

RESSALVA

Alertamos para ausência das páginas pré-textuais não incluídas pelo(a) autor(a) no arquivo original.

RESSALVA

Alertamos para ausência das páginas pré-textuais não incluídas pelo(a) autor(a) no arquivo original.

RESUMO

As formigas cortadeiras *Atta sexdens*, conhecidas popularmente como saúvas, são consideradas pragas agrícolas, e são controladas principalmente por inseticidas tóxicos, altamente inespecíficos, prejudiciais ao homem e outros animais, além de poluir o solo e a água.

Estas formigas extraem seus nutrientes através da degradação da matéria vegetal, realizada por polissacaridases (especialmente pectinases), que estão presentes em seu fluido fecal e são produzidas pelo fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*. Assim, a inibição de pectinase seria uma estratégia promissora para controlar as formigas cortadeiras na agricultura de modo mais específico.

No presente trabalho, nós buscamos inibidores de pectinase do fluido fecal em várias partes de 22 espécies vegetais, ensaiando 126 extratos brutos, 99 frações ou sub-frações e 41 substâncias puras isoladas destes vegetais. Nossos resultados indicam que (1) *Cedrela fissilis* (Meliaceae) contém inibidores da pectinase presente no intestino das formigas. (2) O flavonóide (-)-catequina foi identificado como composto majoritário ou puro de todas as frações ativas dos extratos de *Cedrela fissilis*. (3) O flavonóide (-)-catequina, purificado de *Cedrela fissilis*, assim como extratos desta planta contendo majoritariamente (-)-catequina, inibiram a atividade de pectinase contida no fluido fecal,

mas não a atividade de pectinase contida nos jardins de fungo, que provavelmente contém inibidores da ação da (-)-catequina. Assim, sugerimos que o jardim de fungo funciona como uma barreira protetora para as formigas.

ABSTRACT

The leaf-cutting ants *Atta sexdens* are agricultural pests controlled by chemicals which are toxic, not specific and harmful to man, other animal and water resources. They feed on the degradation products of plant material which they cut, harvested to their nest and offer to a symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*, which grows on this plant material to form the so-called fungus garden. The fungus produces polysaccharidases (especially pectinase) which the ants concentrate in their intestine and secrete in the faecal fluid. Thus, pectinase inhibition would negatively affect the ants nutrition and could be a promising strategy for the control of leafcutters.

In the present work, we have searched for pectinase inhibitors in 126 extracts, 99 fractions or sub-fractions and 41 compounds which have been isolated from 22 plant species. Our results showed that (1) *Cedrela fissilis* (Meliaceae) contains inhibitors of the pectinase which is contained in the ants' faecal fluid. (2) (-)-Catequin, a flavonoid, was the major or the unique compound in every *C. fissilis* preparation inhibiting the pectinase activity of faecal fluid. (3) These preparations, however, have not inhibited the pectinase activity of the fungus garden.

We suggest that the fungus garden acts as a barrier which protects the fungal enzymes against harmful compounds which may be introduced in the ants' nest.

INTRODUÇÃO

O fungo *Leucoagaricus gongylophorus* é cultivado pelas formigas cortadeiras, desenvolvendo-se uma relação de simbiose obrigatória.

O fungo fornece alimento e enzimas às formigas, que disseminam o microrganismo, além de coletar e preparar substrato para o seu crescimento cortando folhas, que são carregadas para o interior dos ninhos.

Embora sejam poucas as espécies de formigas pragas, problemas econômicos, com saúde pública e agricultura podem ser extensos (WILLIAMS, 1990).

Como muitas plantações agrícolas, especialmente monoculturas, são afetadas negativamente em virtude do corte realizado pelas formigas, as cortadeiras são consideradas pragas, causando prejuízos econômicos na agricultura.

A forma de controle dessas pragas mais comumente utilizada pelos agricultores envolve métodos químicos que, embora sejam eficazes, muitas vezes possuem efeito temporário, são caros, alguns deles tóxicos, que provocam danos à natureza, e com amplo espectro de ação, afetando organismos importantes para o ecossistema (FORTI & BOARETTO, 1997; WILLIAMS, 1990).

Portanto, torna-se necessária a substituição de compostos químicos tradicionais por outros que sejam menos nocivos ao meio ambiente e, ao mesmo tempo, específicos no combate às formigas cortadeiras.

Existe uma seletividade por parte das formigas cortadeiras quanto ao substrato vegetal coletado para o cultivo de seu fungo simbiote. Considerando que algumas plantas não são atacadas, estas poderiam ser estudadas quanto a sua composição química e possível presença de metabólitos secundários, os quais poderiam ser selecionados se resultassem num efeito tóxico sobre estes insetos pragas. Dessa forma, seriam produzidos inseticidas alternativos através de substâncias isoladas de extratos vegetais.

Outro caminho seria utilizar compostos que inibissem as polissacaridases, presentes no intestino das cortadeiras e nas culturas fúngicas no interior dos formigueiros. Estas enzimas são produzidas pelos insetos, ou pelo próprio fungo simbiote, e degradam os polissacarídeos vegetais, possibilitando o acesso das formigas aos nutrientes derivados do substrato foliar (MARTIN & WEBER, 1969). Entre estas enzimas há a atividade predominante de pectinases (SIQUEIRA *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 2003), o que faz destas um alvo preferencial para o controle das cortadeiras.

Resultados iniciais (ZAVAN, 2002) detectaram que a atividade de pectinases presentes no intestino das formigas cortadeiras foi inibida na presença de extratos brutos metanólicos de diferentes partes de *Cedrela fissilis* (cedro rosa).

O objetivo deste trabalho foi testar sub-frações destes extratos de *Cedrela fissilis* que apresentaram inibição da atividade de pectinase, além de extratos provenientes de outras plantas, sobre a atividade destas enzimas presentes no fluido fecal de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel), a fim de subsidiar a busca de substâncias para selecionar possíveis inseticidas específicos para as cortadeiras.

Além disso, alguns extratos também tiveram seu efeito testado sobre a atividade enzimática de pectinase presente no jardim de fungo de um ninho de *Atta sexdens rubropilosa*.

REVISÃO DA LITERATURA

As formigas cortadeiras como pragas agrícolas

As formigas cortadeiras coletam vegetais que são utilizados como substrato para o cultivo do fungo simbiote. Este hábito faz com que sejam vistas como pragas agrícolas, uma vez que podem diminuir a produtividade de colheitas, acarretando em graves prejuízos aos agricultores.

Desse modo, as cortadeiras são consideradas de grande importância econômica, principalmente pelo fato de quase todas as plantas cultivadas na agricultura poderem ser cortadas. O elevado número de colônias que podem se estabelecer numa determinada área e o difícil e dispendioso combate desta praga aumentam a gravidade do problema.

Para o combate às formigas cortadeiras os agricultores, visando resultado rápido, utilizam principalmente métodos químicos, tais como iscas granuladas e termonebulização, mas que causam efeitos nocivos ao meio ambiente, homem e outros animais.

Assim, os métodos geralmente utilizados possuem limitações e desvantagens, evidenciando-se a importância de estudos que visem novas alternativas de combate às

formigas cortadeiras de maneira a substituir estas técnicas, visando aumentar sua eficiência e não impactar negativamente a natureza.

Métodos atuais de controle

Diversas técnicas têm sido desenvolvidas para controlar as formigas cortadeiras, tais como: controle mecânico, controle cultural, controle biológico e controle químico.

O controle mecânico consiste na retirada da rainha através de escavação do ninho com auxílio de uma enxada e pá. Esta técnica pode ser utilizada em pequenas áreas, desde que os ninhos sejam superficiais (DELLA LUCIA, 1993). Contudo, de uma maneira geral trata-se de uma alternativa de controle inviável devido ao grande esforço requerido na maioria dos casos (FORTI & BOARETTO, 1997).

No controle cultural o solo é preparado com aração e gradagem, no caso de formigueiros com até 4 meses de idade, que não são profundos (DELLA LUCIA, 1993). Entretanto, quando este método é utilizado em formigueiros adultos com maior profundidade, desestrutura o monte de terra solta, podendo dar a falsa impressão de que o ninho foi controlado, quando, na verdade, este teve sua atividade cessada apenas temporariamente (FORTI & BOARETTO, 1997).

No controle biológico são utilizados para a regulação das populações de formigas cortadeiras inimigos naturais como: predadores (pássaros, aranhas, ácaros e besouros), parasitóides e microrganismos patogênicos (fungos, bactérias e vírus), os quais, muitas vezes, não são específicos ao alvo. As formigas cortadeiras e seu fungo simbionte possuem estratégias de defesa impedindo a ação do patógeno, o que compromete a eficiência do método (FORTI & BOARETTO, 1997).

Os métodos químicos têm sido efetivamente utilizados desde a década de 50, quando os inseticidas foram sintetizados. O controle químico, variando na formulação e modo de aplicação, é o único com tecnologia disponível para utilização prática no controle de formigas cortadeiras. Podem ser classificados como formicidas pós, formicidas líquidos, fumigantes, termonebulizados, nebulizados e iscas tóxicas.

Formicidas-pós são inseticidas formulados em veículos sólidos e aplicados com equipamentos manuais no interior do formigueiro. Apresentam como limitação a

impossibilidade de penetração nas câmaras de ninhos adultos de *Atta* devido a complexidade estrutural de câmaras e túneis, além da profundidade.

Este método ainda pode tornar-se ineficiente se o solo estiver úmido, pois o produto fica aderido ao solo, ou ainda quando ocorre separação de fases, fazendo com que este seja aplicado de forma irregular no formigueiro. Outra desvantagem é que a terra solta necessita ser removida 24 a 48 horas antes da aplicação (FORTI & BOARETTO, 1997).

Os formicidas líquidos são produtos com baixa eficiência, uma vez que há a necessidade do contato com as formigas, exigindo que o ninho seja perfurado, além de haver perda do produto por absorção do solo. Assim, estes foram substituídos por iscas tóxicas ou líquidos termonebulizáveis (FORTI & BOARETTO, 1997).

Os fumigantes consistem no emprego de gases tóxicos, como brometo de metila, utilizados para controle de formigas cortadeiras. Apesar de eficaz, possui custo muito elevado, havendo a necessidade de mão de obra especializada para a aplicação, além de ser um produto de alta periculosidade, muito tóxico ao homem, podendo causar sérias queimaduras, irritação nos olhos e nariz (FORTI & BOARETTO, 1997; DELLA LUCIA, 1993).

Na termonebulização, o produto é aspergido em óleo mineral ou diesel através de uma fumaça sob calor, sendo aplicado diretamente nos orifícios dos formigueiros. É um método eficiente no combate a grandes ninhos e áreas extensas, entretanto a manutenção dos equipamentos utilizados na aplicação o torna economicamente inviável, além de haver risco de intoxicação do aplicador (FORTI & BOARETTO, 1997).

Este método ainda apresenta desvantagens operacional e econômica, devido ao transporte e manutenção do equipamento (DELLA LUCIA, 1993).

Na nebulização, o produto é veiculado por gases butano e propano, a frio. Porém, sua distribuição no interior do formigueiro pode ser comprometida pela complexidade do ninho.

Esta técnica é eficiente apenas para formigueiros novos (menores que 1 m²), no caso de formigueiros maiores ocasiona um distúrbio nas colônias, a população de formigas é reduzida, mas é inativada apenas temporariamente. Há baixa eficiência de controle em ninhos adultos de *Atta* (FORTI & BOARETTO, 1997).

As iscas tóxicas constituem-se do emprego de um atrativo adicionado a um princípio ativo tóxico na forma de *pellets*, os quais são distribuídos nas trilhas para que sejam transportados pelas formigas até o interior do ninho.

Embora seja um método muito comum, eficiente, prático e econômico, também possui suas limitações no uso: não pode ser usado em períodos de chuva e em áreas muito extensas, também há a possibilidade de intoxicação de animais silvestres (FORTI & BOARETTO, 1997; DELLA LUCIA, 1993).

É necessário que o produto aja por ingestão, seja inodoro, não repelente, não seja danoso ao ambiente, seja letal a baixas concentrações e apresentar ação tóxica retardada. O dodecacloro, um organoclorado, continha todas essas características associadas, porém, por ser persistente no solo e bioacumulativo, foi proibido em 1992 (FORTI & BOARETTO, 1997).

Há a procura de novos princípios ativos a serem incorporados às iscas, que atuem com menor impacto ao ambiente (DELLA LUCIA, 1993).

Pode-se perceber que os métodos descritos possuem desvantagens e limitações, podendo ser perigosos, tóxicos, dispendiosos ou não eficazes em todos os casos.

Muitas vezes, as medidas de controle provocam dano indevido ao meio ambiente e acabam aumentando a população de formiga (WILLIAMS, 1990).

A simbiose entre fungos e formigas da tribo Attini

Alguns fungos do gênero *Leucoagaricus* estabelecem relação simbiote obrigatória com as formigas cortadeiras da tribo Attini nos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*.

Durante a evolução, o fungo parece ter reduzido a capacidade de formar basidiocarpos e produzir esporos, além de perder a capacidade de competir com outros microrganismos por substrato, dependendo, assim, das formigas para dispersão e proteção (BASS & CHERRETT, 1994).

O fungo fornece às formigas alimento e enzimas polissacaridásicas que facilitam a degradação dos polissacarídeos presentes no material vegetal que carregam para os ninhos, possibilitando a obtenção de nutrientes assimiláveis por elas (HOLLDÖBLER & WILSON, 1990; SIQUEIRA, 1998; SILVA, 2000). Em troca, a formiga coleta e prepara o substrato ótimo para o crescimento do fungo, além de disseminá-lo na natureza, uma

vez que o inóculo do fungo é levado na cavidade bucal de uma rainha fecundada, que formará um novo formigueiro (IHERING, 1898 *apud* DELLA LUCIA, 1993). Ainda, a formiga produz compostos antimicrobianos em suas glândulas mandibulares, que são aplicados à cultura de fungo, reduzindo a contaminação por outros microrganismos (QUINLAN & CHERRETT, 1977).

Após a preparação do substrato, o fungo é inoculado e desenvolve-se predominantemente no estado vegetativo, formando uma estrutura esbranquiçada e esponjosa, denominada “jardim de fungos”, que fica distribuída dentro das diversas câmaras dos formigueiros no subsolo, popularmente denominadas “panelas”. O fungo produz hifas espessas com extremidades arredondadas que são chamadas gongilídeos (WHELLER, 1907). Estas estruturas são agrupadas em cachos, chamados de estáfilos, que são ingeridos pelas formigas. Nestas estruturas estão armazenados nutrientes, que compõem a reserva energética do fungo.

Segundo QUINLAN & CHERRETT (1979), as operárias e a rainha de *Atta cephalotes* alimentam-se do suco proveniente dos estáfilos produzidos pelos fungos, e as larvas, além de alimentarem-se do estáfilo todo, não apenas do suco, também obtém energia do micélio do fungo.

BASS & CHERRETT (1995) afirmaram que o fungo corresponde a 9,0 % das necessidades respiratórias das operárias, e que a ingestão das hifas estaria relacionada à ciclagem de enzimas entre fungo e formiga.

A simbiose é obrigatória para ambos os organismos, que não são encontrados isoladamente na natureza. Qualquer interferência com um dos parceiros afeta a vida dos simbiontes, como o observado em ninhos abandonados pelas formigas, nos quais os jardins de fungo degeneram-se rapidamente (WEBER, 1972).

Existem sete hipóteses, propostas por diferentes autores, a respeito da origem da simbiose entre formigas Attini e fungo, conforme revisado por MUELLER (2001). Foi sugerido que o cultivo do fungo teria tido início a partir de sementes contaminadas, as quais eram levadas pelas formigas ancestrais para o interior de seus ninhos; o fungo, fruto da contaminação, teria passado a ser alimento desses insetos.

Outra hipótese é que as ancestrais das “atíneas”, ao construírem ninho em ambiente úmido, seja com folhas ou escavando o solo, permitiram o crescimento do fungo já presente no local, esses tendo-se tornado posteriormente sua fonte de alimento.

A origem da simbiose poderia ter sido a partir do microrganismo presente em madeiras em estágio de decomposição, onde os ninhos das formigas teriam sido feitos, e no qual cresceria o fungo que passou a servir de alimento para os insetos.

Outra hipótese seria que as formigas teriam cavado ninho próximo a uma raiz, e teriam tido contato com o fungo simbiote como micorriza, e este teria tido acesso ao ninho, onde teria crescido e passado a ser alimento das formigas.

O fungo poderia, ainda, ter se desenvolvido sobre artrópodos mortos que teriam sido coletados pelas formigas e deixados no lixo do ninho, onde o fungo teria crescido e passado a condição de alimento das formigas.

Numa sexta hipótese proposta, o fungo simbiote teria crescido nas fezes de insetos ou das próprias formigas, passando a ser utilizado como alimento.

Todas as hipóteses apresentadas acima postulam um modelo tradicional, no qual um fungo teria crescido acidentalmente no ninho das formigas e teria tornado parte da dieta destes insetos, que teriam desenvolvido a habilidade para promover o crescimento do microrganismo, e depois um mecanismo de transmissão do fungo de mãe para a prole; ou seja, primeiro teria ocorrido o consumo, seguido do cultivo, para posterior transmissão do microrganismo simbiote.

Há, ainda, uma sétima hipótese: a princípio, os fungos utilizavam as formigas como agentes dispersores através da cavidade infrabucal. Para isso, as formigas ingeriam o microrganismo, porém suas hifas ficariam presas nesta cavidade; o que teria provocado uma regurgitação, que seria a forma de dispersão. É provável que essa regurgitação tenha ocorrido no interior do ninho, onde o fungo teria se desenvolvido, sendo incorporado na dieta dos insetos.

Neste último caso é postulado um modelo alternativo, no qual ocorre primeiramente o estágio inicial seria da transmissão, as formigas disseminariam o fungo, sem ingeri-lo, a incorporação na dieta (consumo) teria ocorrido somente depois, e finalmente teria havido o desenvolvimento do cultivo do fungo (MUELLER, 2001).

CURRIE *et al.* (1999, 2003) propuseram um terceiro componente na simbiose: a bactéria filamentosa (actinomiceto) da família Pseudonocardiaceae, que vive na cutícula das operárias dos atíneos. Essa bactéria produz antibióticos que inibem o crescimento do *Escovopsis*, um fungo especializado em parasitar ninhos das Attini (CURRIE & GOULSON, 2001). Desse modo, tal actinomiceto mostra-se um elemento muito

importante para as formigas no combate a esse parasita. Em troca, as formigas fornecem alimento a bactéria, além de dispersá-la (CURRIE *et al.*, 1999).

A bactéria filamentosa foi encontrada em associação com todas as espécies de formiga Attini estudadas (22 espécies representando 8 gêneros), desde as filogeneticamente mais basais (*Myrmicocrypta* e *Apterostigma*) até as mais derivadas (*Acromyrmex* e *Atta*) (CURRIE *et al.*, 1999).

Dependência nutricional entre formigas e fungos

MARICONI (1970), TURNER (1974) *apud* QUINLAN & CHERRETT (1979) e WEBER (1972) relataram que as formiga alimentam-se exclusivamente do fungo simbionte. Porém, BRENT (1886), LITTLEDYKE & CHERRETT (1976) e QUINLAN & CHERRETT (1979) afirmam que as operárias de formigas cortadeiras ingerem seiva de plantas e, segundo QUINLAN & CHERRETT (1978), apenas larvas, que não têm contato com as folhas, seriam exclusivamente alimentadas com o fungo simbionte.

Como as operárias de algumas espécies de formigas cortadeiras não podem ingerir partículas sólidas, que ficam retidas em um filtro infrabucal, a seiva das plantas é proposta como a principal fonte nutricional das formigas. Considerando a necessidade energética de operárias de *Atta cephalotes* durante o forrageamento, propõe-se que a quantidade de hifas fúngicas que uma operária ingere diariamente possibilitaria apenas a aquisição de 5 % de sua energia (QUINLAN & CHERRET, 1979). Logo, a maior parte desta energia seria fornecida pelos nutrientes contidos na seiva das plantas, embora trabalhos recentes (SILVA *et al.*, 2003) indiquem que as formigas devam se alimentar diretamente dos produtos de hidrólise dos polissacarídeos vegetais, que são gerados nos jardins de fungo pela ação das polissacaridases. No mesmo trabalho, SILVA *et al.* (2003) verificaram que operárias de *Atta sexdens* sobrevivem muito pouco quando em contato isoladamente apenas com folhas de plantas e quando somente com o fungo. Porém, quando em contato com o jardim de fungo (fungo com fragmentos vegetais), a sobrevivência é muito grande.

O trabalho de SILVA (2000) comprova as observações de outros autores (ABBOT, 1978 *apud* PANIZZI & PARRA, 1991), mostrando que as formigas adultas sustentam seu trabalho predominantemente com a energia extraída de carboidratos. Entre

eles, parecem ser essenciais os polissacarídeos (SIQUEIRA *et al.*, 1998), que representam até 60 % da matéria sólida vegetal (BERNAYS & CHAPAMAN, 1994; GOLDSTEIN, 1981). Para assimilar estes compostos as formigas necessitam de polissacaridases, que são produzidas pelo fungo simbionte (SIQUEIRA *et al.*, 1998), ingeridas e concentradas no intestino das formigas e, então, distribuídas sobre a matéria vegetal, para provocar sua degradação dentro dos ninhos (SILVA, 2000).

Experimentos de SILVA *et al.* (2003) sugerem que as operárias de *Atta sexdens* sobrevivem muito pouco quando em contato com folhas ou fungo separadamente como fonte nutricional, e sobrevivem muito bem quando alimentadas de jardim de fungo. Isso se dá devido ao consumo de glicose ser maior no último caso, pois a concentração deste açúcar encontrada no jardim de fungo é duas vezes e meia maior que a encontrada na folha e seis vezes e meia maior que a encontrada no micélio fúngico cultivado em laboratório.

Enzimas fúngicas presentes no fluido fecal

Segundo AUTUORI (1941) e QUINLAN & CHERRETT (1978), as operárias cortam o material vegetal fresco, que é transportado para o interior do formigueiro, onde é cortado em pedaços cada vez menores e a cera da cutícula foliar é removida. O processo de lambar a matéria vegetal, de acordo com WEBER (1966) e MARTIN *et al.*, (1969), é necessário para a incorporação de enzimas digestivas e para a descontaminação da superfície da folha, uma vez que microrganismos presentes nas folhas são eliminados.

Segundo ANDRADE *et al.* (2002), lambar a superfície e as bordas dos fragmentos de folha seria a atividade primordial e mais freqüentemente executada dentre *Atta sexdens rubropilosa* para posterior incorporação do fungo.

As operárias adultas depositam fluido fecal sobre a matéria vegetal, depositando enzimas que auxiliam na degradação inicial de proteínas e polissacarídeos, inoculando pequenos tufo de micélio, o que permite a invasão inicial pela hifa no tecido vegetal, facilitando a subsequente ramificação do fungo (BOYD & MARTIN, 1975).

De acordo com WEBER (1966), todas as atíneas, desde o gênero mais basal (*Cyphomyrmex*) ao mais derivado (*Acromyrmex* e *Atta*), caracteristicamente defecam sobre o substrato que preparam antes da incorporação no jardim de fungo.

MARTIN *et al.* (1975) sugerem que as enzimas fecais são uma função adaptativa crucial no cultivo do fungo simbionte, catalisando a degradação de proteínas e polissacarídeos presentes nas folhas, nas quais o fungo é cultivado, fornecendo nutrientes já metabolizados para o fungo, facilitando, assim, seu rápido crescimento inicial.

O tecido vegetal é composto por celulose, hemiceluloses, polissacarídeos pécticos, proteínas estruturais e lignina (NORTHCOTE, 1972; HEREDIA *et al.*, 1995), sendo que substâncias pécticas estão presentes em maior concentração na parede celular primária de plantas superiores (SAKAI *et al.*, 1993). Pectinas representam um terço do peso seco do material vegetal de dicotiledôneas e algumas monocotiledôneas (THAKUR *et al.*, 1997).

Assim sendo, para o microrganismo acessar os nutrientes dos vegetais, é preciso degradar a pectina, e para tanto se torna necessário um complexo enzimático denominado pectinase (mistura de enzimas pécticas ou pectinolíticas) (LINEWEAVER & JANSEN, 1951).

Enzimas proteolíticas originárias do fungo estão presentes no fluido fecal das formigas, promovendo a degradação dos componentes vegetais onde são depositadas, removendo barreiras físicas como pêlos e ceras que as plantas possuem como proteção contra entrada de fitopatógenos, facilitando, assim, a penetração do micélio fúngico no substrato (MARTIN *et al.*, 1975; CHERRETT *et al.*, 1989).

BOYD & MARTIN (1975) e SIQUEIRA (1997) verificaram a presença de algumas polissacaridases no fluido fecal de operárias de formigas cortadeiras e observaram que quando operárias eram isoladas de seu fungo simbionte, as atividades polissacaridásicas do fluido fecal eram reduzidas.

MARTIN *et al.* (1975) observaram que a degradação da pectina em meios de cultivo sintéticos é processada muito rapidamente quando alguns materiais fecais estavam incluídos, e muito mais lenta quando nenhum estava presente.

Segundo MARTIN & MARTIN (1970), o fluido fecal das formigas atíneas contém altos níveis de enzimas ativas e a atividade de enzimas proteolíticas de *Atta sexdens* no reto é três vezes e meia maior que no intestino médio, o que indica a concentração enzimática que ocorre neste local.

BOYD & MARTIN (1975) determinaram, através de purificações enzimáticas parciais, que as proteinases presentes no fluido fecal de operárias de *Atta texana*

possuíam origem fúngica. SILVA (2000) determinou a origem exclusivamente fúngica de pectinases, xilanases e celulasas presentes no intestino de operárias de *Atta sexdens*.

Pectinase foi detectada em maior quantidade no intestino das formigas, correspondendo a cerca de 80 % da atividade encontrada, seguida de amilase e xilanase. Celulase foi detectada em nível muito baixo (SIQUEIRA, 1997; SILVA, 2000).

Controle alternativo de cortadeiras

Segundo CHERRETT (1968), colônias de *Atta cephalotes* cortam algumas espécies de plantas mais frequentemente que outras, independentemente da quantidade da planta. Existe uma seleção das plantas a serem coletadas pelas formigas cortadeiras, o que visa maximizar o crescimento do fungo (FOWLER *et al.*, 1991). A preferência observada em campo também pode ser vista em laboratório, ou seja, as plantas que são preferencialmente atacadas no campo também são cortadas em ninhos de laboratório, e as plantas evitadas em campo são pouco coletadas em condições laboratoriais (BUENO *et al.*, 1989).

Características físicas das folhas (presença de espinhos, epiderme rígida, depósitos cuticulares, pêlos espessos), qualidade nutricional, conteúdo de água, quantidade de nitrogênio, carboidratos, lipídeos, são alguns fatores que podem estar relacionados na escolha das espécies vegetais; e ainda compostos que tornam a planta palatável, ou compostos químicos tóxicos para a formiga ou para o fungo (HARBONE, 1988).

A azadiractina, um limonóide presente nas sementes da planta *Azadirachta indica*, interfere no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo o desenvolvimento da ecdise (REMBOLD, 1989). Também apresenta atividade fagoinibidora, inibindo a alimentação (LEE *et al.*, 1991).

Alguns inseticidas disponíveis no mercado, como o Margosan-O[®], contêm azadiractina como componente principal (VIEGAS JR., 2003).

Dessa forma, substâncias isoladas de plantas podem ser muito eficientes no controle de formigas cortadeiras, já que estas muitas vezes apresentam potencial inseticida contra diversas espécies de insetos.

Na busca por métodos alternativos de combate a insetos considerados praga é importante encontrar substâncias que possam ter seletividade na sua ação.

Assim, nos laboratórios do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) da UNESP Rio Claro juntamente com o laboratório de Química de Produtos Naturais da UFSCar São Carlos, vêm sendo realizados estudos a fim de se encontrar um agente biológico que atinja negativamente formiga e/ou fungo, desestruturando a simbiose.

Tendo em vista que a seletividade das plantas influencia no padrão de forrageamento estabelecido pelas formigas, pesquisas passaram a concentrar-se em extratos de plantas usualmente não coletadas, a partir das quais estão sendo constatadas propriedades fungicidas ou formicidas.

O efeito tóxico de *Sesamum indicum* (gergelim) sobre formiga e fungo simbiote foi comprovado, respectivamente, por BUENO *et al.* (1995), com regressão gradual no número de indivíduos e na massa fúngica até completa extinção dos formigueiros mantidos em laboratório, tratados com folhas de gergelim; e por PAGNOCCA *et al.* (1990), com a inibição do crescimento *in vitro* do fungo cultivado por *Atta sexdens rubropilosa*.

Controle de cortadeiras através da inibição enzimática

Como as formigas dependem do fungo simbiote para sobreviver, o que inclui a habilidade metabólica do fungo sobre polissacarídeos, é possível considerar as polissacaridases fúngicas como alvos potenciais para o controle dos insetos, em uma estratégia altamente específica para o controle das formigas cortadeiras.

A inibição destas enzimas causaria o declínio da nutrição das formigas a partir da matéria vegetal.

Plantas selecionadas para o preparo dos extratos

O grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais da UFSCar tem por objetivo o estudo fitoquímico associado a atividade biológica, dessa forma, extratos vegetais foram disponibilizados para ensaio.

Neste caso, foi feito uma seleção para verificação do efeito das plantas sobre a atividade enzimática de pectinase.

A maioria dos extratos vegetais testados era proveniente da ordem Rutales, que possui muitos metabólitos secundários, atividade biológica e usos medicinais previamente conhecidos.

Plantas utilizadas nos ensaios

Ordem Rutales

1 – Família Meliaceae

Compreende 50 gêneros de distribuição predominantemente nos trópicos de todo o mundo. Em geral são plantas arbóreas, às vezes de grande porte (JOLY, 1993).

As plantas da família Meliaceae são caracterizadas pela presença de tetranortriterpenóides, também conhecidos como limonóides ou meliacinas, um dos principais representantes da classe dos terpenóides (CONNOLLY, 1983). Essas plantas destacam-se pela bioatividade de seus metabólitos secundários, principalmente os limonóides.

Esta classe de compostos apresenta atividades biológicas, tais como: antimalárica, antiparasitária, citotóxica, antifúngica, antibacteriana, antiviral e principalmente inseticida (BRAY *et al.*, 1990; CHAMPAGNE *et al.*, 1992).

1.1 – *Cedrela fissilis* (cedro, cedro rosa)

Planta nativa do Brasil, ocorrendo desde o Rio Grande do Sul até Minas Gerais, principalmente em florestas semidecídua e pluvial atlântica.

Floresce durante os meses de agosto a setembro e seus frutos amadurecem com a árvore totalmente desfolhada durante os meses de julho e agosto.

É de grande importância no setor madeireiro, muito utilizada para a fabricação de móveis em geral, marcenaria, construção civil, entre outras coisas. Além disso, a árvore é empregada no paisagismo de parques e grandes jardins (LORENZI, 1992).

1.2 – *Cipadessa fruticosa*

Espécie amplamente distribuída pelo sudeste da China.

As atividades biológicas do gênero *Cipadessa* têm sido pouco exploradas; LUO *et al.* (2000) relataram a utilização desta planta pela população do sudeste da Ásia no tratamento de malária, diarreia, doenças da pele e queimaduras. JOSHI & JOSHI (2000), mostraram que algumas tribos indígenas do Nepal utilizam-na no tratamento de problemas gástricos e intestinais.

1.3 – *Trichilia* sp.

Ocorre em Minas Gerais e do Mato Grosso do Sul até Rio Grande do Sul, na floresta latifoliada semidecídua.

Sua madeira é utilizada em marcenaria leve, carpintaria, acabamentos internos, etc. Possui características ornamentais recomendada em paisagismo, arborização de ruas estreitas. Seus frutos são consumidos por pássaros (LORENZI, 1992).

Extratos de plantas do gênero *Trichilia* possuem propriedades biológicas como antiviral, analgésica, inibidora de crescimento e inseticida. Esta última tem sido atribuída à classe de substâncias dos tetranortriterpenóides, nas quais estão incluídas a hirtina e a trichilina (MONIQUE *et al.*, 2001).

2 – Família Rutaceae

Compreende cerca de 150 gêneros distribuídos nas regiões subtropicais e especialmente tropicais de todo o mundo, destes, 28 gêneros são encontrados no Brasil (JOLY, 1993). São plantas arbóreas, arbustivas ou ervas aromáticas, contendo compostos terpenóides característicos da família (RIBEIRO *et al.*, 1999).

2.1 – *Helietta* sp.

Com distribuição neotropical, ocorre no México, Estados Unidos (Texas), Cuba, Venezuela, Colômbia, Peru, Brasil (região seca do cerrado, chaco e caatinga), Paraguai e norte da Argentina.

Encontrada em habitats subúmidos ou secos, a maioria das espécies está ausente em locais úmidos (PIRANI, 1998).

Tem como componentes químicos alcalóides, cumarinas e constituintes voláteis.

Possui atividade antibacteriana, sendo utilizada no tratamento de várias doenças (MOURA *et al.*, 2002).

2.2 – *Zanthoxylum acuminatum*

Plantas deste gênero são conhecidas por produzirem uma grande variedade de metabólitos secundários, dentre eles alcalóides, lignanas e cumarinas (GRAY, 1983).

Muitas espécies de *Zanthoxylum* são utilizadas na medicina popular, especialmente na Ásia e na África para o tratamento de disfunções estomacais, reumatismos e diarreias (JAYAWEERA, 1982).

Na Amazônia utiliza-se a madeira de plantas deste gênero na indústria de calçados e de celulose (RIZZINI & MORS, 1976).

2.3 – *Spiranthera odoratissima* (manacá)

Espécie distribuída pelos cerrados e campos do Brasil Central (Rondônia, Mato Grosso, Pará, Maranhão, Piauí, Distrito Federal, Bahia e Minas Gerais) e também na Bolívia entre 400 e 1200 m de altitude.

Spiranthera odoratissima vem sendo empregada popularmente no tratamento de sífilis, infecção dos rins, abscesso e reumatismo, através da ingestão do decocto (em vinho ou aguardente) preparado a partir de suas raízes e folhas (SOUZA, 2004).

2.4 – *Conchocarpus* sp.

Gênero com cerca de 46 espécies (muitas das quais eram anteriormente classificadas em *Angostura* de distribuição geográfica da Nicarágua a nordeste da Bolívia e sudeste do Brasil (LORENZI, 1992).

Algumas substâncias já foram isoladas de várias espécies de *Conchocarpus*, sendo que as provenientes do extrato metanólico das folhas de *Conchocarpus gaudichaudianus bahiensis* apresentou atividade antiinflamatória significativa (CORTEZ, 2002).

2.5 – *Pilocarpus* sp. (jaborandi)

Gênero com 13 espécies, sendo que a maioria encontrada no Brasil, desde o norte do estado do Pará, até sul do Rio Grande do Sul (LORENZI, 1992).

Os alcalóides são constituintes característicos do gênero *Pilocarpus*, sendo a pilocarpina, extraída das folhas, de grande valor medicinal usado no tratamento de glaucoma e calvície (RIZZINI & MORS, 1976).

2.6 – *Erytrochiton* sp.

São descritas cinco espécies neste gênero, com as respectivas distribuições: *Erytrochiton brasiliensis* (Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Mato Grosso, Amazonas, Pará, Equador, Peru, Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname e Bolívia), *Erytrochiton hypophyllanthus* (Colômbia), *Erytrochiton lindenii* (México, Nicarágua e Costa Rica), *Erytrochiton macropodus* (Acre e Amazonas), *Erytrochiton trifoliatus* (Peru).

Suas folhas contêm um óleo volátil com aroma de laranja, a casca da raiz é utilizada para chás, além de ser empregada como vermífugo na medicina caseira.

2.7 – *Rauia* sp.

Planta encontrada na Amazônia, Suriname, Venezuela e Bolívia.

O estudo de óleos voláteis das folhas de *Rauia resinosa* mostrou a presença de monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos. Também houve o isolamento de cumarinas de plantas desse gênero (VELOSO, 1995).

2.8 – *Almeidea* sp.

Esteróides, triterpenos, sesquiterpenos e vários alcalóides derivados do ácido antranílico foram isolados das espécies *Almeidea coerulea* e *Almeidea rubra* por CORTEZ (2002), MAFEZOLI (2001) e SANTOS *et al.* (1998).

3 – Família Simaroubaceae

Compreende 24 gêneros, de distribuição pantropical. Representantes lenhosos, arbustos ou árvores (JOLY, 1993).

Espécies de diversos gêneros desta família possuem propriedades medicinais (RIBEIRO *et al.*, 1999).

3.1 – *Simarouba versicolor* (camboatá, calungá)

Algumas espécies de *Simarouba* apresentam substâncias muito amargas na casca do caule e especialmente na da raiz, às vezes também no lenho e nas folhas.

Espécies do gênero *Simarouba* da região amazônica produzem madeira conhecida como “marupá” (JOLY, 1993).

A espécie *Simarouba versicolor*, planta nativa do Brasil, tem ocorrência no Pará, Maranhão, do nordeste até São Paulo, e Mato Grosso do Sul, nos cerrados, cerradões e caatinga.

Floresce nos meses de julho a setembro, e seus frutos amadurecem de novembro a dezembro.

Sua madeira é utilizada em carpintaria, forros, palitos, etc. Seus frutos são comestíveis e muito apreciados por pássaros. Sua casca fornece fibra para confecções de cordas, estopas e papel. Fornece, ainda, a “casca – paraíba”, inseticida e antihelmíntica. Possui propriedades medicinais (LORENZI, 2002).

A casca é amarga, tônica, vermífuga, anti-anêmica e antisifilítica.

Tanto a casca quanto as folhas são venenosas em altas doses (MORS *et al.*, 2000).

4 – Família Burseraceae

Compreende 20 gêneros distribuídos nos trópicos de todo o mundo. São plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, com espinhos desenvolvidos.

Quase todos os representantes desta família apresentam substâncias balsâmicas no lenho (JOLY, 1993).

As plantas dessa família são conhecidas por seus exsudados e resinas ricos em compostos aromáticos utilizados como perfumaria, vernizes, etc. (LE COINTE, 1934).

Quanto à atividade farmacológica de seus compostos, o gênero *Protium* é o mais explorado.

4.1 – *Protium heptaphyllum*

Planta nativa que ocorre em todo o Brasil, em terrenos arenosos úmidos e secos.

Floresce nos meses de agosto e setembro, seus frutos amadurecem no período de novembro a dezembro.

Sua madeira é apropriada para a construção civil, obras internas, assoalhos, etc. A árvore proporciona boa sombra e apresenta qualidades ornamentais, podendo ser utilizada na arborização urbana e rural.

É uma planta recomendada para compor florestas mistas destinadas ao repovoamento vegetal de áreas degradadas de preservação permanente, principalmente localizadas ao longo de rios e córregos (LORENZI, 1992).

Todas as espécies de *Protium* exsudam, por incisão do tronco, um óleo – resina de cor branco esverdeada e de aroma agradável - que endurece quando em contato com o ar; é um tipo de incenso usado na indústria de perfumaria, farmacêutica e de defumadores místicos (LORENZI, 2002).

Esta resina é usada por algumas tribos indígenas como descongestionante nasal.

As cascas e folhas de *Protium heptaphyllum* são empregadas contra hemorragia, como cicatrizantes, antiinflamatórias, para tratamento de úlceras gangrenosas e inflamações em geral (MORS *et al.*, 2002).

Ordem Rosales

1 – Família Leguminosae

Uma das maiores famílias dentre as dicotiledôneas, compreendendo mais de 600 gêneros, reunindo mais de 18000 espécies, espalhadas em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais.

São plantas de hábito muito variado, desde grandes árvores das matas tropicais, a arbustos, subarbustos, ervas anuais ou perenes e também muitas trepadeiras. Estão presentes nos mais variados ambientes, em diferentes altitudes e latitudes (RIBEIRO *et al.*, 1999).

Esta família é composta por, pelo menos, três subfamílias importantes, dentre elas, Caesalpiniaceae (ou Caesalpinioideae) e Mimosoideae (ou Mimosaceae).

1.1 – Subfamília Caesalpiniaceae

Compreende cerca de 180 gêneros e 2500 a 3000 espécies, principalmente árvores e arbustos. Ocorrem em regiões tropicais e subtropicais.

A maioria dos gêneros encontra-se nos trópicos, na África, América e sudeste da Ásia (RIBEIRO *et al.*, 1999).

1.1.1 – *Dimorphandra mollis* (barbatimão de folha miúda)

Planta nativamente brasileira, ocorre nos Estados de Pará, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo, no cerrado.

Floresce a partir do final de outubro até janeiro, seus frutos amadurecem de agosto a setembro.

Sua madeira é empregada em tabuados, compensados, forros, painéis, etc. Sua casca, rica em tanino, já foi muito utilizada para curtir couro. Árvore recomendada para paisagismo, tem ampla adaptação a terrenos secos e pobres, ótima para plantio em áreas degradadas de preservação permanente com solos que apresentam essas características (LORENZI, 2002).

1.2 – Subfamília Mimosoideae

Esta subfamília é a menor dentre as Leguminosae, compreendendo cerca de 60 gêneros e 3000 espécies, de distribuição pantropical e subtropical, incluindo árvores, ervas, lianas e arbustos (RIBEIRO *et al.*, 1999).

1.2.1 – *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão)

Árvore brasileira que ocorre do Pará até São Paulo, além do estado de Mato Grosso do Sul, no cerrado.

Floresce nos meses de setembro a novembro, e seus frutos amadurecem de julho a setembro.

Possui madeira própria para construção civil, obras expostas e em lugares úmidos.

Sua casca tem alto teor de taninos, utilizada em curtumes, além de ter grande ação estíptica.

Árvore bastante ornamental, pela forma da copa e delicadeza de folhagem. Recomendada para paisagismo e arborização de ruas estreitas, também indicada para plantios mistos em áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 2002).

Seu decocto é indicado contra leucorréia, hemorragias, diarreia, hemorróidas, para limpeza de ferimentos e na forma de gotas contra conjuntivite (MORS *et al.*, 2002).

Ordem Myrtiliflorae (= Myrtales)

1 – Família Myrtaceae

Compreende cerca de 140 gêneros, com aproximadamente 3000 espécies, sendo a maior família da ordem, distribuídos principalmente em regiões tropicais, mas com dois grandes centros de dispersão: nas Américas e na Austrália (RIBEIRO *et al.*, 1999; JOLY, 1993).

São plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas.

As Myrtaceae brasileiras possuem, caracteristicamente, tronco de casca lisa, separando-se todo o ano o ritidoma, que se renova com cada estação de crescimento (JOLY, 1993).

1.1 – *Siphoneugena densiflora* (maria – preta, murta, uvatinga)

Do latim, *siphone* (= sifão), do grego, *eugéneia* (= propícia à reprodução) e do latim, *densiflora* (= que tem flores numerosas e próximas) (RIZZINI & RIZZINI, 1983).

O gênero *Siphoneugena* é pequeno, sendo composto por oito espécies. Ocorre desde Porto Rico até norte da Argentina, com centro de diversidade no sudeste do Brasil, habitando campos rupestres, cerradões e florestas de galerias no sul de Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais e São Paulo (PROENÇA, 1990).

Ordem Sapindales

1 – Família Anacardiaceae

Uma das maiores famílias da ordem, compreende 79 gêneros, com distribuição predominante nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, ocorrendo também nas regiões temperadas (JOLY, 1993).

A resina exsudada da casca, ou de outras partes destas plantas, pode ser tóxica, desencadeando uma reação alérgica (RIBEIRO *et al.*, 1999).

1.1 – *Tapirira guianensis* (pau-pombo)

Planta nativa de ocorrência em todo o território brasileiro, principalmente em terrenos úmidos, em quase todas as formações vegetais.

Floresce entre os meses de agosto a dezembro, e seus frutos amadurecem entre janeiro e março.

Sua madeira é utilizada na confecção de brinquedos, compensados, entalhes, saltos para calçados, cabos de vassouras, etc. (LORENZI, 1992).

Extratos de troncos e folhas são usados popularmente contra lepra, diarreia e sífilis, além de ter sido constatada atividade antimalarial (MELO, 1971 *apud* DAVID *et al.*, 1998).

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi selecionar inibidores enzimáticos que pudessem atuar como possíveis inseticidas específicos para as cortadeiras. Prata tanto, foram avaliados o efeito de algumas preparações sobre a atividade de pectinases presentes no fluido fecal de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel). Entre estas preparações estavam sub-frações e substâncias purificadas do extrato vegetal metanólico bruto de *Cedrela fissilis* (cedro rosa) e de extratos de outros vegetais. As preparações ativas selecionadas foram também testadas sobre a atividade de pectinases presentes no jardim de fungo.

MATERIAIS E MÉTODOS

As plantas utilizadas para preparo dos extratos foram coletadas em diferentes estados do Brasil e identificadas por Dr. José Rubens Pirani, do departamento de Botânica da USP/São Paulo, onde os números referentes às exsicatas foram depositados.

1. Extratos vegetais utilizados

TABELA 1. Plantas utilizadas para obtenção dos extratos vegetais.

Ordem	Família	Planta	Órgão	Data de coleta	Local de coleta
Rutales	Meliaceae	<i>Cedrela fissilis</i>	folha, galho, caule, fruto e raiz	06/01/2001	São Carlos/SP
		<i>Cipadessa fruticosa</i>	folha, galho e fruto	10/2000	Viçosa/MG
		<i>Trichilia ramalhoi</i>	folha e galho	15/01/1985	Colatina/ES
		<i>Trichilia pallens</i>	folha, fruto e galho	14/05/2000	Mucuri/BA
	Rutaceae	<i>Helietta puberula</i>	folha, galho e caule	25/01/2001	Corumbá/MS
		<i>Zanthoxylum acuminatum</i>	folha, galho e caule	25/01/2001	Bonito/MS
		<i>Spiranthera odoratissima</i>	folha, galho e caule		Jataí/GO
		<i>Conchocarpus longiflorus</i>	folha	14/05/2000	Mucuri/BA
		<i>Conchocarpus heterophyllus</i>	folha	14/05/2000	Mucuri/BA
		<i>Pilocarpus giganteus</i>	folha e caule		Linhares/ES
		<i>Pilocarpus riedelianus</i>	folha	19/05/2000	Piuma/ES
		<i>Pilocarpus grandiflorus</i>	folha	11/05/2000	Linhares/ES
		<i>Erythrochiton brasiliensis</i>	folha	19/05/2000	Piuma/ES
		<i>Rauia</i> sp.	folha e caule	15/05/2000	Nova Viçosa/BA
		<i>Almeidea limae</i>	folha, galho e caule	06/02/1993	Itacaré/BA
		<i>Almeidea rubra</i>	folha, galho e caule	19/05/2000	Piuma/ES
	Simaroubaceae	<i>Simarouba versicolor</i>	folha, galho e caule	20/01/2001	Prata/MG
	Burseraceae	<i>Protium heptaphyllum</i>	folha e galho	13/05/2000	Nova Viçosa/BA
Rosales	Leguminosae	<i>Dimorphandra mollis</i>	pedúnculo e inflorescência	01/2004	Corumbataí/SP
		<i>Stryphnodendron adstringens</i>	pedúnculo e inflorescência	01/2004	Corumbataí/SP
Myrtiflorae	Myrtaceae	<i>Siphoneugena densiflora</i>	galho, caule e raiz	07/2000	Poços de Caldas/MG
Sapindales	Anacardiaceae	<i>Tapirira guianensis</i>	folha, galho e caule	15/05/2000	Nova Viçosa/BA

TABELA 2. Partes das plantas utilizadas para obtenção dos extratos vegetais e respectivos códigos.

Partes da planta	Código
Folha	F
Galho	G
Caule	C
Raiz	R
Fruto	E
Inflorescência	Infl
Pedúnculo	Ped

TABELA 3. Solventes utilizados para obtenção dos extratos vegetais e respectivos códigos.

Solvente	Código
Hexano	H
Diclorometano	D
Metanol	M
Acetato de etila	A
Hidroalcoólico	Hidr
Hidrometanólico	Hidrom

2. Obtenção dos extratos vegetais

Os extratos vegetais, frações e substâncias isoladas foram preparados e fornecidos pelo Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

Folhas secas ou outras partes dos vegetais foram moídas em moinhos do tipo Willey, submetidas à extração por uma sequência de solventes orgânicos puros (extração sequencial), à temperatura ambiente, partindo-se do menos polar para o mais polar: hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água. A massa de folhas ficou suspensa em cada solvente durante aproximadamente sete dias, sendo filtrada, e o resíduo suspenso no próximo solvente, e assim sucessivamente.

Para a concentração dos extratos foi utilizado um Rotavapor – RE Büchi operando a vácuo na temperatura de 40 a 45° C, dependendo do ponto de evaporação do solvente (hexano até metanol) e liofilizador para água (HARBONE, 1990).

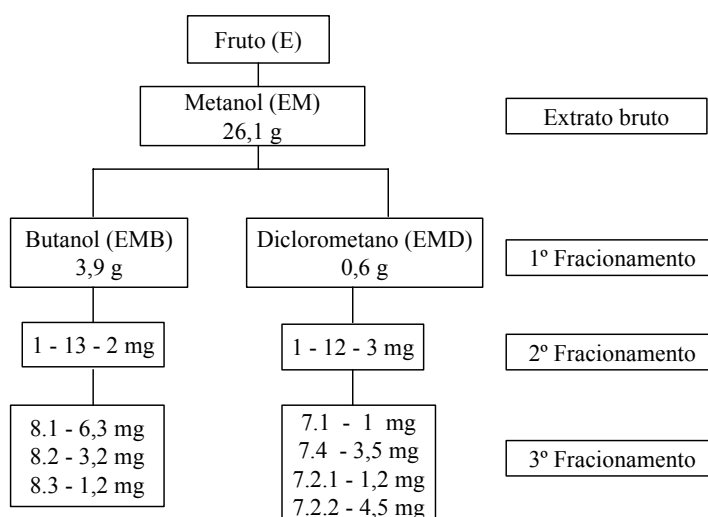
3. Fracionamento e isolamento de compostos

Para os fracionamentos e isolamento das substâncias utilizou-se partição líquido-líquido e técnicas cromatográficas tradicionais: CLC (Cromatografia Líquida em Coluna), utilizando-se várias fases estacionárias (principalmente sílica gel), e CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência). Para misturas mais polares foram utilizadas as técnicas de contra-corrente: RLCCC (Rotation Locular Counter-Current Chromatography) ou DCCC (Droplet Counter-Current Chromatography) (WOLF, 1969; LOVE & GOODMAN, 1970).

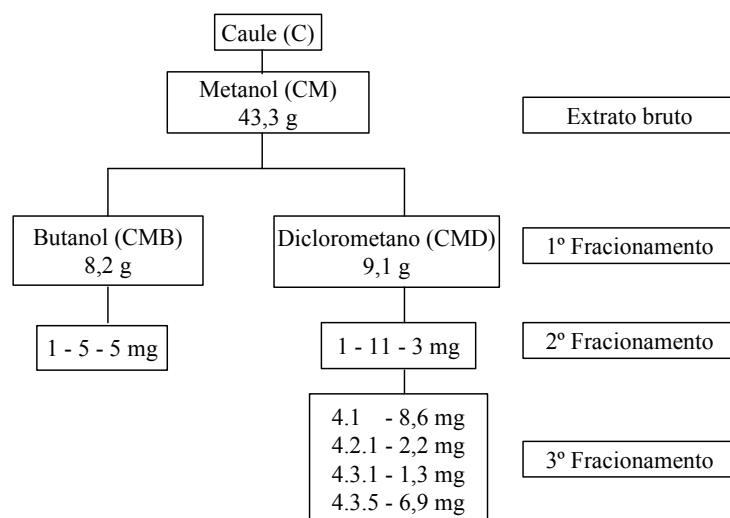
4. Identificação de compostos

Os compostos isolados foram identificados principalmente por técnicas espectroscópicas: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN¹H), Ressonância Magnética Nuclear Carbono-13 (RMN¹³C), Infravermelho, Ultravioleta e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (SILVERSTEIN *et al.*, 2000; BREITMAIER, 1993; WHERLI & WIRTHLIN, 1978; MCLAFFERTY & TURECEK, 1993).

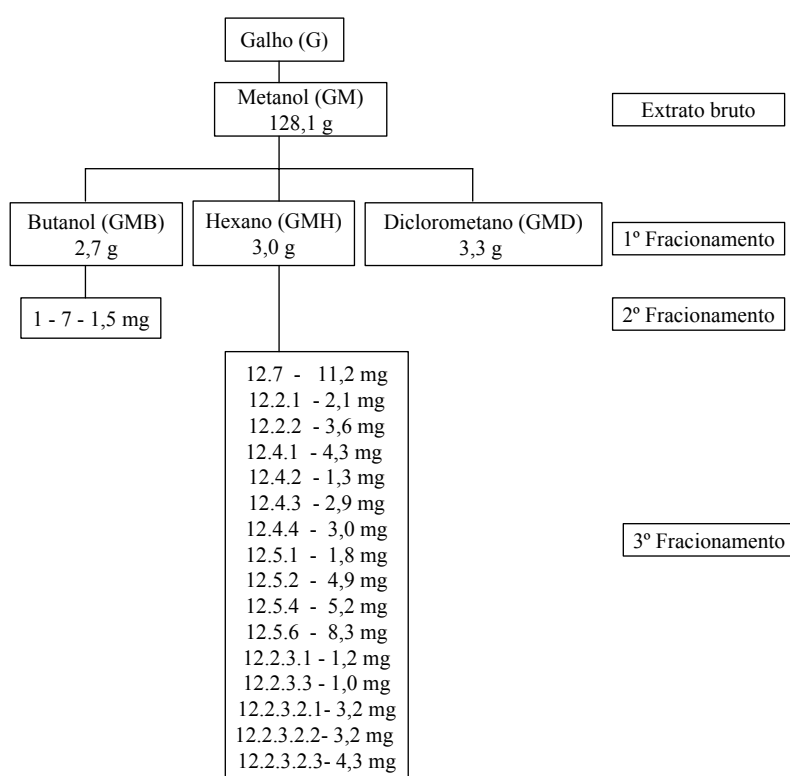
5. Fracionamentos com extratos brutos metanólicos de *Cedrela fissilis*.



FLUXOGRAMA 1. Fracionamentos a partir do extrato bruto metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* e respectivas massas.



FLUXOGRAMA 2. Fracionamentos a partir do extrato bruto metanólico de caule de *Cedrela fissilis* e respectivas massas.



FLUXOGRAMA 3. Fracionamentos a partir do extrato bruto metanólico de galho de *Cedrela fissilis* e respectivas massas.

6. Coleta e armazenagem de fluido fecal

Após a coleta das operárias de *Atta sexdens rubropilosa* de um formigueiro mantido em laboratório, estas foram colocadas numa bandeja plástica revestida com teflon líquido nas bordas (para impedir a saída das formigas). Para a imobilização das operárias, estas foram mantidas em câmara fria a 10° C por 15 minutos. Em seguida, o abdome do inseto foi comprimido com uma pinça e o fluido fecal expelido coletado com uma pipeta automática, sendo colocado em tubos de microensaio. As amostras de fluido fecal foram armazenadas em freezer a - 20° C.

7. Efeito de extratos e substâncias purificadas sobre a atividade de pectinase do fluido fecal

O ensaio enzimático foi realizado adicionando-se substrato pectina cítrica (Sigma P-9135) a 2,0 g.100 mL⁻¹, em tampão citrato e fostato 50 mM, pH = 5,0, à amostra de fluido fecal coletada das operárias de *Atta sexdens rubropilosa*.

Quatro microlitros da solução de extrato vegetal, fração, sub-fração ou substância pura, diluídos em DMSO (Dimetil-sulfóxido) (50 µg/µL) foram adicionados às reações enzimáticas contendo 150 µL de solução de pectina cítrica, 75 µL de fluido fecal diluído 500 vezes em água (contendo entre 96000 U e 472000 U; 1 U = µmol de ácido galacturônico/min) e 71 µL de água ultra-pura (reação teste). A reação controle continha 4 µL de DMSO puro ao invés da solução dos extratos. A mistura reacional foi incubada a 37° C sob agitação e amostras de 50 µL foram coletadas nos tempos de incubação zero e 30 minutos, seguindo imediatamente para a determinação de açúcares redutores. Experimentos prévios mostraram que entre zero e 30 minutos e nestas condições reacionais, a degradação de pectina ocorre em velocidade inicial.

A reação de açúcares redutores consistiu em misturar 50 µL de amostra (coletada do ensaio enzimático) a 100 µL de reagente de ADNS (MILLER, 1959) e 100 µL de água ultra pura.

A seguir, a mistura dos três componentes foi submetida à fervura em banho-maria, por 5 minutos, e, em seguida, imediatamente resfriada em banho de gelo. As amostras foram centrifugadas a 15000 g por 3 minutos e o sobrenadante submetido à

leitura em espectrofotômetro a 540 nm, para obtenção das densidades óticas (D.O.) das reações controle e teste.

As diferenças de DO no tempo zero e final foram calculadas para os experimentos testes (DO_T) e controle (DO_C). O efeito (E) dos extratos, fração, sub-fração ou substância pura sobre a atividade enzimática foi calculado por $DO_T \cdot DO_C^{-1}$.

8. Análise estatística

O teste Mann Whitney (95 %) (ZAR, 1996; MOTULSKY, 1995) foi aplicado para avaliar a significância entre as diferenças obtidas das DOs das reações testes e nas reações controles, sendo utilizadas quatro réplicas em cada reação (controle e teste).

9. Determinação da massa seca

Um grama de jardim de fungo foi coletado de um ninho do laboratório do Centro de Estudos de Insetos Sociais, determinando-se sua massa úmida; a seguir, essa amostra foi colocada em placa de petri forrada com papel de filtro, e levada para estufa a 60° C por 24 horas. Papel de filtro sem amostra (controle) acompanhou a secagem para que fosse determinada a massa perdida por desidratação do papel. O valor obtido foi subtraído daquele correspondente à massa aparente da esponja seca, resultando na massa real da esponja seca.

A relação massa úmida / massa seca foi determinada e utilizada no cálculo da atividade enzimática obtida da esponja.

10. Preparo do extrato do jardim de fungo

Um grama de jardim de fungo foi coletado do formigueiro do laboratório do C.E.I.S, e, após retirar-se as formigas, foram adicionados 10 mL de tampão citrato fosfato 50 mM, pH = 5,0, esta mistura foi homogeneizada por cinco vezes com o auxílio de um homogeneizador tipo Potter, sendo que o sobrenadante, que continha a porção solúvel da amostra, foi em seguida filtrado em papel Whatman nº 1 e, a seguir, em filtro de 47 mm

de diâmetro com poro de 0,45 μm , obtendo-se o extrato, contendo enzimas, a partir do qual foi feita a reação enzimática de pectinase.

11. Efeito de extratos e substância purificada sobre a atividade de pectinase do jardim de fungo

Quatro microlitros da solução de extrato bruto etanólico de folha ou galho de *Cedrela fissilis* ou de (-)-catequina, diluídos em DMSO (Dimetil-sulfóxido) (50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) foram adicionados às reações enzimáticas contendo 150 μL de solução de pectina cítrica, 75 μL de extrato de jardim de fungo sem diluição e 71 μL de água ultra-pura (reação teste). A reação controle continha 4 μL de DMSO puro ao invés da solução de extratos. A mistura reacional foi incubada a 37° C sob agitação e amostras de 50 μL foram coletadas nos tempos zero, 5, 10, 15, 20 e 30 minutos, seguindo imediatamente para a determinação de açúcares redutores, leitura em espectrofotômetro a 540 nm conforme descrito no item 7.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

I – Resultados do ensaio enzimático de pectinase presente no fluido fecal.

Ordem Rutales

1 – Família Meliaceae

1.1 – *Cedrela fissilis* (cedro, cedro rosa)

Ensaaios com extratos brutos de *Cedrela fissilis* realizados anteriormente (ZAVAN, 2002) apontaram que os extratos metanólicos a 0,7 µg/µL apresentam $E < 0,20$ na atividade das pectinases de fluido fecal. Isso indicou que inibidores em potencial desta atividade poderiam ser purificados deste extrato e, possivelmente, utilizados no controle de formigas cortadeiras.

Assim, os extratos metanólicos ativos foram fracionados e a atividade inibitória manteve-se principalmente nas frações butanólica e diclorometânica de fruto, com valor de E 0,13 e 0,04 respectivamente; as frações butanólica e diclorometânica de caule reduziram a atividade de pectinase, apresentando E 0,52 e 0,34, respectivamente; e as

frações butanólica e diclorometânica de galho resultaram em E igual a zero (ou seja, inibição de 100 %) e 0,42, respectivamente (ZAVAN, 2002).

Estas frações sofreram refração e as sub-frações resultantes foram ensaiadas para avaliação de seu efeito sobre a atividade de pectinase do fluido fecal.

Esta parte experimental do trabalho restringe-se a ensaios inéditos de análise de efeito de extratos vegetais (e substâncias extraídas de plantas) sobre a atividade da enzima pectinase presente no intestino de *Atta sexdens rubropilosa*, propondo-se uma nova estratégia de controle de formigas cortadeiras (ZAVAN, 2005, submetido). Assim, torna-se difícil o confronto dos resultados do teste enzimático com dados pré-existent na literatura.

A figura 1 indica que as sub-frações cromatográficas de 4 a 13 conservaram a inibição observada anteriormente em seus extratos relacionados, apresentando valor E de forma estatisticamente significativa.

A última sub-fração (13) apresentou efeito zero, ou seja, inibição de 100 %. Embora este seja um ótimo resultado, havia quantidade muito pequena desta sub-fração, por isso não foi possível seu refração.

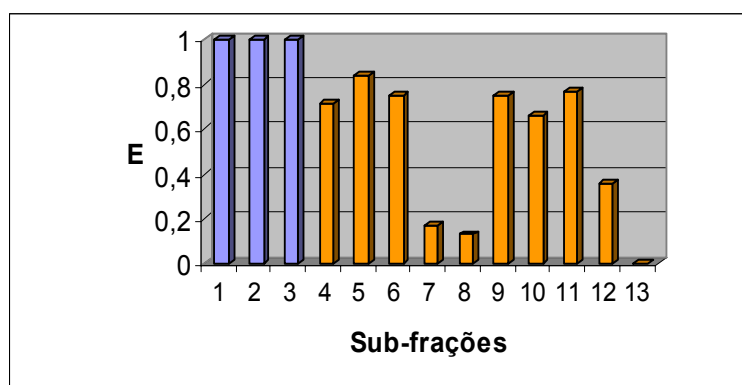


Figura 1. Efeito de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* (EMB) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

E: fruto; M: metanol; B: n-butanol.

A sub-fração EMB-8, que apresentou E igual a 0,13, passou por um novo processo de fracionamento.

As subfrações resultantes deste refractionamento mantiveram a inibição, com valores de E iguais a 0,79 (sub-fração 8.1), 0,22 (sub-fração 8.2) e 0,62 (sub-fração 8.3) (figura 2).

A sub-fração EMB-8.2 foi identificada, por Ressonância Magnética Nuclear, como (-)-catequina pura.

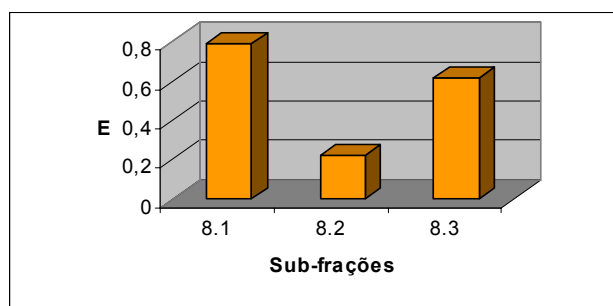


Figura 2. Efeito de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* (EMB – 8) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

E: fruto; M: metanol; B: n-butanol.

Os dados da figura 3 mostram que a maioria das sub-frações obtidas a partir da fração diclorometânica do extrato metanólico de fruto (EMD) de *Cedrela fissilis* manteve a redução da atividade enzimática de pectinase, com exceção das sub-frações 5, 11 e 12, que não apresentaram efeito significativo.

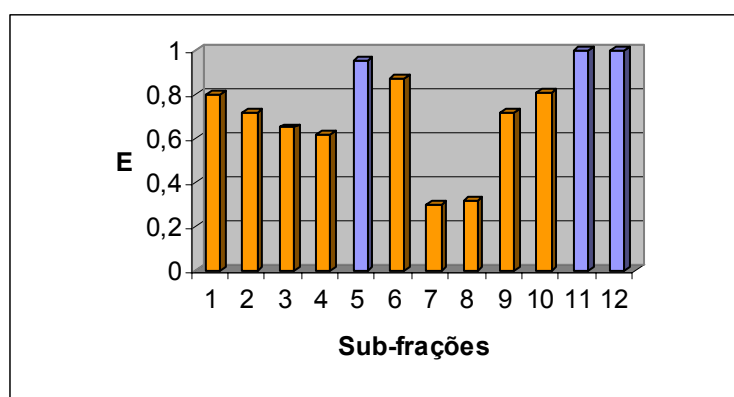


Figura 3. Efeito de sub-frações da fração diclorometânica do extrato metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* (EMD) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

E: fruto; M: metanol; D: diclorometano.

A sub-fração 7 do fracionamento EMD, apresentou menor valor de E (0,30) e foi, portanto, refractionada.

Porém, os resultados representados pela figura 4 indicam que tal efeito não se manteve, uma vez que somente a sub-fração EMD 7.2.2 apresentou inibição ($E = 0,87$), ainda assim, pouco expressiva.

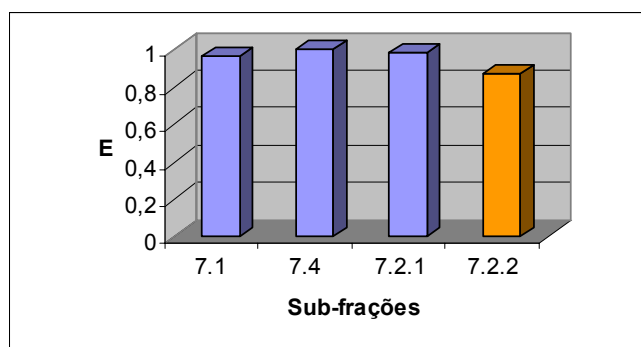


Figura 4. Efeito de sub-frações da fração diclorometânica do extrato metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* (EMD - 7) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

E: fruto; M: metanol; D: diclorometano.

Na figura 5, podem ser identificadas sub-frações butanólicas do extrato metanólico com inibição estatisticamente distinta do experimento controle.

Os valores de E variaram entre 0,33 e 0,90, sendo que as sub-frações 1 e 3 apresentaram as maiores inibições de pectinase; entretanto, estas não foram refractionadas devido a pouca quantidade de material.

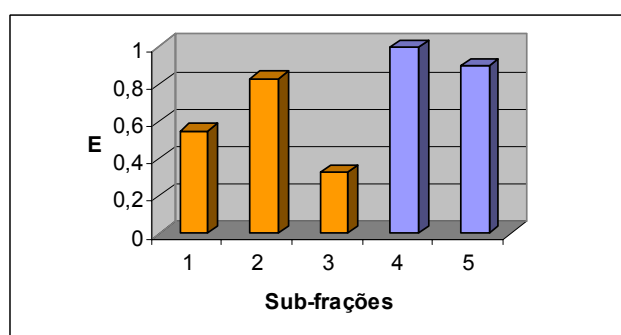


Figura 5. Efeito de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de caule de *Cedrela fissilis* (CMB) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

C: caule; M: metanol; B: n-butanol.

Na figura 6 podem ser vistas várias sub-frações que apresentaram inibição enzimática.

A partição 7, que apresentou efeito zero (inibição de 100 %), foi identificada, por Ressonância Magnética Nuclear, como a substância pura (-)-catequina.

Seguem, ainda, outras sub-frações também com alta inibição (4, 5, 6 e 8, com valores de E iguais a 0,15, 0,11, 0,08 e 0,11, respectivamente). Essas quatro sub-frações, analisadas por Ressonância Magnética Nuclear, foram classificadas como de constituição química muito semelhante. Como, dentre estas, CMD – 4 era a sub-fração em maior quantidade de material, somente esta foi refractionada.

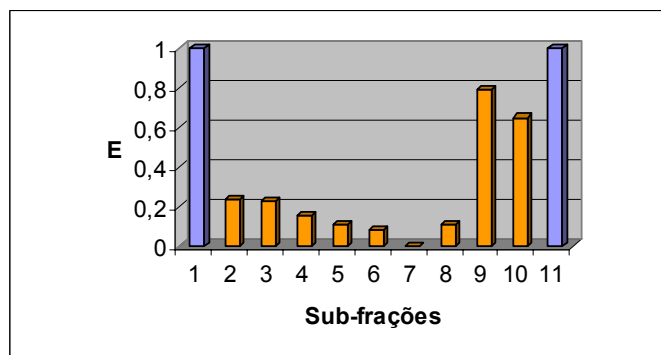


Figura 6. Efeito de sub-frações da fração diclorometânica do extrato metanólico de caule de *Cedrela fissilis* (CMD) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

C: caule; M: metanol; D: diclorometano.

A sub-fração CMD – 4.3.5, que apresentou bastante inibição ($E = 0,24$), foi analisada por Ressonância Magnética Nuclear e identificada como (-)-catequina pura.

As demais sub-frações do refractionamento da fração diclorometânica do extrato metanólico de caule de *Cedrela fissilis* apresentaram ação muito pequena sobre a atividade de pectinase (figura 7).

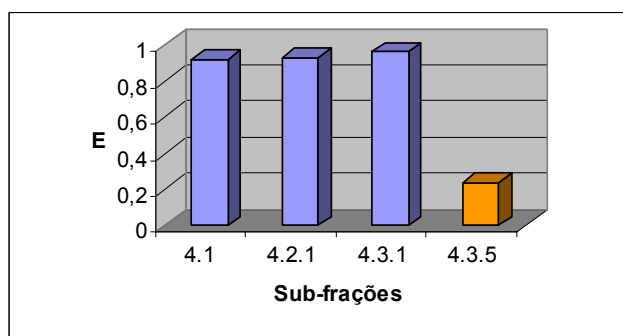


Figura 7. Efeito de sub-frações da fração diclorometânica do extrato metanólico de caule de *Cedrela fissilis* (CMD – 4) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

C: caule; M: metanol; D: diclorometano.

A figura 8 apresenta resultados de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de galho de *Cedrela fissilis*, mostrando que todas tiveram inibição significativa sobre a atividade de pectinase, exceto a sub-fração GMB – 7.

Embora tenha havido inibição enzimática, as sub-frações ativas, não foram refracionadas em virtude de pouca quantidade de material.

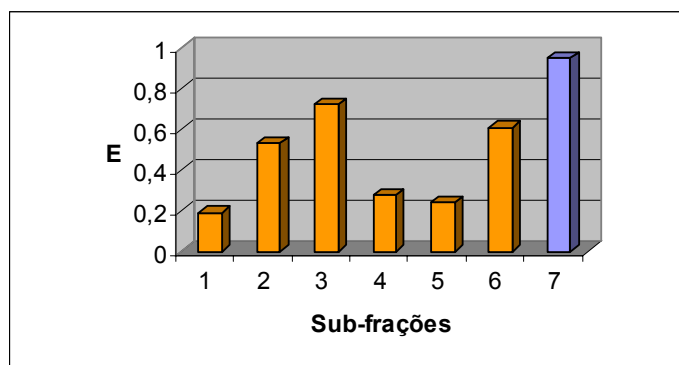


Figura 8. Efeito de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de galho de *Cedrela fissilis* (GMB) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

G: galho; M: metanol; B: n-butanol.

Através de Ressonância Magnética Nuclear foi determinada a presença de flavonóides glicosilados na fração hexânica do extrato metanólico de galho de *Cedrela fissilis* (GMH), entretanto, como as quantidades obtidas eram mínimas, não foi possível seguir com a identificação.

O resultado de inibição enzimática não foi satisfatório.

Das 16 sub-frações ensaiadas, apenas duas apresentaram efeito de inibição significativo sobre a enzima pectinase: GMH 12.7 (0,74) e GMH 12.5.6 (0,57), ou seja, as sub-frações, de uma maneira geral, não surtiram grande efeito sobre a atividade enzimática analisada (figura 9).

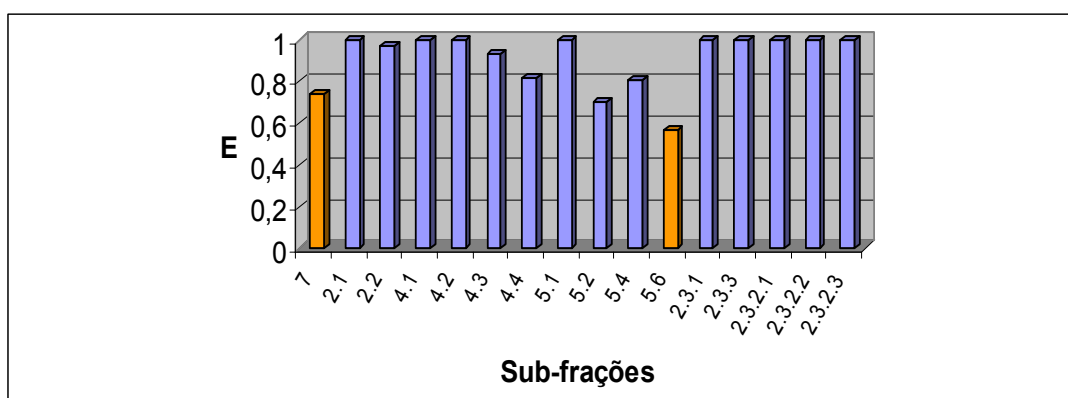


Figura 9. Efeito de sub-frações da fração hexânica do extrato metanólico de galho de *Cedrela fissilis* (GMH – 12) sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

G: galho; M: metanol; H: hexano.

A inibição da atividade de pectinase proporcionada pelas sub-frações de *Cedrela fissilis* levou a conclusão de que tais preparações continham importantes inibidores enzimáticos em potencial, o que permitiu a continuidade do trabalho de fracionamento em busca dos compostos envolvidos com esta atividade inibitória.

Através da análise por Ressonância Magnética Nuclear, houve o isolamento de um flavonóide identificado como (-)-catequina, substância encontrada de forma pura em algumas sub-frações (EMB – 8.2, CMD – 7 e CMD – 4.3.5), além de ser composto majoritário das demais sub-frações ativas de *Cedrela fissilis*.

Uma vez que os extratos brutos metanólicos apresentaram altas porcentagens de inibição da atividade enzimática, considerou-se a semelhança de polaridade entre metanol e água (ambos polares), e, assim, extratos brutos aquosos foram preparados, nas seguintes temperaturas: 4° C, 25° C e 100° C.

Conforme mostrado pelas figuras 10 a 12, os extratos aquosos de vários órgãos da planta *Cedrela fissilis* apresentaram pouca ou nenhuma inibição enzimática ($E \geq 0,55$).

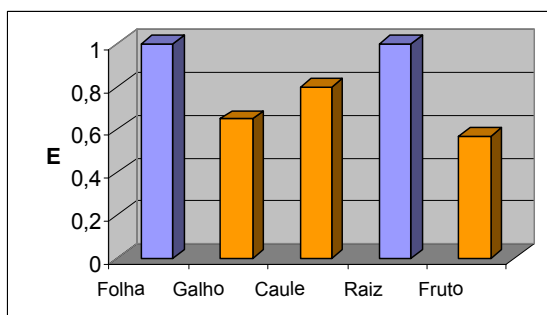


Figura 10. Efeito de extrato bruto aquoso de *Cedrela fissilis*, obtido a 4° C, sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

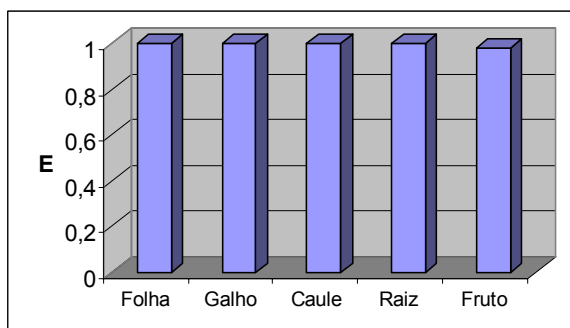


Figura 11. Efeito de extrato bruto aquoso de *Cedrela fissilis*, obtido a 25° C, sobre a atividade de pectinase.

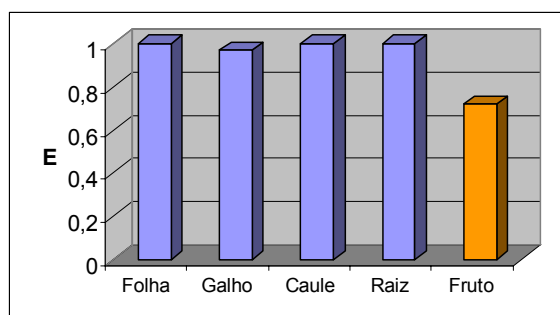


Figura 12. Efeito de extrato bruto aquoso de *Cedrela fissilis*, obtido a 100° C, sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

Uma vez que os extratos aquosos não apresentaram a inibição esperada, foram preparados extratos etanólicos, por possuírem a mesma natureza polar.

A figura 13 indica que todos os extratos etanólicos de *Cedrela fissilis* testados apresentaram inibição significativa sobre a enzima ensaiada, principalmente os extratos provenientes de folhas e galhos, ambos com efeito de 0,07.

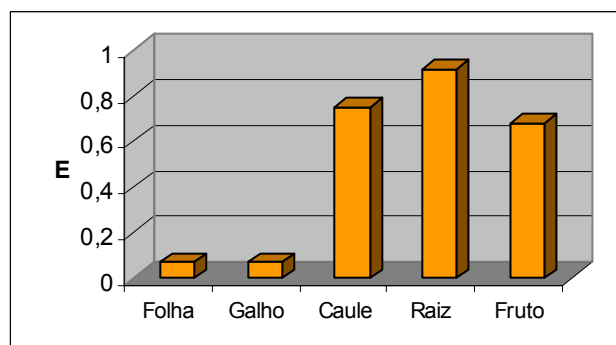


Figura 13. Efeito de extrato bruto etanólico de *Cedrela fissilis* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

Os extratos etanólicos de *Cedrela fissilis* apresentaram inibição da atividade de pectinase do fluido fecal, principalmente os provenientes de folha e galho (ambos com $E = 0,07$), o que indicou um resultado satisfatório e útil, pois o solvente tornaria o

produto menos agressivo ao aplicador e ao mesmo tempo menos danoso para o meio ambiente, uma vez que o etanol tem menor toxicidade que o solvente metanol.

O uso do extrato bruto etanólico de *Cedrela fissilis* no controle de formigas cortadeiras evitaria o fracionamento deste extrato para obtenção de (-)-catequina, ou a síntese dessa substância.

A princípio, *Cedrela fissilis* foi selecionada para preparo de extratos por ser pertencente à família Meliaceae, caracterizada por conter limonóides, dos quais poderia ser identificada ação inseticida.

Além dos limonóides, triterpenos e esteróides também foram isolados dessa planta e foram ensaiados, a fim de ser averiguado o efeito sobre a atividade enzimática de pectinase.

Embora alguns limonóides de *Cedrela fissilis* tenham apresentado efeito significativo de acordo com o teste estatístico utilizado, a inibição apresentada não foi muito alta (o menor valor de E foi 0,87).

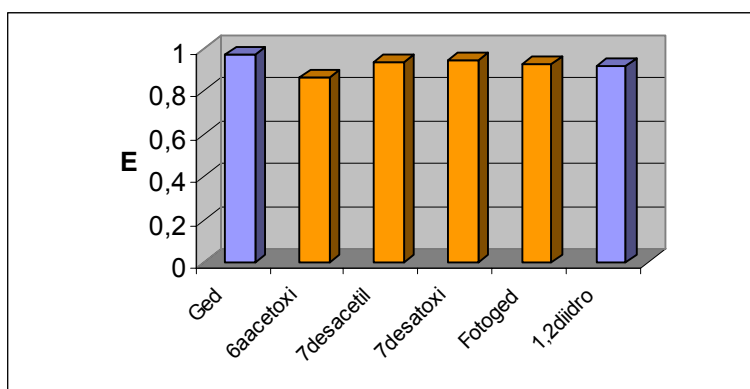


Figura 14. Efeito de limonóides do tipo gedunina, isolados de *Cedrela fissilis*, sobre a atividade de pectinase. Ged: Gedunina, 6acetoxi: 6 α -acetoxigedunina, 7desacetil: 7-desacetilgedunina, 7desacetoxi: 7-desacetoxi-7-oxogedunina, Fotoged: Fotogedunina, 1,2diidro: 1,2-diidro-3 β -hidroxi-7-desacetoxi-7 oxogedunina. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

Dentre os triterpenos isolados de *Cedrela fissilis*, o ácido oleanônico apresentou efeito de 0,67 sobre a atividade de pectinase, com ação significativa de acordo com o teste estatístico utilizado (figura 15).

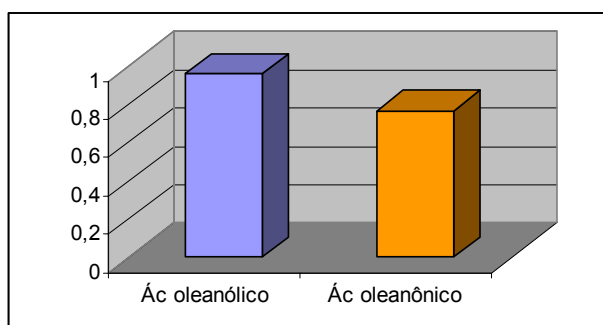


Figura 15. Efeito de triterpenos isolados de *Cedrela fissilis*, sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

A figura 16 exibe resultados de ensaios com esteróides isolados de *Cedrela fissilis*, o quais, embora tenham apresentado inibição sobre a pectinase, fizeram-no de maneira pouco expressiva e não significativa ($E = 0,84$ e $0,70$).

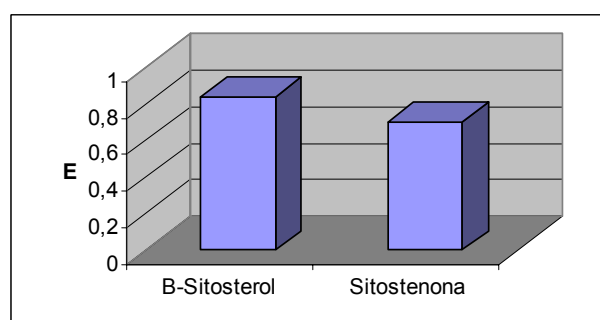


Figura 16. Efeito de esteróides isolados de *Cedrela fissilis* sobre a atividade de pectinase.

Cedrela fissilis mostrou-se promissora como fonte de inibidores de pectinase presente no fluido fecal que pudessem ser utilizados no controle de formigas cortadeiras. O efeito inibidor desta enzima foi evidenciado nos extratos brutos, principalmente nos metanólicos, e confirmado durante os fracionamentos destes extratos.

Além dos extratos de *Cedrela fissilis*, extratos de outras plantas foram ensaiados na presença da pectinase do fluido fecal, a fim de se estudar seu efeito e possível potencial inibitório.

Extratos provenientes de *Cipadessa fruticosa*, *Trichilia ramalhoi*, *Trichilia pallens*, *Helietta puberula*, *Zanthoxylum acuminatum*, *Spiranthera odoratissima*, *Conchocarpus longifolius*, *Conchocarpus heterophyllus* (somente fração), *Pilocarpus giganteus*, *Pilocarpus riedelianus*, *Pilocarpus grandiflorus*, *Erythrochiton brasiliensis*, *Rauia* sp., *Almeidea limae*, *Almeidea rubra* (somente fração), *Simarouba versicolor*, *Protium heptaphyllum*, *Dimorphandra mollis*, *Stryphnodendron adstringens*, *Siphoneugena densiflora* e *Tapirira guianensis* foram testados, além de substâncias isoladas de alguns deles.

1.2 – *Cipadessa fruticosa*

Não há dados na literatura sobre o uso de *Cipadessa fruticosa* como inseticida. As atividades biológicas das plantas pertencentes à esse gênero tem sido pouco exploradas, havendo alguns relatos de seu uso medicinal no sudeste da Ásia (LUO *et al.*, 2000) e por tribos indígenas no Nepal (JOSHI & JOSHI, 2000).

Com relação ao efeito do extrato vegetal de *Cipadessa fruticosa* sobre a atividade de pectinase, através da figura 17 pode ser visto que o extrato metanólico de galho destaca-se por apresentar inibição relativamente acentuada.

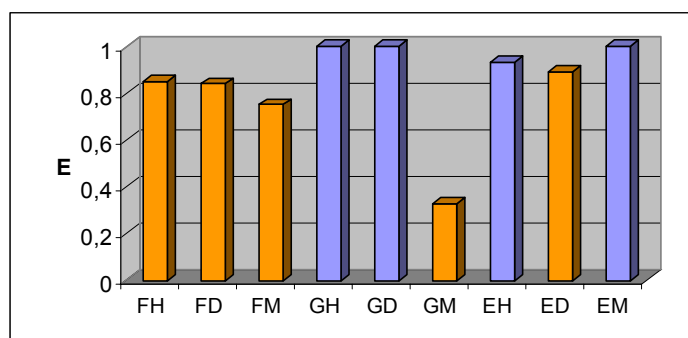


Figura 17. Efeito de extrato bruto de *Cipadessa fruticosa* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; G: galho; E: fruto; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

Houve isolamento de algumas substâncias puras que compõem extratos de *Cipadessa fruticosa*. Estas foram testadas, a fim de ser analisada possível inibição sobre a atividade enzimática.

Das substâncias puras extraídas de *Cipadessa fruticosa*, destacam-se com inibição da atividade de pectinase apenas a Cipadesina A ($E = 0,73$) e a Cipadesina ($E = 0,59$). As demais substâncias não inibiram a ação da enzima pectinase (figura 18).

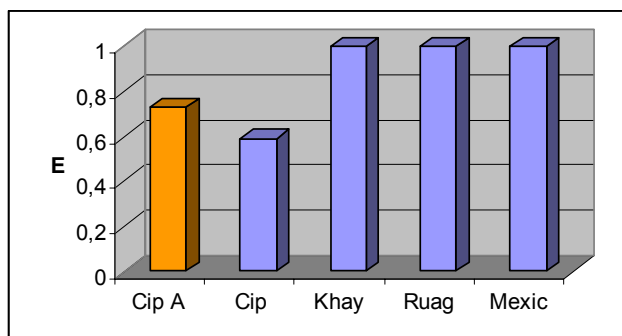


Figura 18. Efeito de substâncias isoladas de *Cipadessa fruticosa* sobre a atividade de pectinase. CipA: Cipadesina A, Cip: Cipadesina, Khay: Khayasin T, Ruag: Ruageanina A, Mexic: Mexicanolídeo. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

1.3 – *Trichilia ramalhoi*

Atividade inseticida foi observada em membros do gênero *Trichilia*, sendo isolados alguns tetranortriterpenóides responsáveis por tal ação, além disso também podem ser encontradas várias outras atividades biológicas nessas plantas (MONIQUE *et al.*, 2001).

A figura 19 mostra que os extratos brutos de *Trichilia ramalhoi* ensaiados possuem potencial inibitório sobre a atividade de pectinase, principalmente os metanólicos extraídos de folhas e galhos, que tiveram efeito de 0,20 e 0,11, respectivamente.

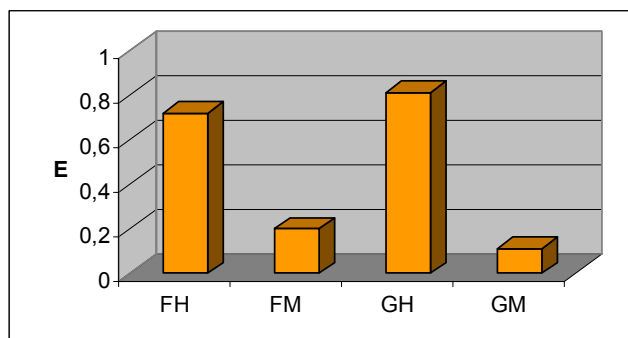


Figura 19. Efeito de extrato bruto de *Trichilia ramalhoi* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; G: galho; H: hexano; M: metanol.

1.4 – *Trichilia pallens*

Na figura 20 pode-se verificar que o extrato hexânico de galho de *Trichilia pallens* apresentou maior inibição de pectinase ($E = 0,63$), seguido de diclorometânico do mesmo órgão ($E = 0,66$). Porém, nenhum desses extratos teve efeito significativo.

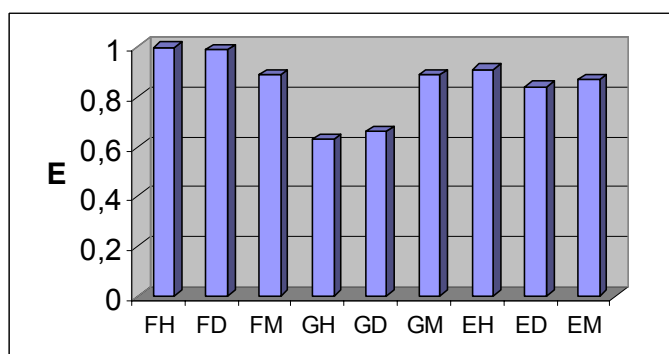


Figura 20. Efeito de extrato bruto de *Trichilia pallens* sobre a atividade de pectinase.

F: folha; G: galho; E: fruto; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

Embora já tenham sido isoladas substâncias de plantas do gênero *Trichilia* com atividade biológica (MONIQUE *et al.*, 2001), as substâncias aqui testadas apresentaram pouco efeito de inibição sobre a atividade de pectinase.

2 – Família Rutaceae

2.1 – *Helietta puberula*

A respeito das propriedades biológicas encontradas em *Helietta* sp., embora algumas substâncias já tenham sido isoladas, apenas a atividade antibacteriana foi descrita, sendo aproveitada em uso medicinal (MOURA *et al.*, 2002).

Quanto ao efeito do extrato bruto de *Helietta puberula* sobre a atividade enzimática, através da figura 21, pode-se observar que este não contém inibidores potenciais de pectinase, pois o único que apresentou efeito significativo estatisticamente foi o extrato hexânico de caule, mas, ainda assim, de apenas 0,83.

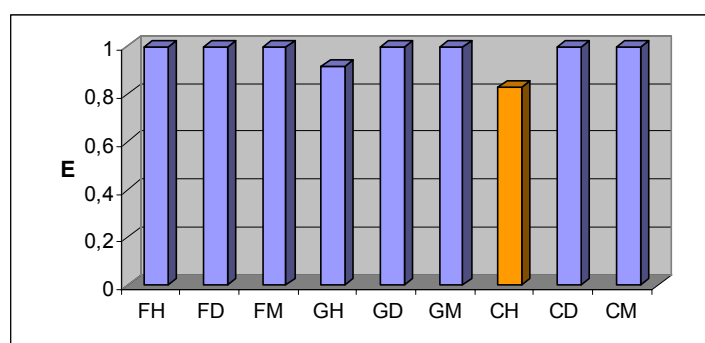


Figura 21. Efeito de extrato bruto de *Helietta puberula* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; G: galho; C: caule; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.2 – *Zanthoxylum acuminatum*

Os extratos hexânicos de folha e caule de *Zanthoxylum acuminatum* apresentaram inibição significativa no ensaio, com efeito de 0,68 e 0,67 respectivamente, conforme aponta a figura 22.

Provavelmente tal resultado possa ser justificado pelo fato das plantas do gênero *Zanthoxylum* possuírem, caracteristicamente, metabólitos secundários (GRAY, 1983), que, neste caso, podem ser responsáveis pelo efeito observado.

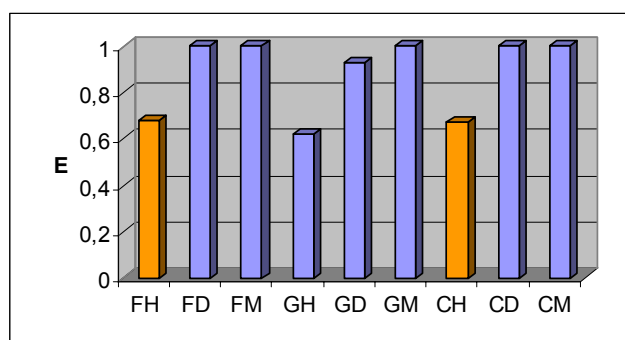


Figura 22. Efeito de extrato bruto de *Zanthoxylum acuminatum* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; G: galho; C: caule; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.3 – *Spiranthera odoratissima* (manacá)

O conhecimento sobre a atividade biológica de *Spiranthera odoratissima* restringe-se ao seu uso medicinal como emprego popular (SOUZA, 2004), existem poucos estudos fitoquímicos e de aplicações sobre esta planta.

Os extratos brutos de *Spiranthera odoratissima* testados não se mostraram bons inibidores de pectinase, uma vez que nenhum deles apresentou inibição significativa de acordo com o teste estatístico utilizado (figura 23).

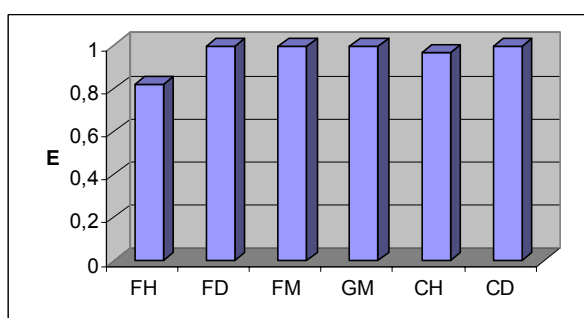


Figura 23. Efeito de extrato bruto de *Spiranthera odoratissima* sobre a atividade de pectinase.

F: folha; G: galho; C: caule; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.4 – *Conchocarpus longifolius*

Existem algumas substâncias já isoladas de plantas do gênero *Conchocarpus*, porém, pouco é conhecido sobre suas propriedades biológicas (CORTEZ, 2002).

No ensaio enzimático na presença do extrato bruto de *Conchocarpus longifolius*, mostrado na figura 24, a inibição não foi significativa.

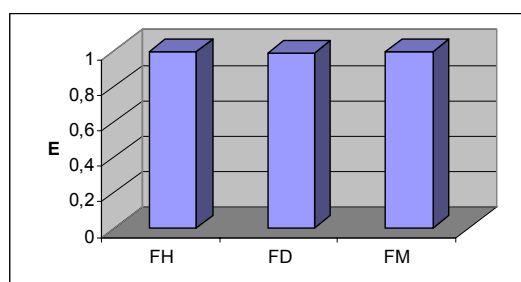


Figura 24. Efeito de extrato bruto de *Conchocarpus longifolius* sobre a atividade de pectinase. F: folha; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.5 – *Conchocarpus heterophyllus*

As frações diclorometânica e de acetato de etila de folhas do extrato bruto hexânico de *Conchocarpus heterophyllus* reduziram a atividade da pectinase, com efeito de 0,60 e 0,84, respectivamente, sendo que as demais frações desta partição não apresentaram inibição significativa, de acordo com o teste estatístico utilizado na análise (figura 25).

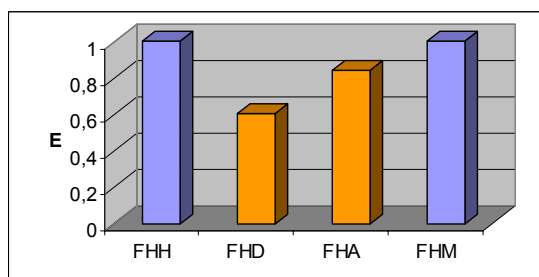


Figura 25. Efeito de frações de extrato bruto hexânico de *Conchocarpus heterophyllus* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; H: hexano; D: diclorometano; A: acetato de etila; M: metanol.

2.6 – *Pilocarpus giganteus*

As espécies pertencentes ao gênero *Pilocarpus* são caracterizadas por possuírem alcalóides como constituintes químicos, os quais são empregados com uso medicinal (RIZZINI & MORS, 1976).

Através dos dados exibidos na figura 26, verifica-se inibição da atividade de pectinase de forma significativa nos extratos brutos de caule de *Pilocarpus giganteus*, tanto diclorometânico (0,60 de efeito), metanólico (0,76) e hexânico (0,85).

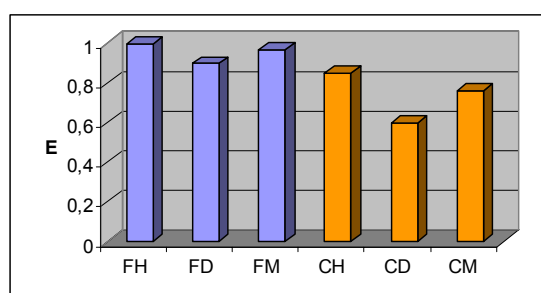


Figura 26. Efeito de extrato bruto de *Pilocarpus giganteus* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; C: caule; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.7 – *Pilocarpus riedelianus*

A figura 27 indica os resultados dos ensaios com extratos brutos de *Pilocarpus riedelianus*. Nenhum dos extratos ensaiados apresentou inibição estatisticamente significante.

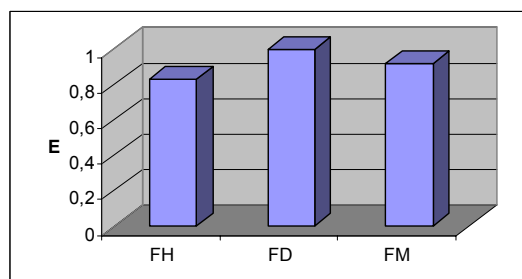


Figura 27. Efeito de extrato bruto de *Pilocarpus riedelianus* sobre a atividade de pectinase.

F: folha; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.8 – *Pilocarpus grandiflorus*

Assim como os resultados mostrados na figura anterior, os extratos brutos de *Pilocarpus grandiflorus* testados também não se revelaram inibidores de pectinase em potencial (figura 28).

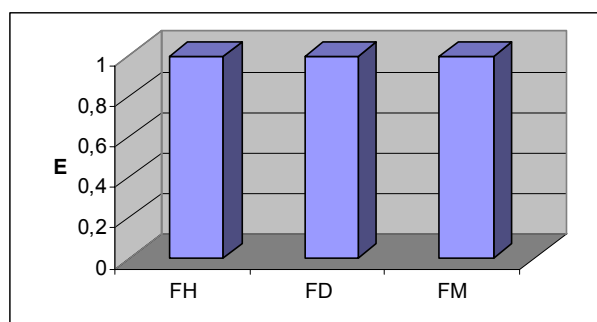


Figura 28. Efeito sobre a atividade de pectinase de extrato bruto de *Pilocarpus grandiflorus*.

F: folha; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.9 – *Erytrochiton brasiliensis*

Os extratos brutos de folha de *Erytrochiton brasiliensis* mostrados pela figura 29 apresentaram pouca inibição sobre a atividade enzimática. Apenas o extrato metanólico foi significativo, entretanto, com efeito baixo de 0,78.

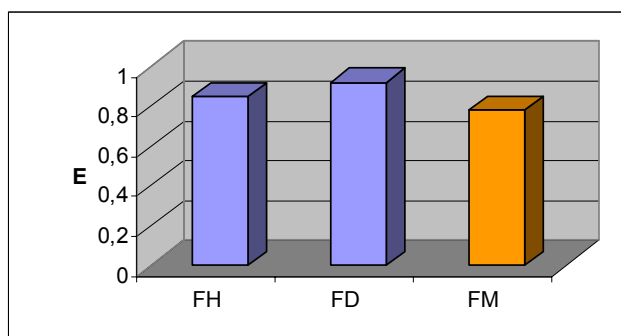


Figura 29. Efeito de extrato bruto de *Erytrochiton brasiliensis* sobre a atividade de pectinase.

As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.10 – *Rauia* sp.

Algumas substâncias tem sido isoladas de plantas deste gênero através de seu estudo fitoquímico (VELOSO, 1995), contudo não são encontradas descrições sobre as atividades biológicas relacionadas.

Conforme mostra a figura 30, os extratos metanólicos de folha e de caule de *Rauia* sp. apresentaram maiores efeitos inibitórios sobre a atividade da enzima pectinase.

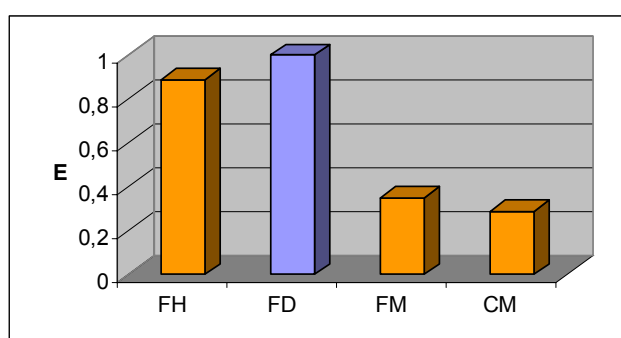


Figura 30. Efeito de extrato bruto de *Rauia* sp. sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle. F: folha; C: caule; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

2.11 – *Almeidea limae*

Nos últimos anos várias substâncias foram isoladas de algumas espécies do gênero *Almeidea* (CORTEZ, 2002; MAFEZOLI, 2001; SANTOS *et al.*, 1998); porém não existem relatos sobre as atividades biológicas referentes a essas plantas.

Segundo a figura 31, embora os extratos hexânicos de galho e de caule de *Almeidea limae* tenham apresentado efeito significativo, sua inibição não foi muito alta (E 0,73 e 0,83, respectivamente). Os demais extratos brutos testados não apresentaram redução da atividade enzimática de forma significativa.

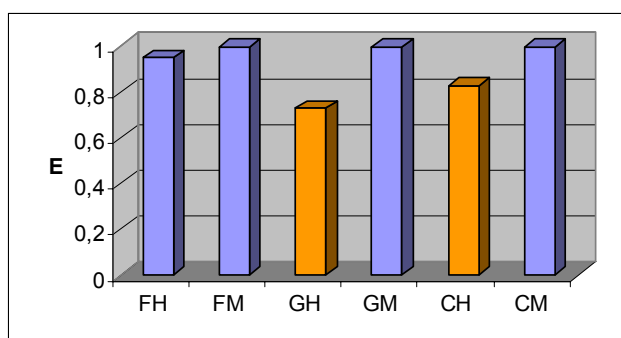


Figura 31. Efeito de extrato bruto de *Almeidea limae* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; G: galho; C: caule; H: hexano; M: metanol.

2.12 – *Almeidea rubra*

Na figura 32 estão resultados que indicam que das frações do extrato metanólico de *Almeidea rubra* testadas, somente a diclorometânica de galhos apresentou inibição significativa, reduzindo a atividade de pectinase com efeito de 0,43.

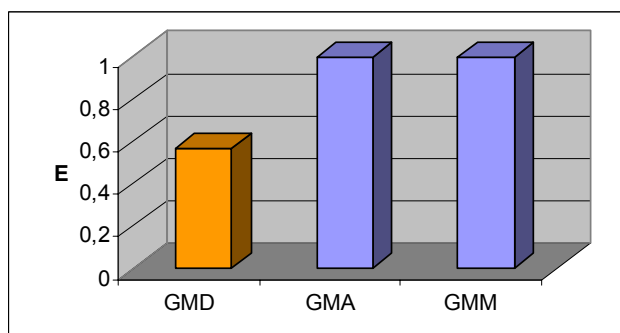


Figura 32. Efeito de frações de extrato bruto metanólico de galho de *Almeidea rubra* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

G: galho; D: diclorometano; A: acetato de etila; M: metanol.

A figura 33 mostra que nenhuma das frações de folha de *Almeidea rubra* apresentou inibição da atividade de pectinase.

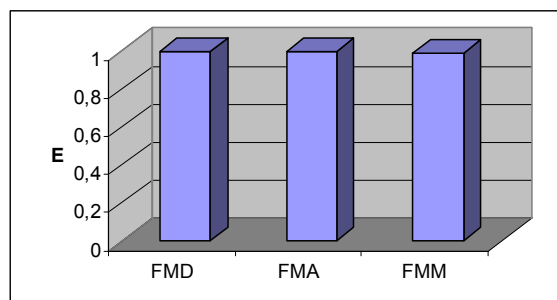


Figura 33. Efeito de frações de extrato bruto metanólico de folha de *Almeidea rubra* sobre a atividade de pectinase.

F: folha; D: diclorometano; A: acetato de etila; M: metanol.

Os dados da figura 34 mostram que as frações de acetato de etila e metanólica do extrato bruto metanólico de *Almeidea rubra* inibiram a atividade enzimática apresentando efeito de 0,70 e 0,72, respectivamente.

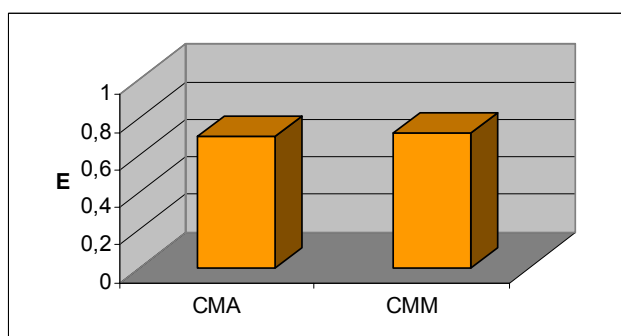


Figura 34. Efeito de frações do extrato bruto metanólico de caule de *Almeidea rubra* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

C: caule; A: acetato de etila; M: metanol.

3 – Família Simaroubaceae

3.1 – *Simarouba versicolor*

O extrato bruto de *Simarouba versicolor* apresentou alta inibição enzimática, principalmente os metanólicos de folha, galho e caule, com efeito de 0,37, 0,19 e 0,10, respectivamente, além do extrato diclorometânico de caule, com efeito de 0,19, conforme mostra a figura 35.

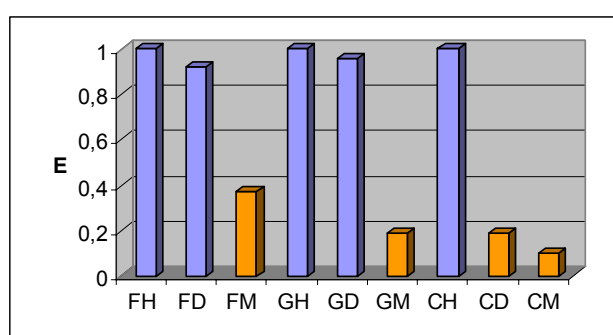


Figura 35. Efeito de extrato bruto de *Simarouba versicolor* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; G: galho; C: caule; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

Assim, os extratos metanólicos de *Simarouba versicolor* foram fracionados, sendo os resultados apresentados nas figuras que seguem.

Conforme mostra a figura 36, a inibição das frações metanólicas de folha manteve-se, principalmente na fração hidroalcoólica, que apresentou 0,29 de efeito, seguida da fração de acetato de etila, com $E = 0,40$.

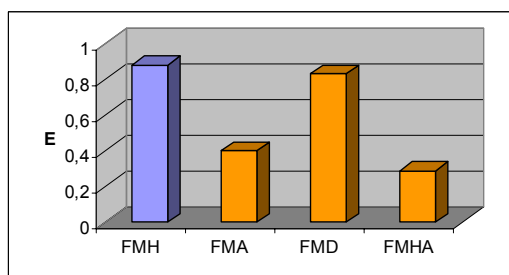


Figura 36. Efeito de frações de extrato bruto metanólico de folha de *Simarouba versicolor* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre as D.O. das reações teste e controle.

F: folha; H: hexano; A: acetato de etila; D: diclorometano; HA: hidroalcoólica; M: metanol.

As frações hidroalcoólica e de acetato de etila de galho de *Simarouba versicolor* apresentaram inibição de atividade de pectinase, correspondendo a um efeito de 0,06 para ambas, além da fração diclorometânica, com 0,31 de efeito (figura 37).

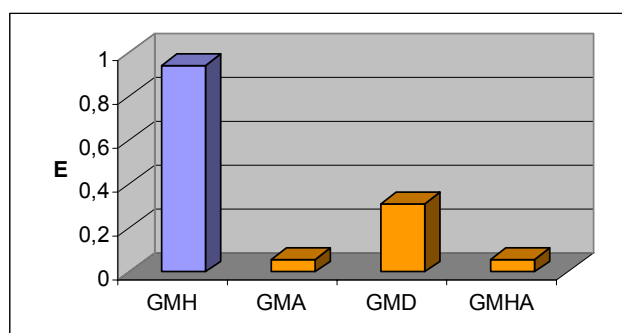


Figura 37. Efeito de frações de extrato bruto metanólico de galho de *Simarouba versicolor* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

G: galho; H: hexano; A: acetato de etila; D: diclorometano; HA: hidroalcoólica; M: metanol.

Através da figura 38, é possível observar que das frações de caule de *Simarouba versicolor*, mais uma vez as partições hidroalcoólica e de acetato de etila, foram as que surtiram as maiores inibições sobre a atividade enzimática, com $E = 0,20$ e $0,15$, respectivamente.

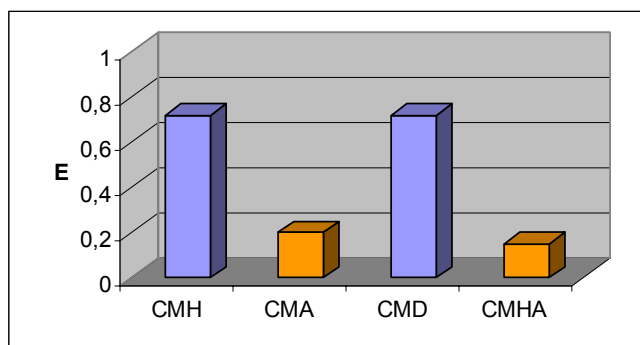


Figura 38. Efeito de frações de extrato bruto metanólico de caule de *Simarouba versicolor* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

C: caule; H: hexano; A: acetato de etila; D: diclorometano; HA: hidroalcoólica; M: metanol.

4 – Família Burseraceae

4.1 – *Protium heptaphyllum*

Compostos encontrados em espécies do gênero *Protium* são comumente responsáveis por atividades farmacológicas. *Protium heptaphyllum* é uma planta bastante utilizada como cicatrizante e antiinflamatória (MORS *et al.*, 2002).

No caso do efeito dos extratos de *Protium heptaphyllum* sobre a atividade de pectinase, há o destaque inibitório dos extratos metanólicos, embora ocorra em porções menores: 0,80 de efeito no extrato de folha e 0,61 no extrato de galho (figura 39).

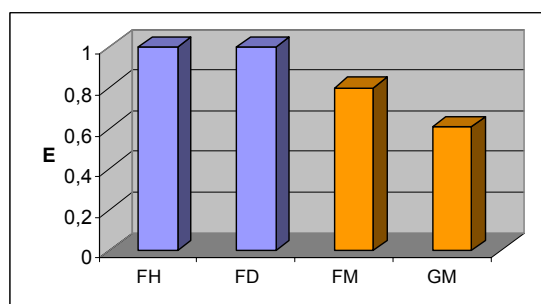


Figura 39. Efeito de extrato bruto de *Protium heptaphyllum* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; G: galho; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

Ordem Rosales

1 – Família Leguminosae

1.1 – Subfamília Caesalpinaceae

1.1.1 – *Dimorphandra mollis* (barbatimão de folha miúda)

Dimorphandra mollis é uma planta muito pouco estudada quanto a composição fitoquímica e suas aplicações.

No ensaio realizado com extratos brutos de *Dimorphandra mollis*, nenhum apresentou inibição da enzima pectinase (figura 40).

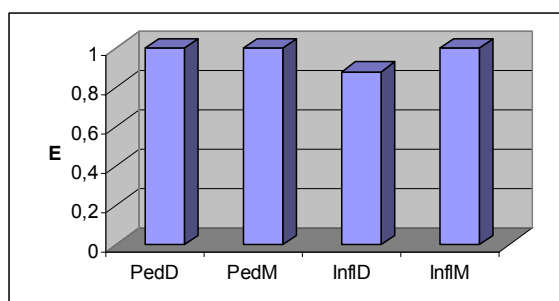


Figura 40. Efeito de extrato bruto de *Dimorphandra mollis* sobre a atividade de pectinase.

Ped: pedúnculo; Inf: inflorescência; D: diclorometano; M: metanol.

1.2 - Subfamília Mimosoideae

1.2.1 - *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão)

Caracterizada por ter taninos como componentes de sua casca, *Stryphnodendron adstringens* é empregada na medicina popular (MORS *et al.*, 2002).

Assim como mostrado na figura anterior, os extratos brutos de *Stryphnodendron adstringens* testados também não se revelaram inibidores de pectinase em potencial (figura 41).

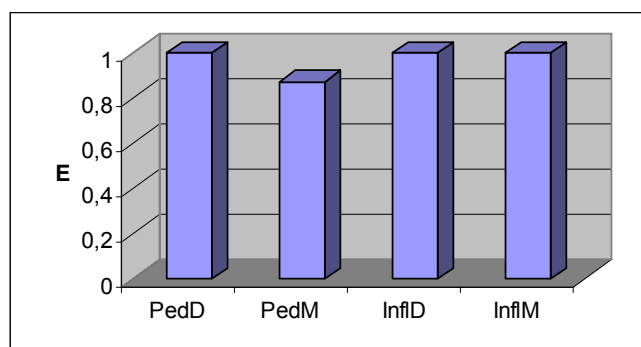


Figura 41. Efeito de extrato bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre a atividade de pectinase.

Ped: pedúnculo; Inf: inflorescência; D: diclorometano; M: metanol.

Ordem Myrtiflorae (= Myrtales)

1 – Família Myrtaceae

1.1 – *Siphoneugena densiflora* (maria – preta, murta, uvatinga)

Os extratos hidrometanólicos de *Siphoneugena densiflora* mostrados pela figura 42 exibem inibição da atividade de pectinase. Apenas o extrato de galho não apresentou efeito significativo.

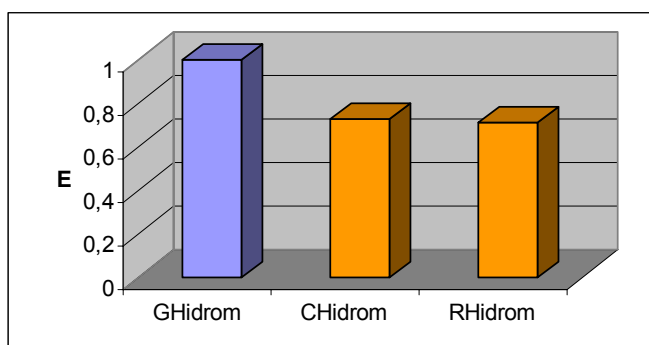


Figura 42. Efeito de extrato bruto de *Siphoneugena densiflora* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

G: galho, C: caule; R: raiz; Hidrom: hidrometanólico.

Foram isoladas substâncias classificadas como taninos da planta *Siphoneugena densiflora*, o efeito destas foi avaliado sobre a atividade de pectinase.

Uma inibição enzimática significativa foi detectada nas substâncias casuarinina, pedunculagina e ramnosídeo, as quais, conforme indicado pela figura 43, apresentaram efeito de 0,72, 0,40 e 0,85, respectivamente.

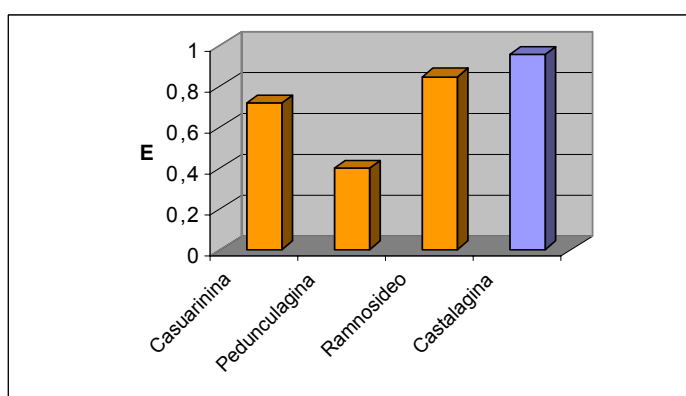


Figura 43. Efeito de taninos extraídos de *Siphoneugena densiflora* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

Ordem Sapindales

1 – Família Anacardiaceae

4.1 – *Tapirira guianensis* (pau-pombo)

Em relação às atividades biológicas, foram relatadas atividades antimalarial e citotóxica de *Tapirira guianensis*, sendo, ainda, tronco e folhas usados popularmente contra lepra, diarreia e sífilis (MELO, 1971 *apud* DAVID et al., 1998).

Na figura 44 pode ser observado que principalmente os extratos metanólicos bruto de folha (efeito de 0,31), galho (0,39) e caule (0,07) de *Tapirira guianensis* inibiram a atividade enzimática.

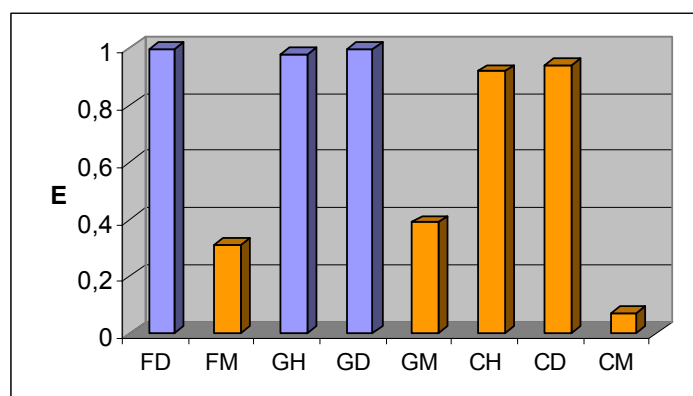


Figura 44. Efeito de extrato bruto de *Tapirira guianensis* sobre a atividade de pectinase. As barras cor de laranja indicam diferença significativa entre os valores de D.O. das reações teste e controle.

F: folha; G: galho; C: caule; H: hexano; D: diclorometano; M: metanol.

Com a obtenção desses resultados, uma vez selecionadas algumas plantas que contenham inibidores de pectinase do intestino das formigas cortadeiras, posteriormente poderiam ser desenvolvidos experimentos com pequenos formigueiros mantidos em laboratório, nos quais os compostos e/ou extratos ativos seriam aspergidos para avaliação comportamental do mesmo.

II – Resultados do ensaio enzimático de pectinase presente no jardim de fungo.

Uma outra avaliação de efeito inibitório foi feita com uma substância e dois extratos através de dosagem enzimática de pectinase extraída do jardim de fungo ao invés do fluido fecal da formiga.

Foram selecionados para este ensaio: a (-)-catequina (substância isolada da planta *Cedrela fissilis*), bem como dois extratos etanólicos que mais apresentaram inibição enzimática (de folha e galho da mesma planta).

O resultado da atividade enzimática do experimento controle e teste estão expressos na tabela 4:

TABELA 4. Atividade de pectinase do jardim de fungo na presença de extratos vegetais ou substância isolada de *Cedrela fissilis*.

Extrato vegetal/substância	Atividade enzimática ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ esponja seca)	
	Controle	Teste
(-)-catequina	2500	2500
Extrato etanólico de folha	2500	1875
Extrato etanólico de galho	2500	2187

A atividade enzimática na presença de (-)-catequina foi exatamente igual àquela obtida no experimento controle e a atividade com os extratos etanólicos sofreu pequeno declínio.

Isso implica dizer que, embora a substância ou os extratos brutos utilizados neste ensaio tenham apresentado inibição sobre a atividade da pectinase extraída do fluido fecal, quando testados em ensaio com a enzima do jardim de fungo, tal inibição não se manteve.

As curvas das atividades enzimáticas correspondentes a esses resultados estão representadas pelas figuras 45, 46 e 47.

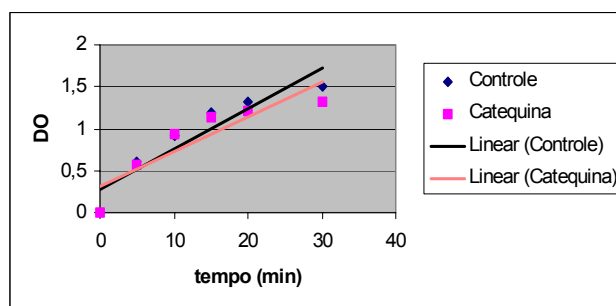


Figura 45. Produção de açúcares redutores (DO 540 nm) resultantes da ação da pectinase do jardim de fungo sobre pectina cítrica na ausência (controle) ou presença de (-)-catequina.

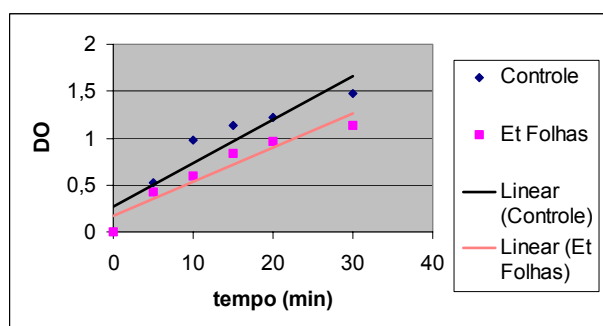


Figura 46. Produção de açúcares redutores (DO 540 nm) resultantes da ação da pectinase do jardim de fungo sobre pectina cítrica na ausência (controle) ou presença de extrato bruto etanólico de folha de *Cedrela fissilis* (Et. Folha).

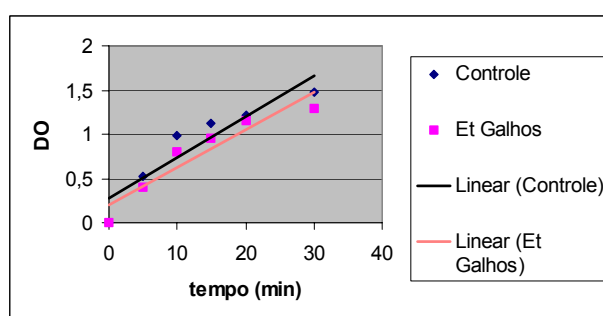


Figura 47. Produção de açúcares redutores (DO 540 nm) resultantes da ação da pectinase do jardim de fungo sobre pectina cítrica na ausência (controle) ou presença de extrato bruto etanólico de galho de *Cedrela fissilis* (Et. Galho).

Diante desses resultados e dada a complexidade da composição do jardim de fungo, observa-se a existência de um sistema que funciona como uma barreira protetora que, provavelmente, impede a ação de inibidores enzimáticos em potencial.

DOWD (1992) sugere uma ação detoxificante do fungo simbiote contra metabólitos secundários provenientes das plantas que seriam tóxicas às formigas e/ou fungo. Enzimas estáveis e capazes de agir sobre vários substratos seriam responsáveis pela degradação das toxinas do material vegetal quando o fungo é inoculado.

A capacidade do fungo em detoxificar aleloquímicos de plantas também foi descrita por LITTLEDYKE & CHERRETT (1976).

Vários casos de insetos que se alimentam de plantas que contêm toxinas foram relacionados a detoxificação enzimática associada a essas toxinas. Porém, poucos trabalhos tem se desenvolvido para testar tal habilidade detoxificante (DOWD, 1992).

O nível de recrutamento por parte das formigas cortadeiras depende da qualidade do material oferecido o que inclui características físicas e químicas da planta, além de ausência de compostos deterrentes. O fator que determina a aceitabilidade da planta é particular para cada espécie (KNAPP *et al.* 1990).

Muitas vezes, compostos secundários das plantas exercem efeito tóxico sobre formiga e/ou fungo. Se o fungo é danificado por compostos antifúngicos presentes nas plantas, é possível que o microrganismo responda produzindo compostos semioquímicos em resposta ao estresse provocado. Desse modo, o forrageamento é manipulado, influenciando na escolha de um substrato ótimo para o crescimento do fungo simbiote, além de prevenir a coleta do material vegetal que pode ser deletério à colônia (NORTH *et al.*, 1999; RIDLEY *et al.*, 1996).

As formigas detectam este sinal de estímulo e adaptam seu forrageamento, podendo não cortar este material vegetal ou apresentar um comportamento descrito por KNAAP (1990) como atrasado de rejeição, quando a planta é cortada, levada para o ninho e posteriormente rejeitada. Quando isso ocorre, as folhas de uma determinada planta deixam de ser inicialmente cortadas.

As formigas parecem reter informação sobre quais folhas aceitar ou rejeitar, reconhecendo os constituintes químicos da planta, pois de acordo com o experimento realizado por NORTH *et al.* (1999), materiais vegetais com e sem fungicida foram

rejeitados depois de alguns dias, provavelmente por associação das formigas aos constituintes do vegetal com o substrato danoso para os fungos.

Segundo RIDLEY *et al.* (1996) esta pode ser uma hipótese para explicar a preferência alimentar das formigas e sua mudança no seu padrão de forrageamento.

CONCLUSÃO

As frações e sub-frações de *Cedrela fissilis* atuaram como inibidoras de pectinase presente no fluido fecal de *Atta sexdens*, havendo o isolamento do flavonóide (-)-catequina na forma purificada ou como composto majoritário das sub-frações ativas.

Os extratos etanólicos de *Cedrela fissilis* apresentaram inibição da atividade de pectinase do fluido fecal, principalmente os provenientes de folha e galho.

Contudo, a substância (-)-catequina e os extratos brutos etanólicos de *Cedrela fissilis*, não inibiram a atividade de pectinase do jardim de fungo, sugerindo uma ação detoxificante no local que impediu a ação inibitória nesses casos.

Dentre as 22 espécies vegetais ensaiadas, os extratos brutos metanólicos das plantas *Cipadessa fruticosa* (galho), *Trichilia ramalhoi* (folha e galho), *Tapirira guianensis* (folha, galho e caule), *Rauia* sp. (folha e caule) e *Simarouba versicolor* (folha, galho e caule) apresentaram de inibição da enzima pectinase do fluido fecal, o que leva a conclusão de que tais extratos possuem importantes inibidores enzimáticos em potencial, que poderão ser identificados em trabalhos posteriores.

Inibições significativas também foram causadas por taninos isolados de *Siphoneugena densiflora*, principalmente pela substância pedunculagina, que por isso mostra-se um promissor inibidor enzimático de pectinase de fluido fecal.

LITERATURA CITADA

ANDRADE, A.P.P. & FORTI, L.C. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, v. 40, n. 2, p. 293-306, 2002.

AUTUORI, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta spp.*). In: Evolução do saúveiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel). **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 12, p. 197-228, 1941.

BASS, M. & CHERRETT, J. M. The role of leaf-cutting ant workers in fungus garden maintenance. **Ecological Entomology**, v. 19, p. 215-220, 1994.

BASS, M. & CHERRETT, J. M. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. **Physiological Entomology**, v. 20, n. 1, p. 1-6, 1995.

BERNAYS, E. A. & CHAPMAN, R.F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, 1994.

- BOYD, N. D. & MARTIN, M. M. Faecal proteinases of the fungus-growing ant *Atta texana*: their fungal origin and ecological significance. **Journal of Insect Physiology**, v. 21, p.1815-1820, 1975.
- BRAY, D. H.; WARHURST, D. C.; CONNOLLY, J. D.; O'NEILL, M. J. & PHILLIPSON, J. D. Plants as sources of antimalarial drugs. Part 7. Activity of some species of Meliaceae plants and their constituent limonoids. **Phytoterapy Research**, v. 4, n. 29, p. 29-35, 1990.
- BREITMAIER, E. Structure Elucidation by NMR In: **Organic Chemistry**. Wiley. New York, 265p, 1993.
- BRENT, C. Notes on the Oecodomas, or leaf-cutting ants of Trinidad. **American Naturalist**, v. 20, p. 123-131, 1886.
- BUENO, O. C. *et al.* Testes de preferência de *Atta sexdens rubropilosa* por folhas de *Sesamum indicum* e *Virola sebifera*. In: Encontro de Mirmecologia, 9, Viçosa, Anais, p. 24-28, 1989.
- BUENO, O. C. *et al.* Effect of sesame (*Sesamum indicum*) on nest development of *Atta sexdens*. **Journal of Applied Entomology**, v. 119, p. 341-343, 1995.
- CHAMPAGNE, D. E.; KOUL, O.; ISMAN, M. B.; SCUDDER, G. G. E. & TOWERS, G. H. N. Biological activity of limonoids from the Rutales. **Phytochemistry**, v. 31 p. 377, 1992.
- CHERRETT, J. M. The foraging behaviour patterns and plant species attacked in tropical rainforest. **Journal of Animal Ecology**, v. 37, p. 387-403, 1968.
- CHERRETT, J. M.; POWELL, R.J. & STRADLING, D.J. The mutualism between leaf-cutting and their fungus. In: WILDING, C. *et al.* **Insect fungus interactions**. London. Academic Press, p. 93-120, 1989.
- CONNOLLY, J. D. Chemistry of the limonoids of the Meliaceae and Cneoraceae. In: WATERMAN, P. G. & GRUNDON, M. F. **Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales** (Eds.). London, Academic Press, p. 175-213. 1983.

CORTEZ, L.E.R. **Estudo Fitoquímico de *Conchocarpus gaudichaudianus bahiensis* e *Almeidea coerulea*. A busca de compostos biologicamente ativos.** Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, São Carlos, 2002.

CURRIE, C.R. & SCOTT, J.A. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control parasites. **Nature**, v. 398, p. 701-704, 1999.

CURRIE, C.R., SCOTT, J.A., SUMMERBELL, R.C. & MALLOCH, D. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control parasites. **Nature**, v. 423, p. 461, 2003. Corrigenda.

CURRIE, C.R. & GOULSON, D. A community of ants, fungi and bacteria: a multilateral approach to study symbiosis. **Annual Review of Microbiology**, v. 55, p. 357-380, 2001.

DAVID, J.M.; CHAVEZ, J.P.; CHAI, H.B.; PEZZUTO, J. M. & CORDELL, G.A. Two new cytotoxic compounds from *Tapirira guianensis*. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 287-289, 1998.

DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed). **As formigas cortadeiras**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1993.

FORTI, L.C. & BOARETTO, M.A.C. **Formigas cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle**. Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 1997.

FOWLER, H.G. *et al.* Ecologia Nutricional de formigas. In: PANIZI, A.R., PARRA, J.R.P. (Ed). **Ecologia Nutricional de insetos no manejo e nas aplicações no manejo de pragas**. Brasília - DF, Editora Manole, p. 131-223, 1991.

GOLDSTEIN, I.S. **Organic chemicals from biomass**. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla., 1981.

GRAY, A. I. **Chemistry and Chemical Taxonomy of Rutales**. Academic Press, London, p. 97, 1983.

HARBONE, J. B. **Introduction to Ecological Biochemistry**. 3rd (Ed) London, Academic Press, 1988.

HARBONE, J. B. **Phytochemical Methods, A guide to modern techniques of plant analysis**, 2nd (Ed) London, New York Chapman and Hall, 1990.

HEREDIA, A.; JIMENEZ, A. & GUILLEN, R. **Composition of plant cell walls** (Review). Z. Lebensm Unters Forsch, v. 200, p. 24-31, 1995.

HÖLLDOBLER, B. & WILSON, E. O. **The ants**. Cambridge: Harvard University Press, 1990.

JAYAWEERA, D. M. A. In: **Medicinal Plants Used in Sri Lanka**, Part 5. National Science Council, Sri Lanka, p. 39, 1982.

JOLY, A.B. **Botânica – Introdução à taxonomia vegetal**. 11^a Edição. Companhia Editora Nacional, 1993.

JOSHI, A. R. & JOSHI, K. Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 175, 2000.

LE COINTE, P. **A Amazônia Brasileira: árvores e plantas úteis**. Livraria Clássica. Ed. Belém, 1934.

LEE, S. M.; KLOCKE, J. A.; BARNABI, M. A., YAMASAKI, R. B. & BALANDRIN, M. F. Insecticidal constituents of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae). In: HEDIN, P. H **Naturally Occurring Pest Bioregulators**, ACS Symposium Series 449 (Eds.) Washington, ACS, p. 293, 1991.

LINEWEAVER, H. & JANSEN, E.F. Pectic enzymes. In: NORD, F.F. Advances in Enzymology. **Interscience**, v. 11, p. 267, 1951.

LITTLEDYKE, M. & CHERRETT, J. M. Direct ingestion of plant sap from cut leaves by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini). **Bulletin of Entomological Research**, v. 66, p. 205-217, 1976.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras – manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Plantarum Ltda. Nova Odessa, v. 1 e 2, 1992.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil** – nativas e exóticas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

LOVE, B. & GOODMAN, M. M. **Progress in separation and purification**, v. 3, p. 73, 1970.

LUO, X.D.; WU, S.H., MA, Y.B. & WU, D.G. Components of *Cipadessa baccifera*. **Phytochemistry**, New York, v. 55, p. 867-872, 2000.

MAFEZOLI, J. **Atividade tripanocida e antimicrobiana de plantas da família Rutaceae**. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, São Carlos, 2001.

MARICONI, F.A.M. **As saúvas**. Agronômica Ceres, São Paulo, 1970.

MARTIN, J.S. & MARTIN, M. M. The presence of protease activity in the rectal fluid of Attine ants. **Journal of Insect Physiology**, v. 16, p. 227-232, 1970.

MARTIN, M. M. *et al.* Activity of faecal fluid of a leaf-cutting ant toward plant cell wall polysaccharides. **Journal of Insect Physiology**, v. 21, p. 1887-1892, 1975.

MARTIN, M. M., CARMAN, R.M. & McCONNEL, J.G. Nutrients derived from the fungus cultured by the fungus-growing ant *Atta colombica tonsipes*. **Annals Entomology Society American**, v. 62, p. 11-13, 1969.

MARTIN, M.M. & WEBER, N.A. The cellulose-utilizing capability of the fungus cultured by the attini ant *Atta colombica tonsipes*. **Annals Entomology Society American** v. 62, p. 1386-1387, 1969.

McLAFFERTY, F.W. & TURECEK, F. **Interpretation of Mass Spectra**. USB-University Science Books, Mill Valley, 1993.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analithical Chemistry**, v. 31, p. 426-8, 1959.

MONIQUE, S. J.; SIMMONDS, T.; PHILIP, C.; STEVENSON, T.; PORTER, E. A. & NIGEL, C. V. Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, TW9 3DS, U.K. and Natural Resources Institute, University of Greenwich, Chatham Maritime, Kent, ME4 4TB, U.K., 2001.

MORS, W.B., RIZZINI, C.T. & PEREIRA, N.A. Medicinal Plants of Brazil. In: LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil** – nativas e exóticas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

MOTULSKY, H. **Intuitive Biostatistic**. Oxford University Press. New York, 1995.

MOURA, N.F. *et al.* Quinoline Alkaloids, Coumarins and Volatile Constituents of *Helietta longifoliata*. **Planta Med**, v. 68, p. 631-634, 2002.

MUELLER, U.G.; SCHULTZ, T.R.; CURRIE, C.R.; ADAMS, R.M.M. & MALLOCH, D. The origin of the Attine ant-fungus mutualism (Review). **The Quarterly Review of Biology**. University of Chicago, v. 76, n. 2, 2001.

NORTHCOTE, D.H. Chemistry of the plant cell wall. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 23, p. 113-132, 1972.

PAGNOCCA, F.C. *et al.* Toxicity of sesame extracts to the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Bulletin of Entomological Research**, v. 80, p. 349-352, 1990.

PANIZZI, A.R. & PARRA, J.R.P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. Brasília – DF. Editora Manole Ltda., 1991.

PIRANI, J.R. A revision of *Helietta* and *Balfourodendron* (Rutaceae, Pteleinae) (Review). **Brittonia**, v. 50, n. 3, p. 348-380, 1998.

PROENÇA, C. A revision of *Siphoneugena* Berg. **Journal of Botany**, v. 47, p. 239-271, 1990.

REMBOLD, H. Azadirachtins. In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B.; MORAND, P. **Insecticides of Plant Origin**, ACS Symposium Series 387. (Eds.). Washington, ACS, p. 150, 1989.

RIBEIRO, J.E.L.S. *et al.*, **Flora da Reserva Ducke** - guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central. Inpa DFID, Manaus, 1999.

RIZZINI, C. T & MORS, W.B. **Botânica econômica brasileira**. EPU. Ed. Pedagógica e Universitária Ltda. EDUSP, São Paulo, 1976.

RIZZINI, C. T. & RIZZINI, C. M. **Dicionário Botânico Clássico Latino-Português Abonado**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura IBDF, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1983.

QUINLAN, R. J. & CHERRETT, J. M. The role of substrate preparation in the symbiosis between the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. **Ecological Entomology**, v. 2, p. 161-170, 1977.

QUINLAN, R. J. & CHERRETT, J. M. Studies on the role of the infrabuccal pocket of the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hym. Formicidae). **Insects Sociaux**, v. 25, p. 237-295, 1978.

QUINLAN, R. J. & CHERRETT, J. M. The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.). **Ecological Entomology**, v. 4, p. 151-160, 1979.

SAKAI, T. *et al.* Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties and applications. **Advances in Applied Microbiology**, v. 39, p. 213-294, 1993.

SANTOS, C. S.; JANUARIO, A. H.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. das G. F. & PIRANI, J. R. Cycloartane triterpenoid and alkaloids from *Almeidea* spp. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 9, n. 1, p. 39-42, 1998.

SILVA, A. **Participação do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* na produção de enzimas intestinais da formiga *Atta sexdens***. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Campus de Rio Claro. Rio Claro, 2000.

SILVA, A.; BACCI JR., M.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C. & HEBLING M. J. A. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, p. 307-313, 2003.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C. & MORRILL, T.C. **Identification of Organic Compounds**. John Wiley & Sons, Inc. 7th (Ed.), 2000.

SIQUEIRA, C.G. **Estudo do potencial metabólico do fungo *Leucocoprinus gongylophorus* Heim, Forel (Hymenoptera: Formicidae)**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Campus de Rio Claro. Rio Claro, 1997.

SIQUEIRA, C. G. *et al.* Metabolism of plant polysaccharides by *Leucoagaricus gongylophorus*, the symbiotic fungus of leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. **Applied Environmental Microbiology**, v. 64, n. 12, p. 4820-4822, 1998.

SOUZA, P. T. J. Estudo Químico e Resultados Farmacológicos de Plantas do Pantanal e do Entorno. Rev. **Phytochemistry**, 2004.

THARKUR, B.R.; SINGH, R.K. & HANDA, A.K. Chemistry and uses of pectin – A review. **Critical in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 47-73, 1997.

VELOSO, E. S. **Fitoquímica comparada dos gêneros *Angostura*, *Almeidea* e *Rauia* (Rutaceae)**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, São Carlos, 1995.

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

WEBER, N. A. Gardening ants, the Attines. **American Philosophical Society**, v. 17, n. 92, p.146, 1972.

WEBER, N.A. Fungus-growing ants. **Science**, v. 153, p. 587-604, 1966.

WHELLER, W. M. The fungus-growing ants of North America. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 23, p. 669-807, 1907.

WHERLI, F.W. & WIRTHLIN, T. **Interpretation of Carbon-13 NMR Spectra**. Heyden, London, 1978.

WILLIAMS, D.F. Applied Ecology: Overview. In: VANDER MEER, R.K.; JAFFE, K.; CEDENO, A.(Ed.) **Applied Myrmecology**: a world perspective. Boulder, San Francisco & Oxford: Westview Press, 1990.

WOLF, F.J. **Separation methods in organic chemistry and biochemistry**, Academic Press, New York, 1969.

ZAR, J. H. **Bioestatistical Analysis**, 3rd (Ed.) Prentice-Hall do Brasil, Rio de Janeiro, 1996.

ZAVAN, C. **Efeito de extratos vegetais sobre as polissacaridases intestinais de *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae)**. Trabalho de Formatura. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2002.

APÊNDICE

I – Resultados do teste estatístico Mann-Whitney (95 %) e efeito dos extratos vegetais sobre a atividade enzimática de pectinase.

TABELA 5. Efeito de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* (EMB) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
EMB – 1	0,97 (± 0,06)	1,16 (± 0,06)	0,03	1,00
EMB – 2	0,97 (± 0,06)	1,06 (± 0,03)	0,07	1,00
EMB – 3	0,97 (± 0,06)	1,04 (± 0,04)	0,98	1,00
EMB – 4	0,97 (± 0,06)	0,69 (± 0,07)	0,02	0,71 *
EMB – 5	0,97 (± 0,06)	0,82 (± 0,04)	0,02	0,84 *
EMB – 6	0,99 (± 0,03)	0,75 (± 0,04)	0,02	0,75 *
EMB – 7	0,99 (± 0,03)	0,17 (± 0,07)	0,02	0,17 *
EMB – 8	0,99 (± 0,03)	0,13 (± 0,03)	0,02	0,13 *
EMB – 9	0,99 (± 0,03)	0,75 (± 0,04)	0,02	0,75 *
EMB – 10	0,99 (± 0,03)	0,66 (± 0,04)	0,02	0,66 *
EMB – 11	0,93 (± 0,06)	0,72 (± 0,05)	0,02	0,77 *
EMB – 12	0,99 (± 0,02)	0,36 (± 0,04)	0,02	0,36 *
EMB – 13	1,07 (± 0,02)	0		0 *

(*) inibição de pectinase significante a 95 %.

TABELA 6. Efeito de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* (EMB – 8) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
EMB 8.1	0,53 (± 0,03)	0,42 (± 0,01)	0,02	0,79 *
EMB 8.2	0,53 (± 0,03)	0,12 (± 0,02)	0,02	0,22 *
EMB 8.3	0,78 (± 0,02)	0,49 (± 0,04)	0,02	0,62 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 7. Efeito de sub-frações da fração diclorometânica do extrato metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* (EMD) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
EMD – 1	0,90 (± 0,02)	0,72 (± 0,01)	0,02	0,80 *
EMD – 2	0,90 (± 0,02)	0,65 (± 0,04)	0,02	0,72 *
EMD – 3	0,90 (± 0,02)	0,59 (± 0,05)	0,02	0,65 *
EMD – 4	0,90 (± 0,02)	0,56 (± 0,05)	0,02	0,62 *
EMD – 5	0,62 (± 0,01)	0,59 (± 0,02)	0,13	0,95
EMD – 6	0,62 (± 0,01)	0,54 (± 0,03)	0,02	0,87 *
EMD – 7	0,62 (± 0,01)	0,19 (± 0,03)	0,02	0,30 *
EMD – 8	0,62 (± 0,01)	0,20 (± 0,02)	0,02	0,32 *
EMD – 9	0,62 (± 0,01)	0,45 (± 0,03)	0,02	0,72 *
EMD – 10	0,75 (± 0,03)	0,61 (± 0,02)	0,02	0,81 *
EMD – 11	0,75 (± 0,03)	1,00 (± 0,05)	0,08	1,00
EMD – 12	0,75 (± 0,03)	0,76 (± 0,06)	0,76	1,00

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 8. Efeito de sub-frações da fração diclorometânica do extrato metanólico de fruto de *Cedrela fissilis* (EMD – 7) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
EMD 7.1	0,65 (± 0,01)	0,63 (± 0,02)	0,11	0,96
EMD 7.4	0,82 (± 0,02)	0,86 (± 0,04)	0,11	1,00
EMD 7.2.1	0,51 (± 0,02)	0,50 (± 0,01)	0,88	0,98
EMD 7.2.2	0,64 (± 0,01)	0,56 (± 0,01)	0,02	0,87 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 9. Efeito de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de caule de *Cedrela fissilis* (CMB) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
CMB – 1	1,01 (± 0,05)	0,56 (± 0,02)	0,02	0,55 *
CMB – 2	1,01 (± 0,05)	0,84 (± 0,02)	0,02	0,83 *
CMB – 3	1,09 (± 0,02)	0,37 (± 0,03)	0,02	0,33 *
CMB – 4	1,09 (± 0,02)	1,15 (± 0,03)	0,05	1,00
CMB – 5	1,09 (± 0,02)	0,99 (± 0,05)	0,05	0,90

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 10. Efeito de sub-frações da fração diclorometânica do extrato metanólico de caule de *Cedrela fissilis* (CMD) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
CMD – 1	1,00 (± 0,02)	1,04 (± 0,01)	0,06	1,00
CMD – 2	0,93 (± 0,01)	0,23 (± 0,02)	0,02	0,24 *
CMD – 3	0,93 (± 0,01)	0,22 (± 0,005)	0,02	0,23 *
CMD – 4	0,93 (± 0,01)	0,14 (± 0,01)	0,02	0,15 *
CMD – 5	1,07 (± 0,04)	0,12 (± 0,01)	0,02	0,11 *
CMD – 6	1,07 (± 0,04)	0,09 (± 0,01)	0,02	0,08 *
CMD – 7	0,82 (± 0,05)	0		0 *
CMD – 8	0,70 (± 0,04)	0,08 (± 0,02)	0,02	0,11 *
CMD – 9	0,82 (± 0,05)	0,65 (± 0,03)	0,02	0,79 *
CMD – 10	0,82 (± 0,05)	0,54 (± 0,04)	0,02	0,65 *
CMD – 11	0,82 (± 0,05)	0,93 (± 0,008)	0,01	1,00

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 11. Efeito de sub-frações da fração diclorometânica do extrato metanólico de caule de *Cedrela fissilis* (CMD – 4) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
CMD 4.1	0,66 (± 0,03)	0,61 (± 0,01)	0,05	0,92
CMD 4.2.1	0,64 (± 0,01)	0,60 (± 0,04)	0,20	0,93
CMD 4.3.1	0,65 (± 0,01)	0,63 (± 0,02)	0,48	0,96
CMD 4.3.5	0,53 (± 0,03)	0,13 (± 0,01)	0,02	0,24 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 12. Efeito de sub-frações da fração butanólica do extrato metanólico de galho de *Cedrela fissilis* (GMB) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
GMB – 1	1,03 (± 0,04)	0,19 (± 0,02)	0,02	0,19 *
GMB – 2	1,03 (± 0,04)	0,55 (± 0,02)	0,02	0,53 *
GMB – 3	1,03 (± 0,04)	0,75 (± 0,04)	0,02	0,72 *
GMB – 5	1,03 (± 0,04)	0,29 (± 0,01)	0,02	0,28 *
GMB – 6	1,03 (± 0,04)	0,25 (± 0,04)	0,02	0,24 *
GMB – 7	1,01 (± 0,05)	0,62 (± 0,05)	0,02	0,61 *
GMB – 8	1,01 (± 0,05)	0,96 (± 0,05)	0,34	0,95

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 13. Efeito de sub-frações da fração hexânica do extrato metanólico de galho de *Cedrela fissilis* (GMH – 12) sobre a atividade de pectinase.

Sub-fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
GMH 12.7	0,78 (± 0,02)	0,58 (± 0,02)	0,02	0,74 *
GMH 12.2.1	0,83 (± 0,03)	0,83 (± 0,04)	0,88	1,00
GMH 12.2.2	0,36 (± 0,01)	0,35 (± 0,04)	1,00	0,97
GMH 12.4.1	0,94 (± 0,02)	0,99 (± 0,01)	0,10	1,00
GMH 12.4.2	0,75 (± 0,02)	0,85 (± 0,03)	0,20	1,00
GMH 12.4.3	0,75 (± 0,02)	0,70 (± 0,02)	0,48	0,93
GMH 12.4.4	0,94 (± 0,02)	0,78 (± 0,02)	0,10	0,82
GMH 12.5.1	0,83 (± 0,03)	0,85 (± 0,04)	0,68	1,00
GMH 12.5.2	0,58 (± 0,03)	0,41 (± 0,03)	0,10	0,70
GMH 12.5.4	0,78 (± 0,02)	0,32 (± 0,02)	0,11	0,81
GMH 12.5.6	0,58 (± 0,03)	0,47 (± 0,03)	0,02	0,57 *
GMH 12.2.3.1	0,36 (± 0,01)	0,36 (± 0,04)	1,00	1,00
GMH 12.2.3.3	0,94 (± 0,02)	1,03 (± 0,05)	0,10	1,00
GMH 12.2.3.2.1	0,83 (± 0,03)	0,89 (± 0,04)	0,22	1,00
GMH 12.2.3.2.2	0,62 (± 0,02)	0,77 (± 0,02)	0,02	1,00
GMH 12.2.3.2.3	0,75 (± 0,02)	0,79 (± 0,01)	0,88	1,00

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 14. Efeito de extrato bruto aquoso de *Cedrela fissilis* obtido a 4° C sobre a atividade de pectinase.

Órgão	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Folha	0,92 (± 0,02)	0,99 (± 0,04)	0,05	1,00
Galho	0,92 (± 0,02)	0,60 (± 0,03)	0,02	0,65 *
Caule	0,92 (± 0,02)	0,74 (± 0,04)	0,02	0,80 *
Raiz	0,92 (± 0,02)	0,94 (± 0,05)	0,34	1,00
Fruto	0,92 (± 0,02)	0,53 (± 0,05)	0,02	0,57 *

(*) inibição de pectinase significante a 95 %.

TABELA 15. Efeito de extrato bruto aquoso de *Cedrela fissilis* obtido a 25° C sobre a atividade de pectinase.

Órgão	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Folha	0,96 (± 0,02)	1,13 (± 0,02)	0,05	1,00
Galho	0,96 (± 0,02)	0,97 (± 0,05)	1,00	1,00
Caule	0,96 (± 0,02)	0,96 (± 0,03)	0,88	1,00
Raiz	0,96 (± 0,02)	1,07 (± 0,02)	0,02	1,00
Fruto	0,98 (± 0,01)	0,97 (± 0,02)	0,40	0,98

TABELA 16. Efeito de extrato bruto aquoso de *Cedrela fissilis* obtido a 100° C sobre a atividade de pectinase.

Órgão	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Folha	0,92 (± 0,03)	0,98 (± 0,01)	0,05	1,00
Galho	0,92 (± 0,03)	0,90 (± 0,05)	0,34	0,97
Caule	0,96 (± 0,03)	1,00 (± 0,01)	0,02	1,00
Raiz	0,92 (± 0,03)	0,94 (± 0,01)	0,34	1,00
Fruto	0,98 (± 0,01)	0,71 (± 0,02)	0,02	0,72 *

(*) inibição de pectinase significante a 95 %.

TABELA 17. Efeito de extrato bruto etanólico de *Cedrela fissilis* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Folha	1,16 (± 0,02)	0,09 (± 0,02)	0,02	0,07 *
Galho	1,14 (± 0,03)	0,09 (± 0,01)	0,02	0,07 *
Caule	1,16 (± 0,02)	0,88 (± 0,04)	0,02	0,75 *
Raiz	1,16 (± 0,02)	1,07 (± 0,03)	0,02	0,92 *
Fruto	1,16 (± 0,02)	0,79 (± 0,01)	0,02	0,68 *

(*) inibição de pectinase significante a 95 %.

TABELA 18. Efeito de limonóides do tipo gedunina isolados de *Cedrela fissilis* sobre a atividade de pectinase.

Substância	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Gedunina	1,01 (± 0,01)	0,98 (± 0,05)	0,20	0,97
6 α -acetoxigedunina	1,01 (± 0,01)	0,88 (± 0,05)	0,02	0,87 *
7-desacetilgedunina	1,01 (± 0,01)	0,95 (± 0,04)	0,02	0,94 *
7-desacetoxi-7-oxogedunina	1,01 (± 0,01)	0,96 (± 0,02)	0,02	0,95 *
Fotogedunina	1,01 (± 0,01)	0,94 (± 0,02)	0,02	0,93 *
1,2-diidro-3 β -hidroxi-7-desacetoxi-7 oxogedunina	1,01 (± 0,04)	0,93 (± 0,04)	0,11	0,92

(*) inibição de pectinase significante a 95 %.

TABELA 19. Efeito de triterpenos isolados de *Cedrela fissilis* sobre a atividade de pectinase.

Substância	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Ácido oleanólico	1,01 (± 0,04)	0,97 (± 0,05)	0,22	0,96
Ácido oleanônico	0,87 (± 0,01)	0,67 (± 0,03)	0,02	0,77 *

(*) inibição de pectinase significante a 95 %.

TABELA 20. Efeito de esteróides isolados de *Cedrela fissilis* sobre a atividade de pectinase.

Substância	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Sitosterol + estigmasterol	1,01 (± 0,04)	0,85 (± 0,05)	0,05	0,84
Sitostenona	1,01 (± 0,04)	0,71 (± 0,03)	0,05	0,70

TABELA 21. Efeito de extrato bruto de *Cipadessa fruticosa* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	1,02 (± 0,05)	0,87 (± 0,03)	0,02	0,85 *
Folha	Diclorometano	1,02 (± 0,05)	0,86 (± 0,05)	0,02	0,84 *
Folha	Metanol	1,02 (± 0,05)	0,77 (± 0,07)	0,02	0,75 *
Galho	Hexano	0,73 (± 0,01)	0,85 (± 0,02)	0,02	1,00
Galho	Diclorometano	0,73 (± 0,01)	0,75 (± 0,03)	0,48	1,00
Galho	Metanol	1,02 (± 0,05)	0,34 (± 0,05)	0,02	0,33 *
Fruto	Hexano	0,73 (± 0,01)	0,68 (± 0,04)	0,11	0,93
Fruto	Diclorometano	0,73 (± 0,01)	0,65 (± 0,04)	0,02	0,89 *
Fruto	Metanol	0,73 (± 0,01)	0,89 (± 0,03)	0,02	1,00

(*) inibição de pectinase significante a 95 %.

TABELA 22. Efeito de substâncias isoladas de *Cipadessa fruticosa* sobre a atividade de pectinase.

Substância	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Cipadesina A	0,87 (± 0,01)	0,64 (± 0,02)	0,02	0,73 *
Cipadesina	0,87 (± 0,01)	0,52 (± 0,03)	0,02	0,59 *
Khayasin T	0,87 (± 0,03)	0,88 (± 0,05)	0,88	1,00
Ruagenina A	0,87 (± 0,03)	0,91 (± 0,05)	0,11	1,00
Mexicanolídeo	0,87 (± 0,03)	0,87 (± 0,05)	0,85	1,00

(*) inibição de pectinase significante a 95 %.

TABELA 23. Efeito de extrato bruto de *Trichilia ramalhoi* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,99 (± 0,04)	0,72 (± 0,02)	0,02	0,72 *
Folha	Metanol	0,99 (± 0,04)	0,20 (± 0,04)	0,02	0,20 *
Galho	Hexano	0,99 (± 0,04)	0,81 (± 0,02)	0,02	0,81 *
Galho	Metanol	0,70 (± 0,04)	0,08 (± 0,02)	0,02	0,11 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 24. Efeito de extrato bruto de *Trichilia pallens* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	1,24 (± 0,02)	1,25 (± 0,03)	0,62	1,00
Folha	Diclorometano	1,78 (± 0,02)	1,77 (± 0,03)	1,00	0,99
Folha	Metanol	1,78 (± 0,02)	1,59 (± 0,05)	0,05	0,89
Galho	Hexano	1,24 (± 0,02)	0,79 (± 0,03)	0,05	0,63
Galho	Diclorometano	1,24 (± 0,02)	0,82 (± 0,03)	0,10	0,66
Galho	Metanol	1,24 (± 0,02)	1,11 (± 0,02)	0,10	0,89
Fruto	Hexano	1,24 (± 0,02)	1,13 (± 0,04)	0,10	0,91
Fruto	Diclorometano	1,78 (± 0,02)	1,51 (± 0,05)	0,10	0,84
Fruto	Metanol	1,78 (± 0,02)	1,56 (± 0,05)	0,05	0,87

TABELA 25. Efeito de extrato bruto de *Helietta puberula* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,95 (± 0,08)	0,99 (± 0,06)	0,62	1,00
Folha	Diclorometano	1,08 (± 0,02)	1,10 (± 0,04)	0,88	1,00
Folha	Metanol	1,40 (± 0,08)	1,48 (± 0,02)	0,62	1,00
Galho	Hexano	0,95 (± 0,08)	0,88 (± 0,08)	0,40	0,92
Galho	Diclorometano	0,87 (± 0,08)	1,07 (± 0,02)	0,10	1,00
Galho	Metanol	1,40 (± 0,08)	1,55 (± 0,02)	0,48	1,00
Caule	Hexano	1,01 (± 0,01)	0,84 (± 0,07)	0,02	0,83 *
Caule	Diclorometano	0,87 (± 0,08)	1,01 (± 0,01)	0,11	1,00
Caule	Metanol	1,40 (± 0,08)	1,50 (± 0,02)	0,62	1,00

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 26. Efeito de extrato bruto de *Zanthoxylum acuminatum* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,95 (± 0,08)	0,65 (±0,08)	0,02	0,68 *
Folha	Diclorometano	1,20 (± 0,01)	1,47 (±0,05)	0,02	1,00
Folha	Metanol	1,20 (± 0,01)	1,31 (±0,02)	0,02	1,00
Galho	Hexano	0,95 (± 0,08)	0,59 (±0,04)	0,05	0,62
Galho	Diclorometano	1,48 (± 0,01)	0,28 (±0,03)	1,00	0,93
Galho	Metanol	1,20 (± 0,01)	1,39 (±0,01)	0,05	1,00
Caule	Hexano	0,95 (± 0,08)	0,65 (±0,08)	0,02	0,67 *
Caule	Diclorometano	0,87 (± 0,08)	1,02 (±0,02)	0,11	1,00
Caule	Metanol	1,01 (± 0,01)	1,08 (±0,01)	0,05	1,00

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 27. Efeito de extrato bruto de *Spiranthera odoratissima* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,94 (± 0,02)	0,78 (± 0,08)	0,05	0,82
Folha	Diclorometano	0,77 (± 0,08)	0,81 (± 0,03)	0,48	1,00
Folha	Metanol	0,69 (± 0,05)	0,78 (± 0,04)	0,11	1,00
Galho	Metanol	0,69 (± 0,05)	0,72 (± 0,05)	0,68	1,00
Caule	Hexano	0,77 (± 0,08)	0,75 (± 0,06)	0,88	0,97
Caule	Diclorometano	0,94 (± 0,02)	0,95 (± 0,06)	0,70	1,00

TABELA 28. Efeito de extrato bruto de *Conchocarpus longifolius* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	1,23 (± 0,02)	1,30 (± 0,05)	0,34	1,00
Folha	Diclorometano	1,23 (± 0,02)	1,22 (± 0,03)	0,40	0,99
Folha	Metanol	1,23 (± 0,02)	1,30 (± 0,01)	0,05	1,00

TABELA 29. Efeito de frações do extrato bruto hexânico de folha de *Conchocarpus heterophyllus* sobre a atividade de pectinase.

Fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Hexano	1,01 (± 0,08)	1,01 (± 0,07)	0,93	1,00
Diclorometano	1,01 (± 0,08)	0,61 (± 0,05)	0,02	0,60 *
Acetato de etila	1,01 (± 0,08)	0,85 (± 0,04)	0,01	0,84 *
Metanol	0,71 (± 0,01)	0,71 (± 0,01)	0,83	1,00

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 30. Efeito de extrato bruto de *Pilocarpus giganteus* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,77 (± 0,06)	0,93 (± 0,04)	0,05	1,00
Folha	Diclorometano	0,77 (± 0,06)	0,70 (± 0,08)	0,62	0,90
Folha	Metanol	0,77 (± 0,06)	0,75 (± 0,04)	0,85	0,97
Caule	Hexano	1,48 (± 0,07)	1,26 (± 0,06)	0,02	0,85 *
Caule	Diclorometano	0,94 (± 0,02)	0,57 (± 0,05)	0,02	0,60 *
Caule	Metanol	0,94 (± 0,02)	0,72 (± 0,03)	0,02	0,76 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 31. Efeito de extrato bruto de *Pilocarpus riedelianus* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,84 (± 0,02)	0,70 (± 0,05)	0,10	0,83
Folha	Diclorometano	0,84 (± 0,02)	0,87 (± 0,02)	0,20	1,00
Folha	Metanol	0,84 (± 0,02)	0,78 (± 0,03)	0,10	0,92

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 32. Efeito de extrato bruto de *Pilocarpus grandiflorus* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,69 (± 0,05)	0,90 (± 0,02)	0,02	1,00
Folha	Diclorometano	0,69 (± 0,05)	0,81 (± 0,02)	0,02	1,00
Folha	Metanol	0,69 (± 0,05)	0,85 (± 0,02)	0,02	1,00

TABELA 33. Efeito de extrato bruto de *Erytrochiton brasiliensis* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,84 (± 0,02)	0,72 (± 0,02)	0,05	0,85
Folha	Diclorometano	0,84 (± 0,02)	0,78 (± 0,03)	0,05	0,92
Folha	Metanol	0,66 (± 0,02)	0,52 (± 0,02)	0,02	0,78 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 34. Efeito de extrato bruto de *Rauia* sp. sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,66 (± 0,02)	0,59 (± 0,03)	0,02	0,89 *
Folha	Diclorometano	1,01 (± 0,03)	1,04 (± 0,03)	0,34	1,00
Folha	Metanol	1,01 (± 0,03)	0,36 (± 0,01)	0,02	0,35 *
Caule	Metanol	1,01 (± 0,03)	0,30 (± 0,01)	0,02	0,29 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 35. Efeito de extrato bruto de *Almeidea limae* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,68 (± 0,02)	0,65 (± 0,005)	0,13	0,95
Folha	Metanol	0,68 (± 0,02)	0,85 (± 0,02)	0,05	1,00
Galho	Hexano	0,99 (± 0,04)	0,73 (± 0,05)	0,03	0,73 *
Galho	Metanol	0,68 (± 0,02)	0,73 (± 0,04)	0,13	1,00
Caule	Hexano	0,68 (± 0,02)	0,57 (± 0,05)	0,04	0,83 *
Caule	Metanol	0,68 (± 0,02)	0,93 (± 0,05)	0,03	1,00

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 36. Efeito de frações do extrato bruto metanólico de galho de *Almeidea rubra* sobre a atividade de pectinase.

Fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Diclorometano	0,71 (± 0,01)	0,41 (± 0,01)	0,01	0,57 *
Acetato de etila	0,52 (± 0,04)	0,61 (± 0,04)	0,20	1,00
Metanol	0,52 (± 0,04)	0,94 (± 0,05)	0,03	1,00

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 37. Efeito de frações do extrato bruto metanólico de folha de *Almeidea rubra* sobre a atividade de pectinase.

Fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Diclorometano	0,52 (± 0,04)	0,93 (± 0,01)	0,02	1,00
Acetato de etila	0,71 (± 0,01)	0,83 (± 0,01)	0,02	1,00
Metanol	1,01 (± 0,08)	1,00 (± 0,03)	0,84	0,99

TABELA 38. Efeito de frações do extrato bruto metanólico de caule de *Almeidea rubra* sobre a atividade de pectinase.

Fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Acetato de etila	0,71 (± 0,01)	0,50 (± 0,03)	0,02	0,70 *
Metanol	1,01 (± 0,03)	0,73 (± 0,02)	0,01	0,72 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 39. Efeito de extrato bruto de *Simarouba versicolor* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	1,01 (± 0,01)	1,03 (± 0,02)	0,11	1,00
Folha	Diclorometano	1,08 (± 0,01)	1,00 (± 0,02)	0,48	0,92
Folha	Metanol	1,48 (± 0,07)	0,56 (± 0,07)	0,02	0,37 *
Galho	Hexano	1,00 (± 0,02)	1,03 (± 0,04)	0,62	1,00
Galho	Diclorometano	1,08 (± 0,01)	1,04 (± 0,03)	0,48	0,96
Galho	Metanol	1,48 (± 0,07)	0,28 (± 0,03)	0,02	0,19 *
Caule	Hexano	1,00 (± 0,02)	1,03 (± 0,02)	0,34	1,00
Caule	Diclorometano	1,08 (± 0,01)	0,21 (± 0,03)	0,02	0,19 *
Caule	Metanol	1,40 (± 0,07)	0,14 (± 0,02)	0,02	0,10 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 40. Efeito de frações do extrato bruto metanólico de folha de *Simarouba versicolor* sobre a atividade de pectinase.

Fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Hexano	0,81 (± 0,06)	0,72 (± 0,06)	0,11	0,88
Acetato de etila	0,81 (± 0,06)	0,33 (± 0,06)	0,02	0,40 *
Diclorometano	0,81 (± 0,06)	0,68 (± 0,03)	0,02	0,83 *
Hidroalcoólico	0,81 (± 0,06)	0,24 (± 0,02)	0,02	0,29 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 41. Efeito de frações do extrato bruto metanólico de galho de *Simarouba versicolor* sobre a atividade de pectinase.

Fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Hexano	0,79 (± 0,02)	0,75 (± 0,06)	0,34	0,94
Acetato de etila	0,79 (± 0,02)	0,05 (± 0,01)	0,02	0,06 *
Diclorometano	0,79 (± 0,02)	0,25 (± 0,02)	0,02	0,31 *
Hidroalcoólico	0,79 (± 0,02)	0,05 (± 0,01)	0,02	0,06 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 42. Efeito de frações do extrato bruto metanólico de caule de *Simarouba versicolor* sobre a atividade de pectinase.

Fração	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Hexano	0,99 (± 0,04)	0,72 (± 0,03)	0,05	0,72
Acetato de etila	0,99 (± 0,04)	0,20 (± 0,06)	0,02	0,20 *
Diclorometano	0,99 (± 0,04)	0,72 (± 0,09)	0,10	0,72
Hidroalcoólico	0,99 (± 0,04)	0,15 (± 0,01)	0,02	0,15 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 43. Efeito de extrato bruto de *Protium heptaphyllum* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Hexano	0,99 (± 0,05)	1,04 (± 0,02)	0,11	1,00
Folha	Diclorometano	0,99 (± 0,05)	0,99 (± 0,03)	0,88	1,00
Folha	Metanol	1,23 (± 0,02)	0,91 (± 0,05)	0,02	0,80 *
Galho	Metanol	1,23 (± 0,02)	0,76 (± 0,05)	0,02	0,61 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 44. Efeito de extrato bruto de *Dimorphandra mollis* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Pedúnculo	Diclorometano	1,21 (± 0,08)	1,26 (± 0,06)	0,88	1,00
Pedúnculo	Metanol	1,21 (± 0,08)	1,44 (± 0,06)	0,02	1,00
Inflorescência	Diclorometano	1,51 (± 0,04)	1,33 (± 0,07)	0,68	0,88
Inflorescência	Metanol	1,21 (± 0,08)	1,24 (± 0,06)	0,20	1,00

TABELA 45. Efeito de extrato bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Pedúnculo	Diclorometano	1,51 (± 0,04)	1,52 (± 0,06)	0,85	1,00
Pedúnculo	Metanol	1,21 (± 0,08)	1,06 (± 0,04)	0,40	0,87
Inflorescência	Diclorometano	1,51 (± 0,04)	1,51 (± 0,08)	0,40	1,00
Inflorescência	Metanol	1,21 (± 0,08)	1,36 (± 0,03)	0,48	1,00

TABELA 46. Efeito de extrato bruto de *Siphoneugena densiflora* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Galho	Hidrometanol	0,56 (± 0,03)	0,58 (± 0,02)	0,62	1,00
Caule	Hidrometanol	0,56 (± 0,03)	0,41 (± 0,05)	0,02	0,73 *
Raiz	Hidrometanol	0,56 (± 0,03)	0,40 (± 0,03)	0,02	0,71 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 47. Efeito de taninos isolados de *Siphoneugena densiflora* sobre a atividade de pectinase.

Substância	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
	Controle	Teste		
Casuarinina	0,74 (± 0,03)	0,55 (± 0,07)	0,02	0,72 *
Pedunculagina	0,74 (± 0,03)	0,30 (± 0,05)	0,02	0,40 *
Ramnosideo	0,74 (± 0,03)	0,62 (± 0,04)	0,02	0,85 *
Castalagina	1,51 (± 0,04)	1,45 (± 0,08)	0,34	0,96

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

TABELA 48. Efeito de extrato bruto de *Tapirira guianensis* sobre a atividade de pectinase.

Órgão	Extrato	DO _{540 nm} (média ± desvio-padrão)		p	E
		Controle	Teste		
Folha	Diclorometano	0,99 (± 0,05)	0,99 (± 0,02)	1,00	1,00
Folha	Metanol	0,99 (± 0,05)	0,31 (± 0,01)	0,02	0,31 *
Galho	Hexano	1,20 (± 0,01)	1,18 (± 0,04)	0,68	0,98
Galho	Diclorometano	1,20 (± 0,01)	1,30 (± 0,02)	0,02	1,00
Galho	Metanol	0,99 (± 0,05)	0,39 (± 0,04)	0,02	0,39 *
Caule	Hexano	1,20 (± 0,01)	1,11 (± 0,02)	0,02	0,92 *
Caule	Diclorometano	1,20 (± 0,01)	1,13 (± 0,02)	0,02	0,94 *
Caule	Metanol	1,20 (± 0,01)	0,09 (± 0,01)	0,02	0,07 *

(*) inibição de pectinase significativa a 95 %.

II – Curva padrão.

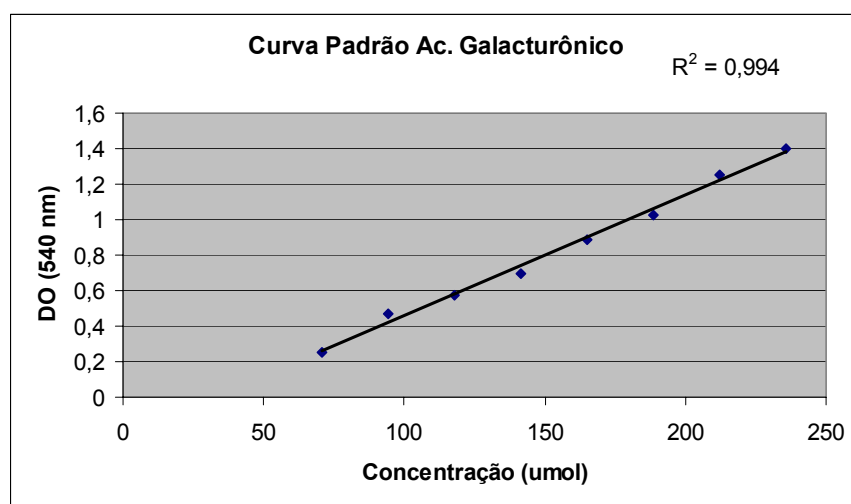


Figura 48. Curva padrão de Ácido Galacturônico.

III – Estruturas das substâncias isoladas de algumas plantas utilizadas.

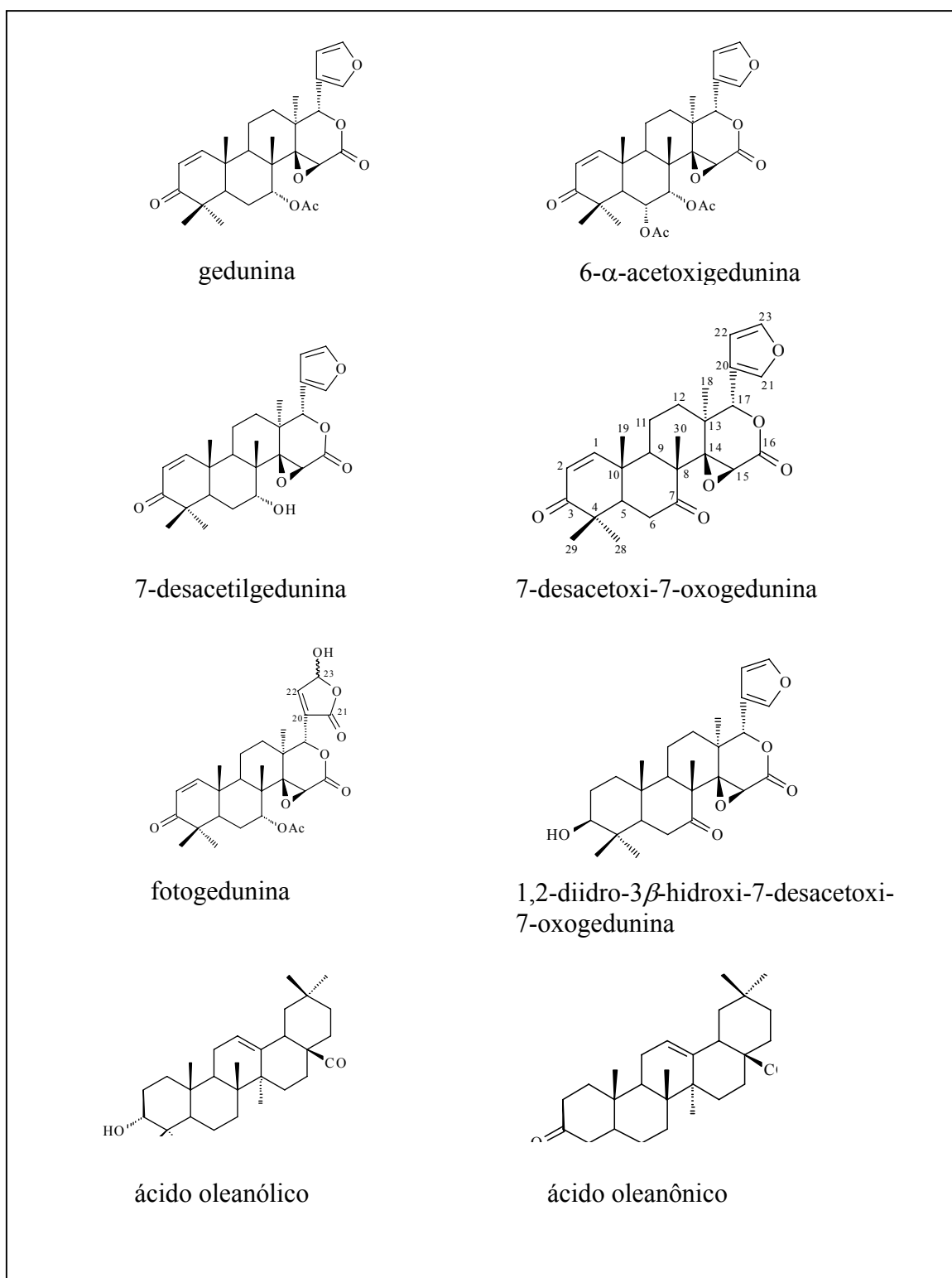


Figura 49. Substâncias isoladas de *Cedrela fissilis*.

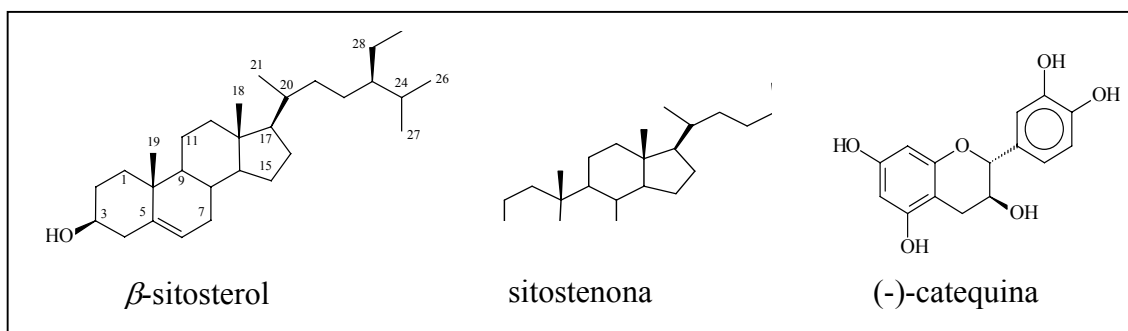


Figura 50. Substâncias isoladas de *Cedrela fissilis*.

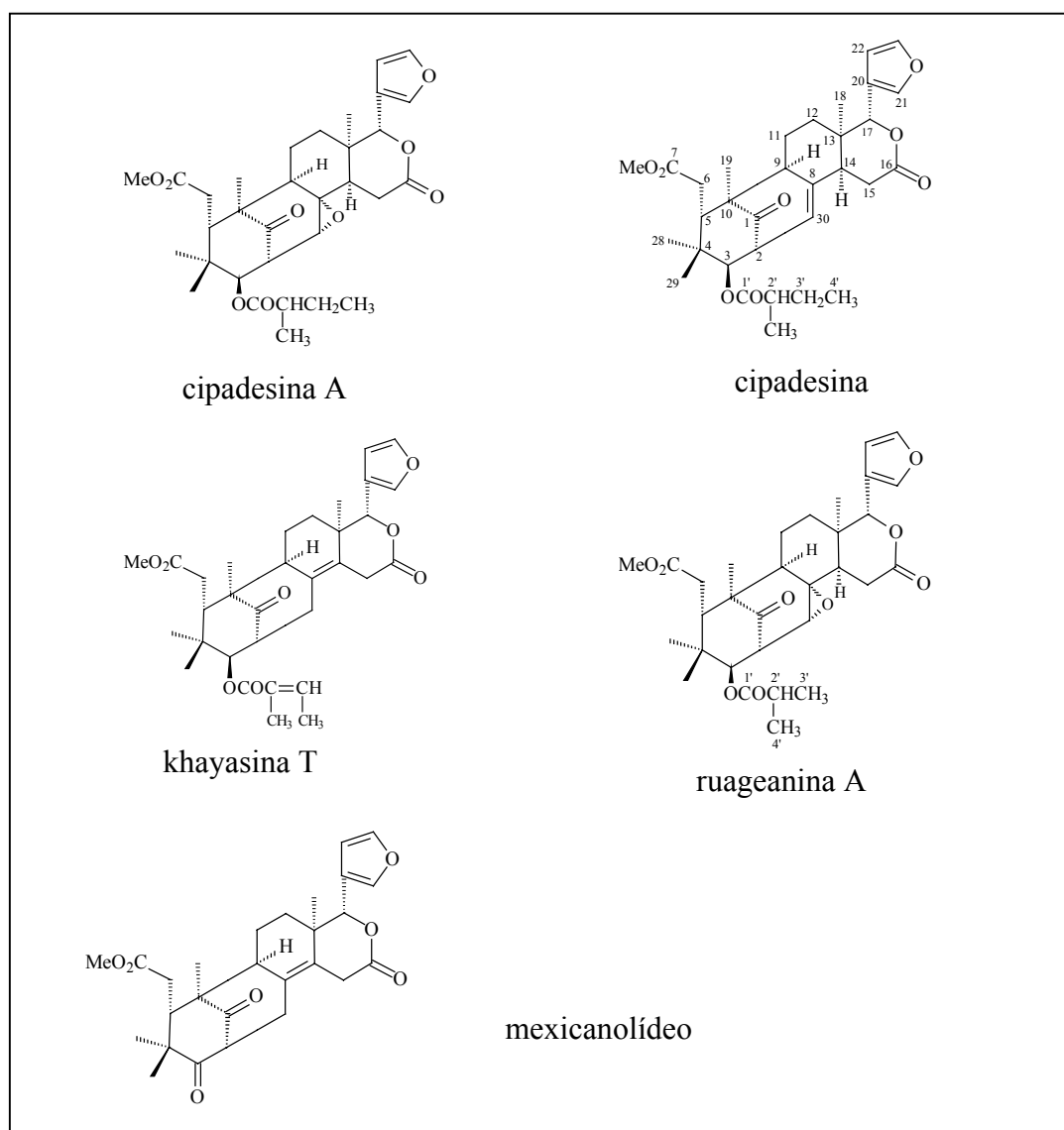


Figura 51. Substâncias isoladas de *Cipadessa fruticosa*.

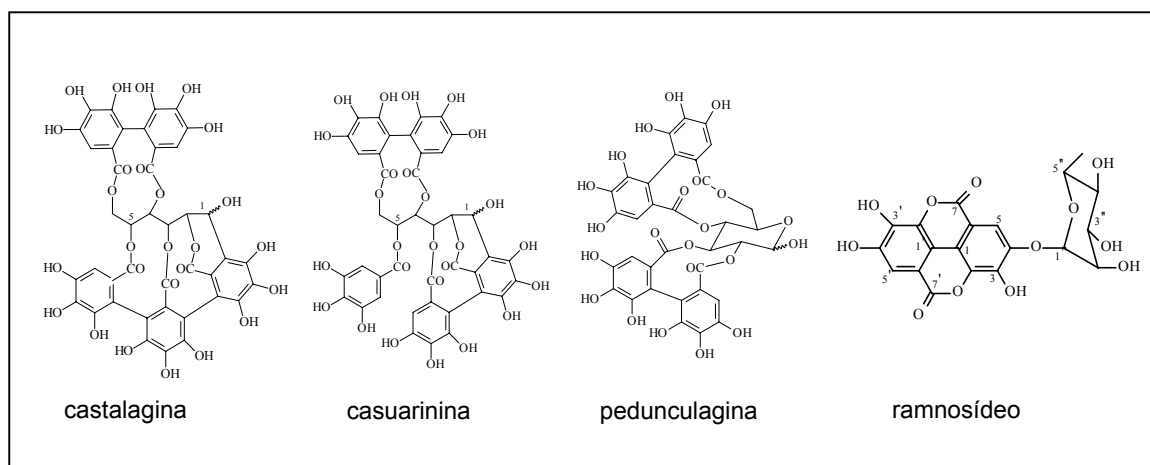


Figura 52. Substâncias isoladas de *Siphoneugena densiflora*.