do gênero *Croton* (Eupobiaceae) componentes de cinco entidades. 1996. 283f. Tese (Doutorado em Química de Produtos Naturais), Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ, Rio de Janeiro, 1996.

ARORA, D.S.; OHLAN, D. In vitro studies on antifungal activity of tea (*Camelia sinensis*) and coffee (*Coffea arabica*) against wood-rotting fungi. **Journal of Basic Microbiology**, Berlin, v.37, p.159-165.1997.

BETINA, V. Bioautography in paper and thin-layer chromatography and its score in the antibiotic field. **Journal Chromatography**, Amsterdam, v.78, p.41-451, 1973.

CAVALCANTI, M.A.Q. Basidiomicetos poliporóides destruidores de madeira em serrarias do Recife. **Revista Pemanbucana de Tecnologia**, Recife, v.3, n.3, p.83-87, 1983.

COUTO, C. L., FORTIN, Y.; KAMDEM, DP; COUTO, L. Potencial fungicida dos extrativos em água quente da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) no extrato bruto e combinados aos ions  $Fe^{+++}$  e  $Al^{+++}$ . Parte III. Bioensaios sobre a madeira verde. **Revista Árvore**, Viçosa- MG, v.24, n.1, p.105-113, 2000.

HOMANS, L.; FUCHS, A. Direct bioautography on thin-layer chromatograms as a method for detecting fungitoxic substances. **Journal Chromatography**, Amsterdam, v.51, p.327-329, 1970.

JENKINS, M.K., JENSEN, P.R.; FENICAL; W. Biossay with marine microorganisms. In: HAYNES, K.F., MILLAR, J.G. **Bioassay methods**. Norwell. Chapman & Hall. 1998, v.2, cap.1, p.1-32.

JESUS, M. A. Actividad antifúngica de extractos bructos obtenidos de cáscara y frutos de *Swartzia* spp de la Amazônia Central sobre os hongos destruidores de madera. In: GUZMÁN, G.; MATA, G. **Estudios sobre los hongos Latinoamericanos**. Universidad Veracruzana. Xalapa, 2002, p.522.

JESUS, M. A.; WILLERDING, A L.; SANTOS, M.; WOLTER, E. L. Atividade antifúngica de extratos obtidos de plantas medicinais amazônicas à fungos apodrecedores de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.24, n.2, p.223-228, 2000.

JESUS, M.A. Contribution to the knowledge of wood-rotting fungi in Brazil: 1. Ocorrence and distribution of fungi on different substrates from the Manaus region. Amazonas States. **International Research Group on Wood Preservation**, Stockholm, 1991. 21p.

JIMÉNEZ, G.; HASEGAWA, M.; RODRIGUEZ, M.; ESTRADA, O.; MÉNDEZ, J.; CASTILLO, A.; GONZALES-MUJICA, F.; MOTTA, N.; VÁSQUEZ, J.; ROMERO-VECCHIONE, E. Biological screening of plants of the Venezuelan Amazons. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v.77, n.1, p.77-83, 2001.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA. INPA. Estudo de leguminosas florestais da Amazônia Central como fonte potencial de matéria-prima para uso tecnológico. Manaus:INPA, 1998. 11p. (PPI2-3360)

LAKS,P.E.; McKAIG, P.A Flavonoid biocides: wood preservatives based on condensed tannins. **Holforschung**, Berlin, v.42, p.299-306,1988.

LOPEZ,G.A.C.; MILANO,S. Avaliação da durabilidade natural da madeira e de produtos usados na sua proteção. In: LEPAGE, S. E. (Cord). **Manual de preservação de madeira**. São Paulo: IPT, 1986, v.2, cap.10, p.473-521.

MATTHIAS, O H.; CORDELL, G. A. A direct bioautographic assay for compounds possessing antibacterial activity. **Journal of Natural Products**, Washington, v.50, n.1, p.19-22, 1987.

McCHESNEY, J.D. The promise of plant- derived natural products for development of new pharmaceuticals and agrochemicals. In: SEIDL, P.R.; GOTTIEB, O.R.; KANPLAN, M.A.C. (Ed.). **Chemistry of the amazon. biodiversity, natural products, and environment issues**. Washington, American Chemical Society,1993. cap.6, p.66-78.

NASCIMENTO, C.S. Efeito de extrativos obtidos de espécies florestais impregnados em madeira de *Simaruba amara* (marupá) e submetidos ao ataque de *Nasutitermes* sp. (Isoptera; Termitidae). In: JOURNADA DE INICIAÇÃO CIENTIFICA PIBIC/INPA/CNPq, 8; Manaus. **Anais..** Manaus: Imprensa Universitária da FUAM,1999, p.233.

NASCIMENTO, C.S. Avaliação de propriedades termicidas de extrativos de madeiras amazônicas quanto ao ataque de *Nasutitermes* sp. (Isoptera, Termitidae). 2001. 55f. Trabalho de Conclusão (Curso de Engenharia Florestal), Instituto de Tecnologia da Amazônia, UTAM, Manaus.

OJECHI, B.O. Wood biodeterioration control potential of *Acalypha hispida* leaf phenolic extract in combination with *Trichoderma viride* culture filtrate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dodrecght, v.17, p.561-565, 2001.

ONUORAH, E.O. The wood preservative potential of heartwood extracts of *Milicia exelsa* and *Erytrophleum suaveolens*. **Bioresource Techology**, Oxford v.75, p.171-173, 2000.

OLIVEIRA, M.F.A.; LELIS, A.T.; LEPAGE, E.S.; LOPEZ, G.A.; OLIVEIRA, L.S.; CANEDO, M. D.; MILANO, S. Agentes destruidores de madeira. In: LEPAGE, S. E. (Cord.) **Manual de preservação de madeira**. São Paulo: IPT, 1986, v.1, cap.5, p.99-278.

RAHALISON, L.; HAMBURGER, M.; MONOD, E.F.; HOSTETTMANN, K. Antifungal tests in phytochemical investigations: comparasion of bioautographic methods using phytopathogenic and human pathogenic fungi. **Planta Medica**, Stuttgart., v.60, p.41-44, 1994.

REYES-CHILPA, R.; QUIROZ-VASQUEZ, R.R.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M. Antifungal activity of selected plant secondary metabolites against *Coriolus versicolor*. **Journal of Tropical Forest Products**, Malaysia, v.3, n.1, p.110-113, 1997.

ROCHA, H.; ZULIANI, M.E.; TRABULSI, L.R. Antibiograma. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.3, n.1, p.51-60, 1972.

SANTOS, S.C.; MELLO, J.C.P. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOZMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETRVICK, P.R. (Ed.) **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS. 1999. p.517-545.

SAXENA, G.; FARMER, S.; TOWER, G.H.N.; HANCOCK, R.E.W. Use of specific dyes in the detection of antimicrobial compounds from crude plant extracts using a thin-layer chromatography agar overlay technique. **Phytochemical Analysis**, Sussex v.6, p.125-29, 1995.

VITAL, B.R.; SHIMADA, A.N.; DELLA LUCIA, R.M.; VALENTE, O.F.; PIMENTA, A.S. Avaliação dos taninos da casca de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden como preservativo de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa- MG, v.25, n.2, p.245-56, 2001.

WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E. M. **Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas**. Berlin:Springer-Verlag,1984.

WOODWARD, B., GROOT, R. Tolerance of *Wolfiporia cocos* isolates to copper in agar media. **Forest Products Journal**, Madison, v.49, n.4, p.87-94,1999.

ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOZMANN,G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETRVICK, P.R. (Ed.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS.1999. p.489-516.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os extratos das partes das plantas testados, os dos ritidomas apresentaram potencialidade antifúngica aos fungos degradadores de madeira. No entanto, pelo fato de que o ritidoma ser constituído de periderme e de tecidos agregados à mesma, foi obtido pouco material. Além disso, houve dificuldade de se obter ritidoma na segunda coleta, devido ao alagamento dos igapós, que dificultou o acesso às árvores. Praticamente o extrato obtido foi suficiente para o ensaio de bioautografia, visando a fração de interesse. Para dar continuidade aos estudos com o objetivo de se mapear os constituintes ativos dos extratos, será necessário a obtenção de maior quantidade de ritidoma.

O método agar-placa pode ser considerado eficiente e imprescindível na seleção de muitos extratos, com o intuito de verificar o potencial antifúngico de constituintes bioativos. A partir dos dados obtidos neste bioensaio, a provável bioatividade do extrato de interesse, pode ser confirmada, com auxílio de outros métodos de fracionamento, de análise em cromatografia com fase gasosa e cromatografia a líquido de alto desempenho (CLAD).

Apesar das dificuldades interpretativas na avaliação qualitativa do halo de inibição micelial dos fungos, pode-se detectar a sensibilidade diferenciada dos fungos frente às frações: diclorometano, acetato de etila e aquosa, sugerindo, um mecanismo de resistência distinto entre as espécies de fungos degradadores de madeira, o qual poderia ser acentuado em concentrações maiores das frações, tendo em vista que a maioria delas apresentou atividade antifúngica à *L. trabea*, que é mais sensível, principalmente as frações diclorometano e acetato de etila.

De forma análoga ao observado no bioensaio com os extratos etanólicos obtidos de várias partes de *Swartzia* spp, os dados do ensaio de bioautografia com as frações obtidas destes extratos, mostram que ocorre a bioatividade antifúngica, indicando que o ritidoma de *S. argentea*, *S. polyphylla* e de *S. sericea* e, ou a casca

do caule de *S. panacoco* apresentam potencialidade fungistática aos fungos degradadores de madeira, *P. sanguineus*, *T. villosa* e *L. trabea*. O perfil cromatográfico dos constituintes da fração acetato de etila permite associar a presença de taninos condensados na fração acetato de etila e de flavonóides nas frações diclorometano e aquosa com a bioatividade. Com base nessas observações, outros estudos são pertinentes como o mapeamento químico das substâncias bioativas presentes nas frações e o isolamento das substâncias que, com certeza permitem estabelecer a correlação da estrutura química e atividade antifúngica, confirmando se os taninos e, ou, os flavonóides estão relacionados com a atividade antifúngica.

A detecção da atividade antifúngica de constituintes de *Swartzia* "in vitro" e em condições de campo "in vivo" pode ser uma estratégia preventiva efetiva à biodegradação da madeira, causada por fungos xilófagos, juntamente com a busca de análogos a produtos comerciais, aliado à eficiência, proteção ao meio ambiente, custos e de interesse científico e econômico.

Atualmente o número de pesquisas envolvendo a aplicabilidade de constituintes bioativos obtidos de plantas com potencialidade preservante de madeira a fungos xilófagos é muito reduzido, o que torna difícil a comparação dos dados de *Swartzia* com aqueles disponíveis na literatura, principalmente porque em outros experimentos, os extratos são impregnados diretamente em blocos de madeira. Dentre os dados disponíveis de atividade antifúngica de extratos ou de substâncias à fungos apodrecedores, destaca-se o extrato em éter sulfúrico, obtido do fruto de *Tratinnickia galziovii* Swartz. (Burseraceae) que apresenta atividade fungicida à fungos apodrecedores de madeira. Esse dado aliado aos já obtidos para *Swartzia* spp, merecem destaque, pois apontam que as espécies florestais amazônicas, talvez sejam o mais importante recurso natural no fornecimento de substâncias bioativas.

Indiscutivelmente, os dados da bioatividade de *Swartzia* spp são promissores, pois os extratos etanólicos obtidos nunca haviam sido avaliados anteriormente, para

fungos degradadores de madeira. Por outro lado, *S. argentea*, *S. sericea* e *S. panacoco* são espécies não estudadas em relação à sua composição química, bioatividade e aplicação na etnomedicina.

Os cromatogramas obtidos em CCD foram realizados para o ensaio de bioautografia. As revelações efetuadas tiveram como finalidade de se verificar as classes químicas dos constituintes presentes nas frações: diclorometano, acetato de etila e aquosa, pois o objetivo específico do presente trabalho não foi o isolamento e identificação das substâncias químicas. Entretanto é necessário uma continuação da pesquisa para a determinação das substâncias responsáveis pela atividade antifúngica encontrada nas espécies de *Swartzia*.

## 5. Referências da introdução geral

BARNEBY, R.C. Notes on *Swartzia* (Leguminosae, Swartzieae) preliminary to the flora of the Venezuelan Guayana. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. Saint Louis, v.78, n.1, p.177-183, 1991.

BRAZ- FILHO, R.; MORAES, MP.L.; GOTTLIEB.O R. Pterocarpanas from *Swartzia laeviscarpa* **Phytochemistry**. Oxford v.19. N.9, p. 2003-6,1980.

COUTO, C. L.; FORTIN,Y.; KAMDEM, D.P. ; COUTO, L. Potencial fungicida dos extrativos em água quente da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) no extrato bruto e combinados aos ions  $Fe^{+++}$  e  $AL^{+++}$ . Part III. Bioensaios sobre a madeira verde. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.24, n.1, p.105-113, 2000.

COWAN, R.S. *Swartzia* (Leguminosae, Caesalpinioideae, Swartzieae). Flora Neotropica Monograph. New York: Hafner Publishing Company.1967, v.1, p.228.

DUBOIS, J. L.; SNEDEN, A.T. Dihydrolicoisoflavone a new isoflavonone from *Swartzia polyphylla*. **Journal of Natural Products**, Washington, v.58, n.4, p. 629-632, 1995.

DUIVENVOORDEN, J. F. Tree species composition and rain forest- environmental relationship in the middle Caqueta area, Colombia, N.W. Amazonia. **Vegetatio**, Dordrecht, v.120, n.2, p.91-113, 1995.

FORERO, E.; MORI, S. The organization for flora Neotropica. **Brittonia**, Bronx, v.47, n.4, p. 379-393, 1995.

GALVÃO, L. *Swartzia panacoco*. Disponível em :< [www.embitalia.org.br/ai2001/aib-cgae](http://www.embitalia.org.br/ai2001/aib-cgae)>. Acesso em: 24/08/2002.

GASSON, P. Wood anatomy of the tribe Swartziae with comments on related Papilionoid and Caesalpinoid Leguminosae. **IAWA Journal**, Leiden, v.7, n.1, p.45-75, 1996.

GOMEZ-GARIBAY, F.; CHILPA, R.R.; QUIJANO, L., CALDERON-PARDO, J.S.; CASTILHO, R.T. Methox furan auranols with fungistatic activity from *Lonchocarpus Castilloi*. **Phytochemistry**, Oxford, v.29, n.2, p.459-463, 1990.

HART, J.R.; HILLIS, E.W. Inhibition of wood-rotting fungi by ellagitannins in the heartwood of *Quercus alba*. **Phytopathology**, Saint Paul. Minn., v.62, p.620-624, 1972

HERRICK, F. W. Chemistry and utilization of western hemlock bark extractives. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v.28, p.228-237.1980.

HILLS, W.E.; YAZAKI, Y. Polyphenolic extractives of *Pinus radiata* bark. **Holzforschung**, Berlin, v.31, n.1, p.20-24, 1977.

HOSTETTMANN, K.; WOLFENDER, J L. The search for biologically active secondary metabolites. **Pesticide Science**, Oxford, v.51, p.471-482, 1997.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA. INPA. Estudo de leguminosas florestais da Amazônia Central como fonte potencial de matéria-prima para uso tecnológico. Manaus;1998. 11p. (INPA/PPI2-3360).

INPA. **Catálogo de madeiras da Amazônia**: características tecnológicas; área da Hidrelétrica de Balbina. Manaus: INPA/CNPq, 1991. 162p.

JESUS, M. A.; LIMA, M. P.; RIBEIRO, M.N.S.; MARQUES. F.S. Avaliação da toxicidade de extratos isolados de espécies de Burseraceae à fungos xilófagos. Part. I. **Boletim Técnico da Associação Brasileira de Preservação de Madeira**, São Paulo, v.76, 7p., 1994.

JESUS, M. A.; MORAIS, J.W.; SOUZA DE ABREU, R.L.; CARDIAS, M.F.C. Durabilidade natural de 46 espécies de madeira amazônica em contato com o solo em ambiente florestal. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v.78, p.113-121, 1998.

JESUS, M. A.; WILLERDING, A L.; SANTOS, M.; WOLTER, E. L. Atividade antifúngica de extratos obtidos de plantas medicinais amazônicas à fungos apodrecedores de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.24, n.2, p.223-228, 2000.

JIMÉNEZ, G.; HASEGAWA, M.; RODRIGUEZ, M.; ESTRADA. O.; MÉNDEZ, J.; CASTILLO, A.; GONZALES-MUJICA, F.; MOTTA, N.; VÁSQUEZ, J.; ROMERO-

VECCHIONE, E. Biological screening of plants of the Venezuelan Amazons. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v.77, n.1. p.77-83, 2001.

KIRKBRIDE, J.H.; WIERSEMA, J.H. *Bogunnia*, a new African genus of tribe Swartzieae (Fabaceae, Faboideae). **Brittonia**, Bronx, v.49, n.1, p.1-23, 1997.

LOUREIRO; A. L.; RODRIQUES, W. A. Estudo anatômico da madeira do gênero *Swartzia* (Leguminosae) da Amazônia. I. **Acta Amazonica**, Manaus, v.5, n.1, p.79-86, 1975.

MANSANO, V. D.; TOZZI, A.M. D. The taxonomy of some Swartzieae (Leguminosae, subfamily Papilionoideae) from southern Brazil. **Brittonia**, Bronx, v. 51, n.2, p.149-158, 1999.

MARSTON, M.A; MAILLARD, M.; HOSTETTMANN, K. Search for antifungal, molluscicidal and larvicidal compounds from African medicinal-plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v.38, n.2-3, p.215-223, 1993.

MOREIRA, F.W.; MOREIRA, F.M.S.; SILVA, M.F. Germinação, crescimento inicial e nodulação em viveiro de saporana (*Swartzia laevicarpa* Amshoff). **Acta Amazonica**, Manaus, v.25, n.3/4, p.149-460, 1995.

NAGY, Z., NÓGRÁDI, M.; SRÁNYI, M.; SZABÓ, B. Synthesis of the pterocarpan constituents of *Swartzia laevicarpa*. **Liebigs Annalen der Chemie**, Deerfield Beach, p127-132, 1984.

NASCIMENTO, C.S. Efeito de extrativos obtidos de espécies florestais impregnados em madeira de *Simaruba amara* (marupá) e submetidos ao ataque de *Nasutitermes* sp. (Isoptera; Termitidae). In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTIFICA, PIBIC/INPA/CNPq, 8, Manaus. **Anais...**, Manaus: Imprensa Universitária da FUAM, 1999. p.233-34.

NASCIMENTO, C.S. Avaliação de propriedades termícidas de extrativos de madeiras amazônicas quanto ao ataque de *Nasutitermes* sp. (Isoptera, Termitidae). 2001. 55f. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação em Engenharia Florestal), Instituto de Tecnologia da Amazônia, UTAM, Manaus.

POLHILL, R.M.; STIRTON, C.H. Evolution and systematics of the Leguminosae. In: POLHILL, R.M. ; RAVEN, P.H. **Advances in legume systematics**. Part 1. Kew: Royal Botanic Garden, 1981. p.1-69.

REYES-CHILPA, R.R.; MORALES, P.V.; BLANCO, S.A. Influencia de los estrativos en la resistencia natural de seis madeiras tropicais al hongos de pudridon morena, *Lenzites trabea*. **Biotica**, Xalapa, v.12, p.1-19, 1987.

REYES-CHILPA, R.; QUIROZ-VASQUEZ, R.R.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M. Antifungal activity of selected plant secondary metabolites against *Coriolus versicolor*. **Journal of Tropical Forest Products**, Malaysia, v.3, n.1, p.110-113.1997.

REYES-CHILPA, R.; GÓMEZ-GARIBAY, F.; TORRES-MORENO, G.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; QUIROZ-VASQUEZ, R.I. Flavonoids and isoflavonoids with antifungal properties from *Platymiscium yucatanum* heartwood. **Holzforschung**, Berlin, v.52, p.459-462, 1998.

RUDMAN, P. The causes of natural durability in timber Pt. XV. A gas chromatographic investigation into the nature and radial variation of the heartwood extractives of cypress pine (*Callistris columellaris* F. Muell). **Holzforschung**, Berlin, v.18, p.116-120, 1964.

RUDMAN, P.; GAY, F.J. The causes of natural durability in timber, Pt. XIV. Intra-specific variations in termite resistance of cypress pine. **Holzforschung**, Berlin, v.18, p.113-116, 1964.

RUDMAN, P. The causes of natural durability in timber, Pt. XVII. The causes of decay and termite resistance in (*Callistris columellaris* F. Muell). **Holzforschung**, Berlin, v.19, p.52-57, 1965.

SANCHÉZ, C.S.; ROCHA, A.F.I.; PINHEIRO, M.L.B.; ANDRADE, C.H.S.; MONTE, F.J.Q. Brachyrachisina: isoflavona inédita de *Swartzia* (Leguminosae). **Acta Amazonica**, Manaus, v.29, n.3, p.419-422, 1999.

SARDAS; R.H.; CHABRAS, S.C.; MINJAS, J.N. Laboratory observations on the molluscicidal properties of *Swartzia madagascariensis* (Leguminosae). **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v.15, n.2, p.211-213, 1986.

SCHULTERS, R.E. De plantis-toxicaris e mundo-novo-tropicale-commentationes, 20 medicinal and toxic uses of *Swartzia* in the Northwest amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v.1, n.1, p.79-87, 1979.

SILVA, M.F.; CARREIRA, L.M.M.;TAVARES, A S.; RIBEIRO, I.C.; JARDIM, M.A. G.; LOBO, M.G.A.; OLIVEIRA, J.O. As Leguminosas da Amazônia Brasileira. Lista prévia. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v.2, n. 2, p.193-237,1989.

SOLANO, D.A.; REYES-CHILPA, R. JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; GOMES- GARIBAY, F.; CHAVES-URIBE, I.; SOUZA-SACHEZ, M. Flavanones and 3-hydroxyflavonones from *Lonchocarpus oaxacensis*. **Phytochemistry**, Oxford, v.55, p.953-957, 2000.

SOUZA; M.S.; GREYER, R. *Swartzia mexicana* (Fabaceae, Swartziae), a new species from Oaxaca, México. **Novon**, Saint Louis, v.12, n.1, p.15-19, 2002.

SOUZA, L.A.G.; SILVA, M.F. Bioeconomical potential of Leguminosae from the lower negro river, Amazon, Brazil. In: BUSSMANN, R.W.; LANGE, S. (Ed.) In: International Congress of Biodiversity, 2001, Cusco. Proceedings of the Congress of Biodiversity Conservación de Biodiversidad en los Andes y la Amazonía, Inka, 2001 v.1, CD-ROOM.

VITAL, B.R.; SHIMADA, A.N.; DELLA LUCIA, R.M.; VALENTE, O.F.; PIMENTA, A.S. Avaliação dos taninos da casca de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden como preservativo de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa- MG, v.25, n.2, p.245-256, 2001.

TEIXEIRA, L.M.; JESUS, M.A. Avaliação da toxicidade de extrativos da pupunha (*Bactris Gasipaes* Kunth) à fungos xilófagos. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTIFICA, PIBIC/INPA/CNPq, 6, Manaus. **Anais**..Manaus: Imprensa Universitária da FUAM,1997. p.119-120.

YAZAKI, Y. Volatility of extractive components in white cypress pine (*Callistris columellaris* F. Muell). **Holzforschung**, Berlin, v.37, p.231-235, 1983.